



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
Campus Tuxtepec

**Efecto de la linternización sobre el contenido de almidón
resistente en almidón de plátano: Caracterización
físicoquímica, térmica, estructural y de digestibilidad**

T E S I S

Presentado por

MADELEINE PERUCINI AVENDAÑO

Para obtener el título de:

INGENIERO EN ALIMENTOS

Dr. Alejandro Aparicio Saguilán
Director de Tesis

Dra. Delia E. Páramo Calderón
Co-Director de Tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca

Febrero 2014



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

CAMPUS TUXTEPEC

Tuxtepec, Oax., a 24 de Febrero del 2014.


ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, el día 21 de Febrero del 2014 a las 12:00 h, se reunieron en la sala de juntas del Instituto de Biotecnología, los miembros de la comisión revisora de tesis designada por la jefatura de la carrera de **Ingeniería en Alimentos** de la Universidad del Papaloapan, con la finalidad de examinar la tesis titulada **Efecto de la lintnerización sobre el contenido de almidón resistente en almidón de plátano: caracterización fisicoquímica, térmica, estructural y de digestibilidad** presentado por la alumna **Madeleine Perucini Avendaño**, con número de matrícula **07070004**, aspirante al grado de **Licenciatura**.

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la comisión manifestaron que **LA TESIS SATISFACE LOS REQUISITOS SEÑALADOS POR LAS DISPOSICIONES REGLAMENTARIAS VIGENTES, OTORGANDO SU APROBACIÓN PARA QUE EL ASPIRANTE PUEDA PROCEDER CON EL PROCESO DE TITULACIÓN.**


ATENTAMENTE. LA COMISIÓN REVISORA

Director de Tesis




Dr. Alejandro Aparicio Saguilán
Profesor-Investigador UNPA

Co-director de Tesis



Dra. Delia Esther Páramo Calderón
Profesor-Investigador UNPA

Presidente




Dr. Mario Valera Zaragoza
Profesor-Investigador UNPA

Secretario



M en C. Aurelio Ramírez Hernández
Profesor-Investigador UNPA

Vocal



Dr. Andrés Aguirre Cruz
Profesor-Investigador UNPA

El presente trabajo de investigación fue realizado en las instalaciones de la Universidad del Papaloapan (UNPA) campus Tuxtepec, con apoyo del Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) a través del proyecto PROMEP /103.5/09/4225

AGRADECIMIENTOS

A la universidad del Papaloapan, campus Tuxtepec por otorgarme las facilidades para la realización de este trabajo de investigación.

Agradezco a mi director de tesis el Dr. Alejandro Aparicio Saguilan, por toda su confianza, apoyo, enseñanza y conocimiento durante la carrera y también por su gran amistad.

A la Dra. Delia Esther Paramo Calderón por brindarme sus conocimientos, sus apreciables comentarios y correcciones en la redacción final del presente escrito.

A mi tutora M.C. Roxana Martínez Pascual por brindarme su amistad y estar conmigo durante todo este camino, le agradezco los consejos, su confianza y comprensión.

M. C. Miguel Ángel García Muñoz por las facilidades y apoyo otorgadas durante la carrera y especialmente por su amistad.

Al Dr. Andrés Aguirre Cruz por el conocimiento, experiencia brindada durante la carrera y su amistad.

A mi comité tutorial por las observaciones realizadas para el mejoramiento de este trabajo de investigación.

A cada uno de los profesores que contribuyeron en mi formación profesional durante esta etapa, al Ing. Juan y la Química Luz por sus consejos y amistad.

Al centro de productos bióticos por otorgarme las facilidades para la realización de las pruebas

A mis amigos Miguel, Nancy, Armando, Ana, Damara , Naby y Sergio por motivarme a continuar con mi formación profesional, por ser parte importante de mi vida, por estar siempre conmigo alentándome, aconsejándome, por enseñarme algo nuevo cada día, por compartir experiencias inolvidables, simplemente por ser mis amigos, gracias los quiero. A ti Diana, con quien he convivido y compartido este proceso, te agradezco tu apoyo y cariño incondicional por siempre.

DEDICATORIA

*A **Dios** por escucharme, guiarme, darme paciencia, confianza, fe, una familia llena de amor y amigos inolvidables.*

*A mi **Madre** por su amor que es lo más grande y hermoso que tengo, por el apoyo y la confianza que me da para buscar cumplir con cada uno de mis propósitos por estar siempre a mi lado a pesar de todo, pero sobre todo por ser mi mejor maestra y mi razón para ser feliz cada día, te amo con todo mi corazón.*

*A mis hermanas **Kimy, Maya y Jhen** por alegrar mi día a día aun en los momentos difíciles, quienes sin su apoyo y cariño nunca hubiera llegado hasta donde he llegado, porque ustedes son lo que me motiva a seguir superándome, gracias.*

*A **Nancy, Diana, Miguel, Ana y Armando** que más allá de ser mis compañeros se convirtieron en mis mejores amigos, los quiero como si fueran mis hermanos.*

*A mis tíos **Isauro, Clara, Josefina, Romeo y Angelina** por haberme apoyado durante todo este tiempo, y a ti **Shey** porque más allá de ser mi prima eres mi amiga, a todos gracias por estar conmigo.*

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE	I
LISTA DE FIGURAS	III
LISTA DE TABLAS	IV
LISTA DE ABREVIATURAS	V
RESUMEN	VII
ABSTRACT	VIII
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1. El plátano	3
2.1.1. Composición química del plátano	4
2.2. Almidón	5
2.2.1. Generalidades	5
2.2.2. Composición química del almidón.....	6
2.2.3. Estructura de los gránulos de almidón	7
2.3. Propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón.	10
2.3.1. Gelatinización.....	11
2.3.2. Retrogradación	11
2.4. Digestión del almidón.....	12
2.5. Almidón resistente (AR).....	13
2.5.1. Factores que influyen en la formación de AR.....	16
2.5.2. Efectos fisiológicos del AR.....	16
2.5.3. Procesos de obtención de almidón resistente	16
2.6. Modificación química del almidón.	17

2.6.1. Lintnerización.....	17
III. JUSTIFICACIÓN.....	19
IV. HIPÓTESIS.....	20
V. OBJETIVOS.....	21
5.1. General.....	21
5.2. Específicos.....	21
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
6.1. Materiales.....	22
6.2. Métodos.....	22
6.2.1. Aislamiento del almidón de plátano.....	23
6.2.2. Modificación química del almidón por lintnerización.....	23
6.2.3. Determinación de las fracciones de ADR, ADL Y AR.....	23
6.2.4. Caracterización fisicoquímica del AR.....	25
6.2.5. Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	26
6.2.6. Caracterización molecular del AR.....	27
6.3. Análisis estadístico.....	28
VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	29
7.1. Determinación de las fracciones de ADR, ADL Y AR.....	29
7.2. Hinchamiento y Solubilidad.....	32
7.3. Características térmicas de los almidones de plátano variedad macho y roatán modificados mediante Lintnerización.....	35
7.4. Difracción de rayos X.....	43
VIII. CONCLUSIONES.....	45
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de la molécula de amilosa..... 6

Figura 2. Modelo de grupos para la estructura de la amilopectina..... 8

Figura 3. Patrones de difracción de rayos X para diferentes almidones.. 10




Figura 4. Digestión del almidón in vivo  Almidón de rápida digestión (ADR), 
Almidón de lenta digestión (ADL),  Almidón resistente (AR)..... 15

Figura 5. Diagrama experimental para la obtención de un producto con contenido elevado de almidón resistente y su caracterización parcial..... 22

Figura 6. Perfiles de hinchamiento de almidones nativos y lintnerizados de almidón de plátano a) macho y b) roatán. 34

Figura 7. Perfiles de solubilidad de almidones nativos y lintnerizados de almidón de plátano a) macho y b) roatán. 36

Figura 8. Termogramas de gelatinización del almidones lintnerizados de almidón de plátano a) roatán y b) macho 39

Figura 9. Termogramas de retrogradación de almidones lintnerizados de almidón de plátano a) roatán y b) macho 42

Figura 10. Patrones de difracción de rayos X de almidones lintnerizados de almidón de plátano a) macho y b) roatán. 44

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del plátano (*Musa paradisiaca* L.). 4

Tabla 2. Valores de digestibilidad del almidón de plátano macho y roatán lintnerizado al tiempo indicado..... 30

Tabla 3. Temperaturas y entalpías de gelatinización en almidones nativos y lintnerizados de plátano macho y roatán a diferentes tiempos de hidrólisis ácida. 38

Tabla 4. Temperatura y entalpía de retrogradación del almidón nativo y lintnerizado a diferentes tiempos de hidrólisis ácida y almacenada durante 7 días..... 41

LISTA DE ABREVIATURAS

ADR	Almidón de digestión rápida
ADL	Almidón de digestión lenta
AR	Almidón resistente
Da	Daltons
AR1	Almidón resistente tipo 1
AR2	Almidón resistente tipo 2
AR3	Almidón resistente tipo 3
AR4	Almidón resistente tipo 4
DSC	Calorimetría diferencia de barrido (por sus siglas en inglés)
mg	Miligramo
GP	Grado de polimerización
FDT	Fibra dietética total
HCl	Ácido clorhídrico
ΔH	Entalpia de gelatinización
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
TCH	Tratamientos de calor humedad
M	Mol
NaOH	Hidróxido de sodio
nm	Nanómetros
p/v	Peso/volumen
rpm	Revoluciones por minuto
GOD-POD	Glucosa oxidasa peroxidasa
G20	Glucosa liberada a los 20 minutos
G120	Glucosa liberada a los 120 minutos
APM	Almidón de plátano macho
APR	Almidón de plátano roatán
APMN	Almidón de plátano macho nativo
APML (3)	Almidón de plátano macho lintnerizado a 3 días

APML (5)	Almidón de plátano macho lintnerizado a 5 días
APML (7)	Almidón de plátano macho lintnerizado a 7 días
APRN	Almidón de plátano roatán nativo
APRL (3)	Almidón de plátano roatán lintnerizado a 3 días
APRL (5)	Almidón de plátano roatán lintnerizado a 5 días
APRL (7)	Almidón de plátano roatán lintnerizado a 7 días
T _p	Temperatura pico
T _o	Temperatura inicial
T _f	Temperatura final
μL	Microlitro
μm	Micrometro

RESUMEN

El almidón es la principal fuente de energía en la dieta humana. Este polisacárido es de gran importancia ya que se ha demostrado que una fracción de almidón total presente en los alimentos resiste al ataque de las enzimas digestivas en el intestino delgado, el cual finalmente es fermentado en el colon, y es aquí donde tiene efectos benéficos en la salud del individuo previniendo cáncer de colon, y esta fracción es llamada almidón resistente (AR). El almidón se puede clasificar de acuerdo a su velocidad de hidrólisis y absorción en el intestino delgado, en almidón de digestión rápida (ADR), de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR). La obtención de estos productos es por lo general mediante modificaciones físicas y químicas. Debido a los efectos positivos que proporciona el consumo de AR en la salud y la posibilidad de usar tratamientos tecnológicos para incrementar la cantidad de AR en los alimentos mediante modificación química del almidón ha llamado la atención durante las últimas décadas a nivel de trabajo experimental e industrial. En el presente trabajo se estudió el efecto que tiene la hidrólisis ácida a diferentes tiempos (3, 5 y 7 días) del almidón de plátano aislado a partir de dos variedades (macho y roatán), sobre las propiedades de digestibilidad, fisicoquímicas, y térmicas. En general se observó un incremento en ADL y ADR en ambas variedades de almidón de plátano. Un efecto contrario fue observado en el contenido de AR, ya que este mostró una disminución en comparación al almidón nativo (AN). Estos resultados indican que el tiempo prolongado de hidrólisis ácida afecta las regiones cristalinas del almidón de plátano de ambas variedades. Por otro lado, los resultados de difracción de rayos X mostraron un patrón tipo B para ambas variedades de almidón de plátano. La temperatura y la entalpía de gelatinización, aumentó significativamente con el tiempo de hidrólisis ácida en ambas variedades. Estos resultados indican que los productos de almidón tienen una buena estabilidad térmica. Los valores del poder de hinchamiento y solubilidad incrementaron gradualmente en función del tiempo hidrólisis ácida. Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que la modificación química por hidrólisis ácida (Lintnerización) favorece la obtención de ALD y disminuye los niveles de AR en almidón de plátano de las variedades macho y roatán.

ABSTRACT

Starch is the main energy source in the human diet. This polysaccharide is of great importance, since it has been demonstrated that a fraction of starch present in foods, resists the attack of the digestive enzymes in the small intestine, for finally be fermented in the colon, where it has beneficial effect in healthy individuals, as preventing colon cancer, this fraction is called resistant starch (RS). According to its rate of hydrolysis and absorption in the small intestine, starch has been classified as rapidly digestible starch (RDS), slowly digestible starch (SDS) and resistant starch (RS). It is possible to change the native starch structure used a chemical modification (acid hydrolysis). Therefore due to the positive effects provided by the AR in health and the ability to use technological treatments to increase the content of AR in food by chemical modification of starch has gotten the attention during last decades, to level of experimental work and industry. In this work the effect of acid hydrolysis at different times (3, 5 and 7 days) of banana starch of two varieties (male and roatan) on the properties of digestibility, physicochemical, and thermal was studied .In general, acid treatment produced an increase in ADL and AR in both varieties. While the contents of AR the opposite effect was observed and this showed a decrease compared to native starch. These results indicate that prolonged acid hydrolysis of crystalline regions affected banana starch both varieties. All samples showed a typical B-type x-ray diffraction pattern. The temperature and the enthalpy of gelatinization increased significantly when the acid treatment time increased in both varieties, these results indicate that starch products have good thermal stability. The swelling and solubility values increased with the length of the acid treatment .The results of this study demonstrate that functional properties of banana starch were affected by the chemical modification. On the other hand, the acid hydrolysis (lintnerization) benefited the production of ADL and decreased levels of AR in the starch of banana of both varieties.

I. INTRODUCCIÓN

El almidón es, después de la celulosa, el carbohidrato más abundante sintetizado por las plantas y proporciona del 70 al 80% de las calorías consumidas por los humanos. Químicamente, el almidón consiste de dos polímeros de estructura diferente: amilosa y amilopectina. La organización física de estos dos polímeros dentro de la estructura granular, influye en las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los almidones (Bello-Pérez y col. 2001). Para el procesamiento de los alimentos que contienen un alto contenido de almidón, generalmente requiere de un calentamiento o cocción, pues la mayoría de estos alimentos mejoran su apariencia, textura, sabor y digestibilidad. Como consecuencia los cambios estructurales más significativos del almidón ocurren cuando aumenta la temperatura en presencia de agua, llevándose a cabo el fenómeno de gelatinización ocasionando el colapso o rompimiento del orden molecular dentro del gránulo (Atweel y col. 1988), Cuando este almidón gelatinizado se enfría lentamente, las moléculas de amilosa tiene el suficiente tiempo para alinearse y forma puentes de hidrogeno, a este fenómeno se le conoce como retrogradación (Lineback y Rasper, 1988); La retrogradación se manifiesta por la formación de estructuras cristalinas que afectan significativamente las características de textura, aceptabilidad y digestibilidad de los alimentos que contienen un alto contenido de almidón.

Haciendo énfasis sobre la digestibilidad del almidón hace algunos años, se pensaba que prácticamente todo el almidón que se consumía era digerido y absorbido en el intestino delgado (Goodhart y Shils, 1980). Sin embargo, hoy en día, se ha observado que una fracción del almidón total ingerido resiste la digestión enzimática, a esta fracción se le conoce como almidón resistente (AR), el cual, es definido desde el punto de vista fisiológico como la suma del almidón y productos de su degradación que no son absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos (EURESTA, 1992). Englyst y col. (1992) clasificaron al almidón en tres diferentes fracciones al almidón en función de la velocidad con que se digiere dentro del cuerpo humano; 1) almidón de digestión rápida (ADR), 2) almidón de digestión lenta (ADL) y 3) almidón resistente (AR). Últimamente el AR, ha sido ampliamente estudiado por considerarse como un componente de la fibra dietética que

posee las bondades fisiológicas que a ésta se le atribuyen, como prevención de cáncer de colon y enfermedades cardiovasculares (Chesson, 1995; Eerlingen y Delcour, 1995).

Debido a la gran importancia que ha cobrado el AR en la salud, se ha buscado disminuir la digestibilidad del almidón, lo que significa, aumentar la cantidad de AR de un producto o de un alimento. Por lo tanto, la tendencia actual es la obtención de almidón a partir de fuentes no convencionales, que presenten mejores características funcionales y de digestibilidad o se mejoren las que presentan los almidones aislados a partir de fuentes convencionales, para ello una de las alternativas es mediante una modificación química, las cuales son prácticas comerciales que dan una extensión de usos al almidón en los procesos alimenticios.

La modificación química del almidón podría ser una estrategia interesante para generar cambios notables en el contenido de AR (Tovar y col. 1999). Se ha reportado que cuando el almidón es sometido a una modificación química como la lintnerización (hidrólisis ácida) se incrementa sustancialmente el contenido de ADL y AR (Shin y col. 2003). La hidrólisis ácida (Lintnerización) ocurre preferentemente en las regiones amorfas de los gránulos, permaneciendo las cristalinas relativamente intactas y produciendo cadenas lineales, las cuales favorecen al fenómeno de retrogradación y como consecuencia se tiene almidón resistente.

Debido a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue caracterizar, evaluar y comparar el efecto que tiene la modificación química (Lintnerización) sobre el almidón de plátano (fuente no convencional), aislado a partir de dos variedades (macho y roatán).

II. ANTECEDENTES

2.1. El plátano

El plátano es un término general que involucra un número de especies o híbridos del género *Musa* de la familia Musaceae. La familia Musaceae está constituida por los géneros *Musa* y *Ensete*. Existen distintas variedades que van desde las más grandes como el plátano macho, que llega a pesar unos 200 gramos o más por cada unidad, hasta los más pequeños como el bananito, cuyo peso oscila entre los 100 y 120 gramos. El plátano macho (*Musa paradisiaca* L. Var. Macho) se consume generalmente cocinado o asado (verdes o maduros), a diferencia del plátano roatán (*Musa paradisiaca* L. Var. Roatan) son consumidos únicamente cuando están maduros.

El plátano tiene su origen en Asia meridional, siendo conocido desde el año 650, la especie llegó a las Canarias en el siglo XV y se introdujo al continente americano en 1516. Su cultivo comercial se inició a finales del siglo XIX y principios del XX. Los plátanos se pueden cosechar todo el año y son abundantes según la estación (SE, 2012).

De acuerdo a la FAO, en 2010 se cosecharon 4.9 millones de hectáreas de plátano en todo el mundo, siendo los países con mayor producción la India, Tanzania, Brasil y Filipinas. China ha cobrado importancia en los últimos años en este cultivo, en 2009 cosechó, 350 mil hectáreas, 13% más que el año anterior, ubicándose en el tercer lugar mundial en área dedicada a este cultivo. México por su parte, ocupó el 9º lugar con 75.8 mil hectáreas, y una producción de 2.2 millones de toneladas, con una participación en la producción mundial de 2%. El rendimiento por hectárea en México fue de 41.2 ton/ha en la modalidad de riego y 22.7 ton/ha en temporal obteniendo un promedio de 29.4 toneladas por hectárea, siendo los principales estados productores Chiapas, Veracruz, Tabasco, Nayarit, Michoacán, Colima, Guerrero, Jalisco y Oaxaca, los cuales se agrupan en tres regiones productoras: región del golfo de México (Tabasco, Veracruz y Oaxaca) que ocupa el 41 % de la superficie, región del pacífico del centro (Colima, Michoacán, Jalisco, Guerrero y Nayarit) con el 27 % y la región del pacífico. (FAO, 2010).

2.1.1. Composición química del plátano

La pulpa del plátano verde contiene alrededor del 70-80 % de almidón en peso seco, el cual, es un porcentaje comparable con el almidón aislado a partir del maíz o papa (Zhang y col. 2005). Aun nado a esto, el almidón de plátano contiene cantidades casi insignificantes de proteínas y de grasas. La composición química del plátano se muestra en la Tabla 1, que va a depender del estado de maduración en el que se encuentre. En estado verde o inmaduro, el plátano presenta un contenido de mayores concentraciones de almidón con respecto al maduro. Este fruto alcanza aproximadamente un contenido energético de 4 kcal/g (Tobin & Muller, 1998; Chavez y col. 1992).

El plátano está compuesto por una gran cantidad de nutrimentos, contiene una pequeña cantidad de aceite, el cual no sufre cambio alguno durante la maduración. Es una fuente de calcio y hierro, además de ser rico en potasio, sodio, magnesio y fósforo. Inclusive la cáscara es una fuente potencial de pectina (Bello-Perez y col. 2002).

Tabla 1. Composición química del plátano (*Musa paradisiaca* L.) (Zamudio-Flores y col., 2010).

	Contenido (%)
Lípidos	1.85 ± 0.11
Proteínas¹	2.06 ± 0.15
Cenizas	1.89 ± 0.12
Humedad	8.30 ± 1.70
Almidón Total	91.20 ± 1.20

Media Aritmética de cinco repeticiones ± desviación estándar

¹ N x 6.25

2.2. Almidón

2.2.1. Generalidades

El almidón es el polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa y es un material de reserva en las plantas. Desde el punto de vista nutricional, el almidón es el componente mayoritario en la dieta de las personas a nivel mundial. Este polisacárido se encuentra presente en cereales (maíz, trigo, centeno, sorgo, avena, etc.) cuyo contenido de almidón varía del 30 al 80%, tubérculos (papa, camote, yuca, etc) en los que el almidón representa entre un 60 a 90%, leguminosas (frijol, chícharo, haba, lentejas) con un 25 a 50% de almidón y en algunas frutas como el plátano y el mango, que en su estado verde o inmaduro alcanzan contenidos de almidón de hasta 70% en base seca (Guilbot y Mercier, 1985; Bello-Pérez y Paredes-López, 1999). En México la principal fuente de obtención del almidón ha sido el maíz. Sin embargo, actualmente se ha dado atención a la extracción de este polisacárido de fuentes no convencionales como del almidón aislado de amaranto, yuca y sorgo; así mismo como de frutos en estado inmaduro tal es el caso del plátano, en el cual, el almidón constituye el segundo componente en importancia después del agua, siendo así, una fuente alternativa para la obtención de almidón a un bajo costo de producción.

Es importante mencionar que la funcionalidad del almidón depende de su contenido de amilosa-amilopectina, características estructurales y tamaño molecular, así como de sus propiedades fisicoquímicas, funcionales y de componentes minoritarios (proteínas y lípidos) presentes en el gránulo de almidón. Los gránulos de almidón se encuentran en la naturaleza organizados en partículas muy pequeñas cuya morfología y composición química son características especiales de cada especie o fuente botánica. La variación de tamaño en los gránulos de almidón va de 0.5 y 100 μm . El tamaño de partícula, incluyendo la distribución de tamaño, es una de las características que más afectan las propiedades funcionales de los gránulos de almidón. (Bello-Pérez y Paredes-López, 1999).

2.2.2. Composición química del almidón

2.2.2.1. Amilosa

La amilosa es un polímero lineal producto de la condensación de unidades D-glucosa unidas por enlaces α -(1-4) (Figura 1). La amilosa tiene una masa molar aproximadamente de 1×10^5 Da dependiendo del origen biológico y grado de polimerización (GP). Este último puede presentar un promedio de 500 a 6000 unidades de D-glucosa, repartidas en un número de cadenas que van de 1 a 20 (Hizukuri y col. 1986). Muchas de las propiedades del almidón pueden explicarse por la habilidad de la amilosa de adoptar diferentes estructuras moleculares. En soluciones acuosas neutras, la estructura normal es la de una espiral.

Por su contenido de amilosa, los almidones se pueden clasificar en diferentes grupos como son los almidones cerosos que tienen muy poca cantidad de amilosa (almidón de amaranto), alrededor de 1-2 %, los normales que contienen entre 17-24 % de amilosa y los altos en amilosa que contienen 70 % o más de este polímero (Moore y col. 1984). A la molécula de amilosa se le ha atribuido las propiedades gelificantes, así como también, es la principal responsable del fenómeno de retrogradación del almidón. La retrogradación es favorecida por la presencia de cadenas de polímero lineal.

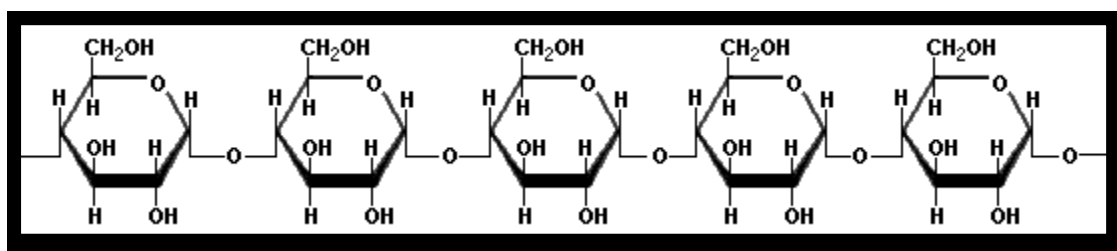


Figura 1. Estructura química de la molécula de amilosa. (Tester y Karkalas 2004)

2.2.2.2. Amilopectina

Es el componente ramificado del almidón formado por cadenas de residuos α -D-glucopiranosidos (entre 17 y 23 unidades) unidos principalmente por enlaces α -(1 \rightarrow 4) y

α -(1 \rightarrow 6) en los puntos de ramificación. El grado de polimerización generalmente se encuentra en un intervalo de 9,600 – 15,900 unidades de glucosa, su peso molecular varía entre 50 y 500 x 10⁶ Da. Estas variaciones están influenciadas por el origen botánico del almidón, por el método empleado para el fraccionamiento del almidón a amilosa y amilopectina y por el método usado para determinar la masa molar (Bello-Pérez y col. 2002). La amilopectina es quizás el componente que tiene mayor importancia en las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón, debido a que su estructura y propiedades contribuyen notablemente en la composición y funcionalidad del gránulo. Esta molécula ha sido estudiada ampliamente en función de su tamaño molecular, ramificaciones y longitud de las cadenas (Bultosa y col. 2008; Bello-Perez y col. 1998; Hizukuri y col. 1986).

Robín y col. (1974) propusieron un modelo para la amilopectina basado en la estructura de racimo o grupo (cluster). De acuerdo a la Figura 2 las cadenas A y B son lineales y tienen un GP de 15 a 20 y 35 a 45, respectivamente. Las cadenas B forman la columna de la amilopectina y se extienden sobre dos o más racimos, cada racimo contiene de dos a cuatro cadenas A estrechamente asociadas. Los racimos asociados de cada cadena A – son primeramente responsables de la región cristalina dentro del gránulo. Las áreas amorfas se presentan en intervalos de 0.6 a 0.7 nm y contienen la mayor cantidad de enlaces α -(1-6) siendo relativamente susceptibles al ataque enzimático o hidrólisis ácida.

2.2.3. Estructura de los gránulos de almidón

Los almidones presentan estructuras cristalinas y amorfas. La relación entre estas es el principal factor que determina las propiedades del almidón. Este concepto general fue propuesto en los años 20s del siglo pasado y ha sido extendido para describir los niveles de complejidad estructural del gránulo de almidón (Oates 1997).

En los almidones nativos, las moléculas de amilosa y amilopectina están organizadas en gránulos, los cuales están constituidos por laminas o capas semicristalinas y amorfas ordenadas alternadamente y formando anillos concéntricos de crecimiento (Gallart y col. 1997).

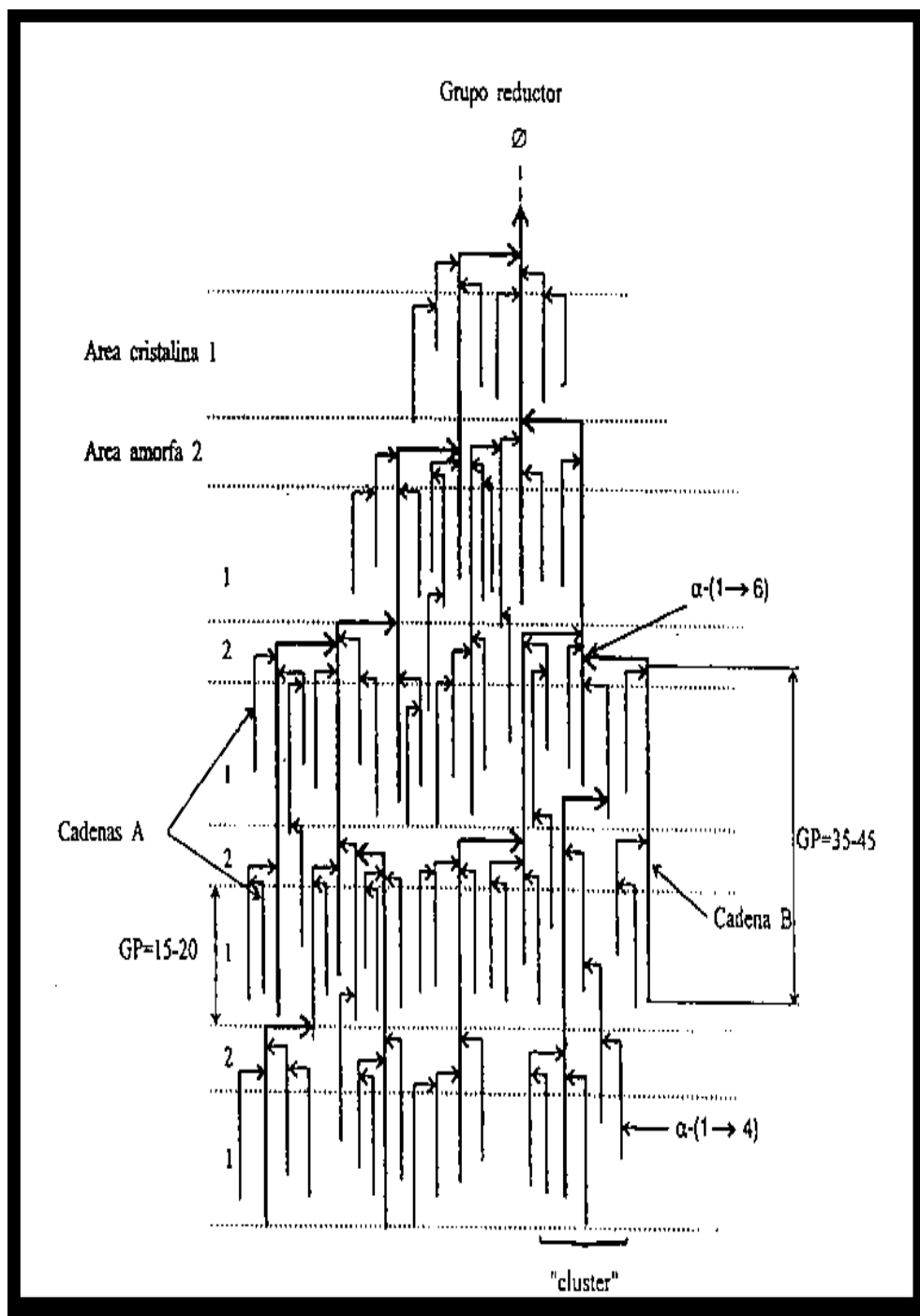


Figura 2. Modelo de grupos para la estructura de la amilopectina (Robin y col. 1974).

Las láminas semicristalinas consisten en regiones ordenadas, que a su vez están compuestas de dobles hélices formadas por cadenas de la amilopectina, las regiones amorfas de las láminas semicristalinas están compuestas por puntos ramificados de la amilopectina y por la amilosa (Zobel, 1998). Se ha propuesto también que la molécula de amilosa puede encontrarse tanto en la región cristalina así como también en la región amorfa (Kozlov y col. 2007; Jane, 2006). Debido a que los gránulos de almidón consisten en regiones cristalinas y amorfas, el porcentaje de cristalinidad se encuentra entre 15 y 45%, dependiendo de su origen y métodos de aislamiento con un promedio de 35%. En el caso de almidones ricos en amilopectina, la cristalinidad es atribuida a las cadenas en forma de doble hélice de la amilopectina, por lo que la amilosa no parece tener algún efecto en la cristalinidad en condiciones normales. Sin embargo, en los almidones con alto contenido de amilosa, esta puede contribuir significativamente en la cristalinidad, debido a que al formar cadenas lineales de amilosa estas tienden arreglarse en una estructura ordenada incrementando la cristalinidad. (Matveev y col., 2001).

La difracción de rayos X puede utilizarse para examinar la naturaleza cristalina de los gránulos de almidón y para definir las cantidades relativas de las áreas amorfas y cristalinas dentro del gránulo. Las dobles hélices, formadas por las cadenas de la amilopectina, se pueden ordenar en tres arreglos, lo cual da lugar a tres patrones de difracción de rayos X almidón tipo A, B y C (Zobel, 1988). Se ha demostrado que los almidones de cereales muestran un patrón de difracción tipo A, los tubérculos un patrón tipo B, algunos tubérculos y granos un patrón tipo C y los complejos de amilosa - lípido el tipo V (Figura 3). Estas diferencias en los patrones de difracción en las diferentes fuentes de almidón se deben al arreglo radial de las cadenas de amilopectina. Dicho arreglo, está constituido por una región con puntos de ramificación y otra conteniendo dobles hélices ordenadas, compuestas de cadenas cortas de amilopectina (Buleón y col. 1998). La amilosa presenta diferentes grados de polimerización y se encuentra en las zonas amorfas, donde se mantiene unida entre sí, por enlaces de hidrógeno, pero posee menos movilidad intramolecular que la amilopectina, mientras que las dobles hélices se encuentran en las regiones cristalinas.

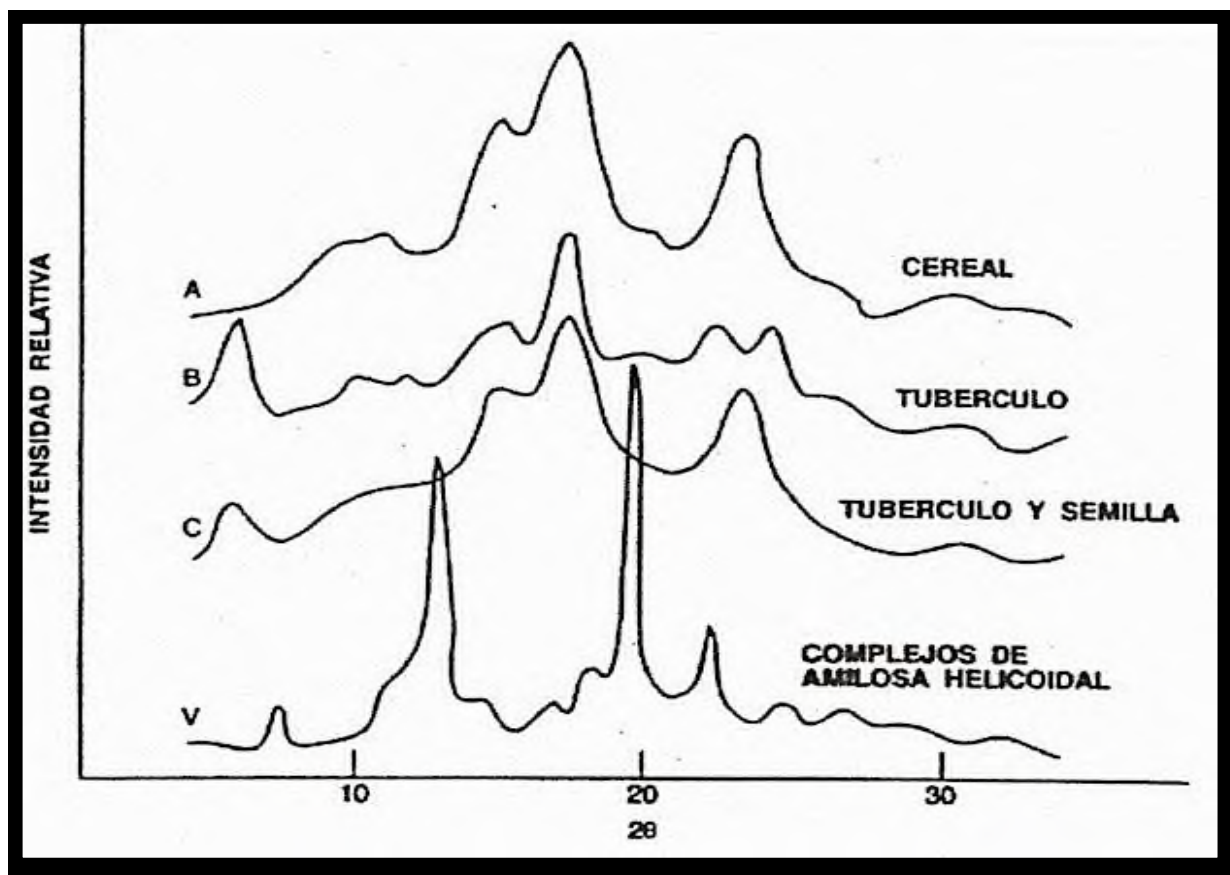


Figura 3. Patrones de difracción de rayos X para diferentes almidones. (Hizukuri, 1986).

2.3. Propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón.

Los almidones nativos presentan propiedades funcionales que en algunos casos son necesarias en una cierta aplicación. Los atributos como la viscosidad, la claridad de geles, la solubilidad, la capacidad de retención de agua, el hinchamiento, la gelatinización y la retrogradación, son importantes en la industria de alimentos. El almidón al someterse a tratamientos hidrotérmicos sufre cambios fisicoquímicos en su estructura, estos cambios son la desorganización de las moléculas de amilosa y de amilopectina y se conocen como gelatinización y retrogradación (Bello- Pérez y col. 2006).

2.3.1. Gelatinización

La gelatinización es el término usado para describir eventos moleculares asociados con el calentamiento de almidón en agua, el cual cambia de una forma semi-cristalina (la cual no es completamente digerible) a una forma eventualmente amorfa (digerible) (Tester y Debon, 2000). Esto es debido a que cuando el almidón se encuentra con suficiente agua, los gránulos absorben una pequeña cantidad de ésta y se hinchan hasta cierto límite (French, 1984). Los eventos moleculares que ocurren durante la gelatinización son el colapso o rompimiento del orden molecular dentro del gránulo de almidón, manifestado por cambios irreversibles tales como el hinchamiento del gránulo, la disolución de los cristales nativos, la pérdida de birrefringencia y la solubilización de la amilosa (Atweel y col. 1988). La temperatura de gelatinización y el incremento en la entalpia de gelatinización, puede ser determinada utilizando calorimetría diferencial de barrido (DSC). El pico en un endoterma de DSC refleja la pérdida de dobles hélices de la amilopectina (Srichuwong y Jane, 2007).

2.3.2. Retrogradación

La retrogradación se puede considerar como el fenómeno opuesto a la gelatinización. Cuando la pasta de almidón gelatinizado se enfría lentamente, las moléculas de amilosa tienden a alinearse, de tal manera que puedan formar puentes de hidrógeno entre cadenas paralelas adyacentes (Lineback y Rasper, 1988); a este fenómeno se le conoce con el nombre de retrogradación.

La retrogradación es un proceso complejo y depende de muchos factores, como tipo o contenido de almidón, el pH, los regímenes de cocimiento y enfriamiento, la presencia de lípidos, sales, azúcares. Además se manifiesta por la formación de precipitados y como consecuencia afecta la textura, aceptabilidad y digestibilidad de los alimentos que contienen almidón (Biliaderis, 1991). La retrogradación consiste en dos procesos: a) la gelación de las moléculas de amilosa que son exudadas del gránulo durante la gelatinización y b) la recristalización de la amilopectina (Biliaderis, 1991).

2.4. Digestión del almidón

La digestión del almidón en el organismo humano se lleva a cabo en diferentes fases: la difusión de la enzima hacia el sustrato, de la presencia de poros y/o canales, la absorción de la enzima al material amiláceo y el evento hidrolítico (Colonna y col. 1992). La digestión del almidón inicia en la cavidad oral, mediante la acción de la α -amilasa salival, la cual es secretada por las glándulas parótidas y submandibulares. Esta enzima hidroliza al almidón en disacáridos y oligosacáridos. La amilasa salival al llegar al estómago, es inactivada por las condiciones ácidas que este presenta. Al pasar el almidón y sus productos de hidrolisis al intestino delgado, se inicia la actividad de la amilasa pancreática, para luego desembocar en el duodeno (Heller, 1998). La contribución de la amilasa salival al total de la actividad amilolítica es de un 15 % en individuos sanos (Skude e Ihse 1976). En especies monogástricas, la enzima principal en la digestión del almidón es la α -amilasa. Cuando se incubaba con una dispersión de almidón esta actúa sobre la amilosa y amilopectina rompiendo los enlaces α - (1 \rightarrow 4) liberando glucosa, maltosa y dextrinas (polímeros de glucosa con GP 1-7) (Eliasson, 1996; Tester y col. 2004). La glucosa es absorbida directamente a través de la mucosa intestinal del íleon, mientras que los disacáridos y oligosacáridos son atacados por las enzimas glucosidasas y disacaridasas. Estas enzimas están presentes en los bordes de las células y se producen por las glándulas de Liebert Kuhn del epitelio intestinal (Bjorck, 1996; Annison, 1994). Estas enzimas rompen los enlaces α -(1 \rightarrow 4) y α -(1 \rightarrow 6) de las cadenas α -glucano, por consiguiente remueve sucesivamente las unidades de glucosa a partir del extremo no reductor. La última etapa de la digestión tiene lugar a partir de la absorción de la glucosa a través de los enterocitos al torrente sanguíneo, la cual es entonces transportada al hígado y entra en la recirculación alcanzando el tejido periférico a través de la acción de la insulina. Esta hormona es secretada por el páncreas en respuesta al incremento de la glucosa en sangre; el incremento de la insulina plasmática puede actuar para regular el nivel de glucosa con un estrecho intervalo, estimulando la síntesis y almacenamiento de glucógeno en los músculos y en el hígado. La velocidad a la cual el almidón y los azúcares son digeridos y absorbidos durante el tránsito en el intestino delgado, ha recibido considerable interés debido a la asociación con la respuesta glucémica y el metabolismo postprandial del sustrato (carbohidratos no glucémicos) (Bjorck, 1996).

2.5. Almidón resistente (AR)

Se pensaba que prácticamente todo el almidón era hidrolizado y absorbido en el intestino delgado. Hoy en día, se ha comprobado que aproximadamente entre el 8 y el 10% del almidón contenido en la dieta resiste el ataque enzimático de las secreciones intestinales. Este almidón es conocido como Almidón Resistente (AR). El almidón resistente es definido fisiológicamente como la suma del almidón y los productos de su degradación que no son absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos (EURESTA, 1992).

El AR a su vez es subdividido en 4 diferentes tipos que contribuyen al total del AR en los alimentos (Lajolo y Wenzel, 2006)

AR₁: Almidón físicamente inaccesible, éste se encuentra encapsulado dentro de las paredes celulares de las plantas. Este tipo de almidón puede ser encontrado en granos parcialmente molidos, semillas y leguminosas como frijoles o lentejas (Champ y col. 2003).

AR₂: Gránulos de almidón nativo, los cuales presentan fracciones no gelatinizadas de almidón. Se presentan en el caso particular de aquellos almidones con un patrón de difracción de rayos X tipo B, el cual se caracteriza por tener un arreglo del tipo hexagonal, que lo hace menos accesible a la hidrólisis enzimática, lo que ocasiona una disminución de la digestibilidad, dentro de este tipo de almidón se encuentran los almidones de papa y plátano (Champ y col. 2003; Lehmann y Robín, 2007).

AR₃: Representa la fracción más frecuente de AR, está presente en la mayoría de los alimentos que han sido sometidos a un proceso de cocción, enfriados y posteriormente almacenados por varias horas. Corresponde al almidón retrogradado, que es el almidón que se ha reorganizado después de la gelatinización. Este tipo de almidón es producto de los cambios que han ocurrido en las moléculas de la amilosa y la amilopectina (Champ y col. 2003; Lajolo y Wenzel, 2006).

AR₄: La resistencia enzimática de éste tipo de almidón es debido a una modificación química o térmica. La formación de enlaces glucosídicos diferentes en los enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$ o $\alpha(1 \rightarrow 6)$ por tratamiento térmico, reducen la disponibilidad para las enzimas amilolíticas.

También los enlaces cruzados o la presencia de algunos sustituyentes (por ejemplo, hidroxipropilos) pueden reducir la digestibilidad del almidón (Sajilata y col. 2006)

Por otro lado, el almidón ha sido clasificada por Englyst y col. 1992 según su velocidad de digestión (Figura 4) como:

Almidón de rápida digestión (ADR): Fracción digerida en los primeros 20 minutos después de iniciar la hidrólisis. El ADR es digerido rápidamente y absorbido en el intestino delgado, lo cual genera una elevación rápida de glucosa en sangre (Ludwig, 2002).

Almidón de lenta digestión (ADL): Fracción digerida entre 20 y 120 minutos. El ADL es digerido lentamente a lo largo del intestino delgado para proveer una liberación lenta y prolongada de glucosa

Almidón resistente (AR): Fracción que permanece sin hidrolizar después de 120 minutos, el cual es definido fisiológicamente como la suma del almidón y los productos de su degradación que no son absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos (EURESTA, 1992).

La formación de AR ocurre rápidamente en almidones con altos niveles de amilosa (Sievert y Pomeranz, 1989) debido a que las cadenas largas de α -glucano son necesarias para formar las estructuras cristalinas. Por otro lado, la retrogradación y la formación de AR podrían también ocurrir en almidones cerosos cuando son calentados y enfriados. Los cambios que ocurren en la estructura de los almidones durante el calentamiento y enfriamiento han sido estudiados ampliamente debido a su gran influencia sobre las propiedades funcionales de los alimentos. Por otro lado, este procesamiento del almidón es de considerable importancia nutricional debido a su menor digestibilidad en el tracto intestinal.

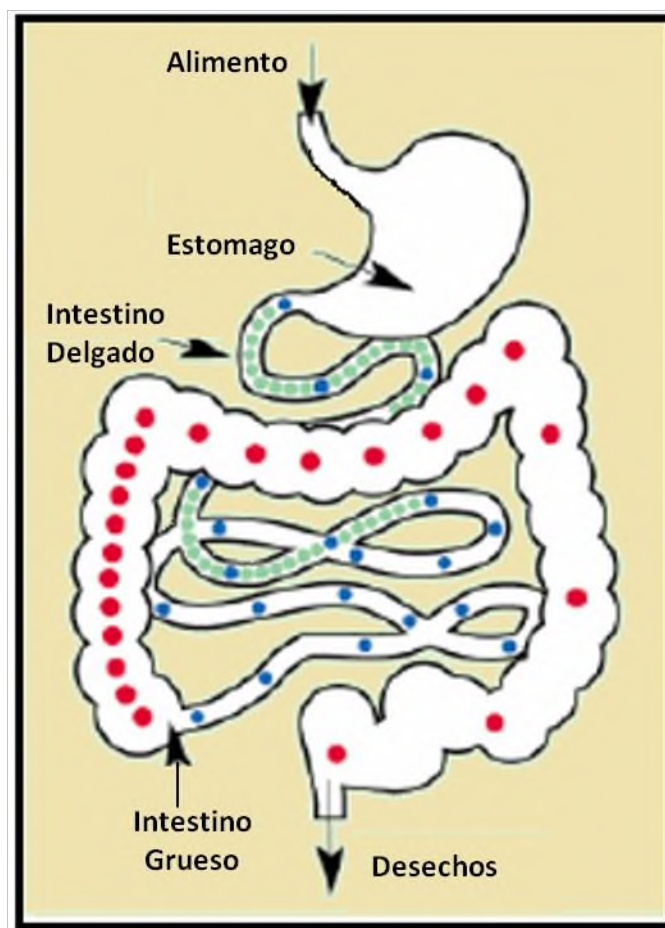


Figura 4. Digestión del almidón in vivo ● Almidón de rápida digestión (ADR), ● Almidón de lenta digestión (ADL), ● Almidón resistente (AR). (Van Hug, 2005).

2.5.1. Factores que influyen en la formación de AR

Hay varios factores que influyen en la formación de AR, entre los que se encuentran, las propiedades inherentes del almidón (cristalinidad del almidón, estructura granular, relación amilosa/amilopectina, retrogradación de la amilosa, longitud de cadena de la amilosa y lintnerización de la amilopectina), calentamiento y humedad, interacción del almidón con otros componentes (proteínas, fibra dietética, inhibidores de enzima, iones, azúcares y lípidos), condiciones de procesamiento, procesos térmicos y condiciones de almacenamiento (Sajilata y col. 2006).

2.5.2. Efectos fisiológicos del AR

El AR al no ser hidrolizado en el intestino delgado sigue su tránsito hacia el intestino grueso donde sirve como sustrato para la fermentación por bacterias intestinales, produciendo ácidos grasos de cadena corta tales como el butírico, propiónico y acético (Cummings y MacFarlane, 1991).

El ácido butírico o butirato es el principal sustrato de energía para los colonocitos, y tiene un papel importante en la prevención y tratamiento de enfermedades de la mucosa colónica como colitis ulcerativa y cáncer de colon. Se ha reportado que el butirato estimula la apoptosis en las células del colon e inhiben el crecimiento de células cancerígenas (Velazques y col. 1996b).

El propionato y el acetato son absorbidos y metabolizados por el hígado a través de diversos mecanismos que pueden ayudar a disminuir los niveles de colesterol plasmático y actuar sobre enfermedades cardiovasculares (Garcia-Alonso y col. 1997).

2.5.3. Procesos de obtención de almidón resistente

Debido a la ya mencionada importancia atribuida al AR en la salud y en la prevención de ciertas enfermedades, diferentes grupos de investigación, así como industrias se han dado a la tarea de desarrollar procesos que permitan la obtención de materiales ricos en AR, los cuales puedan ser adicionados como ingredientes en diversos productos alimenticios.

Tomando en cuenta lo mencionado anteriormente diversas firmas industriales han desarrollado diversos productos que se encuentran disponibles comercialmente, tal es el caso de Novelose® de la empresa National Starch (EEUU). En general, los procesos que están utilizando producen un polvo con alto contenido de AR, obtenido mediante la aplicación de múltiples ciclos de calentamiento en autoclave y enfriamiento a temperaturas alrededor de 4 °C (Würsch, 1999). También se han reportado estudios en los que se realizan modificaciones a almidones de diferentes fuentes, con el objetivo de incrementar el contenido de AR, mediante tratamientos térmicos, enzimáticos, la combinación de estos últimos y también mediante tratamientos químicos. Se ha reportado que cuando el almidón es sometido a modificaciones químicas como la lintnerización y el entrecruzamiento se incrementa sustancialmente el contenido de AR (Shin y col. 2003).

2.6. Modificación química del almidón.

Según Thomas y Atwell (1999), las modificaciones químicas se dividen en: métodos de derivación (entrecruzamiento) y métodos de conversión (oxidación dextrinización y conversión enzimática e hidrólisis ácida). Diversas modificaciones químicas del almidón pueden conllevar cambios notables en el contenido de AR (Tovar y col. 1999). Se ha reportado que cuando el almidón es sometido a una modificación química como la lintnerización y el entrecruzamiento, se incrementa sustancialmente el contenido de AR (Shin y col. 2003).

2.6.1. Lintnerización

La lintnerización es una modificación por ácido la cual se produce haciendo reaccionar una suspensión al 40 % de almidón con HCl o H₂SO₄. Los ácidos hidrolizan los enlaces glucosídicos α -1,4 y α -1,6. La hidrólisis ocurre preferentemente en las regiones amorfas de los gránulos permaneciendo las zonas cristalinas relativamente intactas, produciendo cadenas lineales, las cuales favorecen al fenómeno de retrogradación y éste a su vez a la formación de almidón resistente (Thomas y Atwell, 1999). Por ejemplo; Lemhann y col. (2003) evaluaron el contenido de AR a partir de almidón de chícharo mediante una desramificación enzimática y una hidrólisis ácida durante 1 y 7 días.

Ellos encontraron una producción alta de AR a un día de hidrólisis (51.3 %) en comparación a los siete días de hidrólisis (19.7 %). Reportan que esto es debido a que a los 7 días de hidrólisis hay una alta degradación molecular, lo cual no permite la generación de longitudes de cadenas óptimas para que se lleve a cabo el fenómeno de retrogradación. Shin y col. (2004) investigaron las características estructurales del AR obtenidos a partir de almidón de diferentes tubérculos, los cuales fueron hidrolizados con HCl 1N a 35 °C por 8 h seguido por un tratamiento de autoclave-enfriamiento. El contenido de AR osciló entre 5.4 a 22.7 % dependiendo de la fuente y del tipo de tratamiento. Los parámetros de gelatinización del AR aislado a partir de almidón hidrolizado parcialmente con ácido en autoclave-enfriamiento seguido por un tratamiento calor-humedad (TCH) mostró valores altos de entalpía (ΔH) y una baja temperatura de pico (T_p) comparado con el AR no hidrolizado con ácido. Los autores mencionaron que esto es debido al incremento en el contenido de las dobles hélice, las cuales fueron mayores en las regiones amorfas que en las regiones cristalinas. Los patrones de difracción de rayos X del AR de papa y camote aislado a partir de almidón hidrolizado parcialmente con autoclave-enfriamiento mostraron distintos picos a 15, 25, 27 y 28 °, los cuales, disminuyeron por el TCH, indicando cambios en los componentes de la estructura del almidón durante la hidrólisis ácida parcial, autoclave-enfriamiento y TCH. Estos resultados sugieren que la hidrólisis ácida parcial, autoclave-enfriamiento y TCH son un buen método para incrementar el contenido de AR del almidón obtenido de tubérculos. Espinosa-Solís y col. (2011) analizaron dos estrategias para aumentar el ADL y AR de los almidones de fuentes no convencionales de plátano y mango. Utilizaron una modificación química (hidrólisis ácida) y una modificación enzimática (desramificación), y las caracterizaron fisicoquímica, morfológica y estructuralmente para poder explicar las propiedades de digestión. Ellos reportaron incrementos en el contenido de AR de plátano (variedad macho) y mango con el incremento de HCl. Sin embargo, los niveles de ADL solo se incrementaron en el almidón de plátano hasta en un 30% aproximadamente. En un trabajo previo (Aparicio-Saguilán y col. 2005), almidones con alto contenido de AR a partir de almidón de plátano (variedad macho) fueron obtenidos utilizando lintnerizado y lintnerizado-autoclaveado. Se reportó que al someter el almidón a diferentes ciclos de autoclave-enfriamiento, el contenido de AR incrementó hasta un 19.3 %.

III. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad la búsqueda de fuentes alternativas no convencionales para la obtención de almidón con propiedades funcionales similares a las fuentes convencionales y de baja digestibilidad ha sido la tarea de varios investigadores en el mundo. Por lo tanto, el plátano de la variedad macho y roatán en estado verde o inmaduro podrían ser una buena alternativa para obtener un alto contenido de almidón y además, sería una excelente materia prima para producir almidón resistente.

Por otro lado, no existen estudios sobre la obtención de almidón resistente a partir de la variedad roatán y muy pocos sobre la variedad macho mediante una modificación química, ya que los estudios reportados en la literatura están enfocados hacia fuentes de tubérculos (papa), leguminosas (chícharo, frijol), y cereales (maíz, arroz, trigo). Con el método de lintnerización se pretende desramificar la estructura de amilopectina (remover zonas amorfas) y despolimerizar la amilosa con la finalidad de obtener cadenas lineales cortas que sean capaz de retrogradar y formar estructuras cristalinas de digestión lenta y resistentes a las enzimas digestivas.

IV. HIPÓTESIS

La modificación química mediante una linternización a diferentes tiempos de reacción generará fracciones de cadenas lineales óptimas para formar cristales de digestión lenta y resistentes a la digestión enzimática.

V. OBJETIVOS

5.1. General

Evaluar el efecto de la lintnerización sobre el contenido de almidón resistente en almidón de plátano, aislado a partir de dos variedades (macho y roatán) y realizar su caracterización fisicoquímica, térmica, estructural y de digestibilidad.

5.2. Específicos

1. Llevar a cabo el aislamiento del almidón de plátano de dos variedades (macho y roatán).
2. Modificar químicamente el almidón nativo de plátano de las dos variedades mediante lintnerización a diferentes tiempos de reacción.
3. Evaluar las propiedades fisicoquímicas, estructurales y térmicas de los almidones lintnerizados.
4. Evaluar las características de digestibilidad en función del contenido de ADR, ADL y AR.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Materiales

Se utilizaron plátanos de la variedad macho y roatán, los cuales fueron adquiridos en la finca Mundo Nuevo, Tuxtepec, Oaxaca en estado fisiológico inmaduro.

6.2. Métodos

Para llevar a cabo el desarrollo de los objetivos citados anteriormente a continuación se muestra un diagrama experimental (Figura 5).

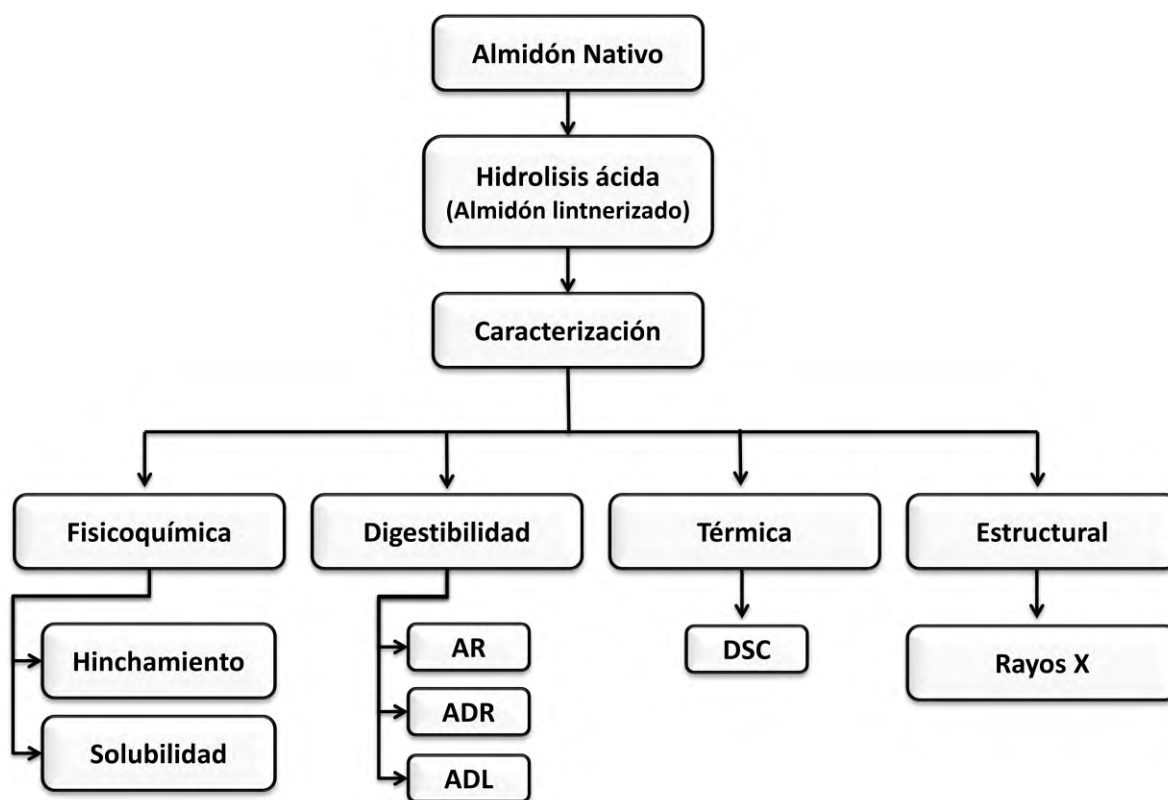


Figura 5. Diagrama experimental para la obtención de un producto con contenido elevado de almidón resistente y su caracterización parcial.

6.2.1. Aislamiento del almidón de plátano

El almidón nativo se aisló por el método propuesto por Flores-Gorosquieta y col., (2004). Se trabajó con lotes de 50 kg, se eliminó la cáscara y se molió en una licuadora tipo industrial marca Inter modelo L1-3 (12 L de capacidad) en lotes de 0.6 partes de fruto (3.6 kg) con 1 parte (6 L) de solución de ácido cítrico al 0.3 % (p/v) para evitar la oxidación del fruto. Se procedió a pasar la mezcla por una tamizadora eléctrica marca Testing Equipment, Mod. RNU y mallas (Lab. Test Sieve) No. 40 (0.425 mm), 100 (0.15 mm), 200 (0.075 mm), 270 (0.053 mm) y 325 (0.045 mm). En cada malla el residuo se lavó con agua hasta que el líquido de salida no contenía aparentemente residuos de almidón. El sobrenadante se pasó a una centrífuga por lotes marca Veronesi, Mod. SAT 130. El líquido se desechó y los sólidos (almidón) contenidos en el tazón fueron diluidos con agua y se pasaron de nuevo por las mallas No. 40, 100, 200, 270, 325 y se volvió a centrifugar, realizándose tres veces el proceso completo. Posteriormente se procedió a deshidratar en el secador por aspersion marca Niro Atomizer Tipo 230 EA 11 No. 21. El polvo se recolectó, se pesó y se almacenó hasta su uso posterior.

6.2.2. Modificación química del almidón por lintnerización.

La lintnerización del almidón se llevó a cabo por el método propuesto por Shin y col. (2003). Se pesaron 0.5 kg de almidón de plátano y se le adicionaron 0.4 L de HCl 1 M a 35 °C. La dispersión de almidón se dejó a diferentes tiempos de reacción (3, 5 y 7 días) con agitación a 50 rpm. Después de estos tiempos se le adicionó 0.4 L de NaOH 1 M a pH 6.0. Los sólidos del almidón se lavaron 6 veces utilizando en cada ocasión 1.5 L de agua destilada. Posteriormente se secó en una estufa Imperial V (Lab-line, NJ, USA) a 50 °C por 20-24 horas.

6.2.3. Determinación de las fracciones de ADR, ADL Y AR

Las fracciones ADR, ADL y AR, se determinaron de acuerdo a su completa o incompleta digestión en el intestino delgado siguiendo la metodología propuesta por Englyst y col. 1992. Se pesaron 400 mg de muestra en matraces Erlenmeyer de 50 mL. A cada matraz se le adicionaron 25 mg de goma guar y se les agregó 5 canicas de vidrio pequeñas. Después

se adicionó 4 mL de agua destilada a cada matraz y se colocaron en un baño de agua en ebullición durante un periodo de 30 minutos agitando continuamente. Transcurrido el tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 15 min y se agregó 5 mL de pepsina y se colocó en un baño maría con agitación orbital a 37°C durante 30 min. Se agregó 5 mL de acetato de sodio 0.25 M a cada muestra y se continuo mezclando en el baño de agua a 37°C. Se adicionaron 2.5 mg de una mezcla de enzimas (pancreatina, invertasa y amiloglucosidasa) a cada muestra en intervalos de 1 minuto. Se dejó en agitación a 37°C, por separado se prepararon tubos con 4 ml de etanol puro y se etiquetaron como G₂₀ y G₁₂₀ min. para cada muestra. Después de 20 min. de hidrolisis, se tomó una alícuota de 0.5 ml y se colocó en el tubo que contiene etanol y se agregó 1 ml de agua, se mezclaron con un vortex durante 30 segundos. Se siguió el mismo procedimiento a 120 min con el tubo indicado como G₁₂₀. Los tubos con las muestras G₂₀ y G₁₂₀ se centrifugaron a 1500 g durante 5 min. Por último se cuantifico el contenido de glucosa con el reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa (GOD/POD) a 510 nm de la siguiente manera:

Incubando en un baño de agua a 37 °C durante 10 min y realizando una lectura en un espectrofotometro Spectronic Genesys 5 (Spectronic Instruments, Inc. Rochester, N. Y. USA) a una longitud de onda de 510 nm.

Se utilizaron las siguientes ecuaciones [1], [2], [3] y [4] para determinación de glucosa y las fracciones del almidón de digestión rápida, lenta y resistente:

$$\% \text{ de glucosa liberada} = \frac{A_t \times V_t \times C \times D}{A_s \times W_t} \times 100 \quad [1]$$

Donde:

A_t= Absorbancia de la muestra

V_t= Volumen Total

C=Concentración de estándar usado

A_s=Absorbancia del estándar usado

W_t= Peso de la muestra

D= Factor de dilución

$$\mathbf{ADR} = (G_{20} - GL) \times 0.9 \mathbf{[2]}$$

$$\mathbf{ADL} = (G_{120} - G_{20}) \times 0.9 \mathbf{[3]}$$

$$\mathbf{AR} = AT - (ADR + ADL) \mathbf{[4]}$$

Donde:

ADR=Almidón de digestión rápida

ADL=Almidón de digestión lenta

AR= Almidón resistente

Donde:

GL = Glucosa libre.

AT = Almidón total.

G₂₀ = Glucosa medida en la muestra después de 20 min.

G₁₂₀ = Glucosa medida en la muestra después de 120 min.

Para el cálculo de la glucosa liberada en esta etapa se utilizaron los siguientes valores:

V_t = 12.5 más 1 mL/g de muestra húmeda usada.

C = 10

D = 1

6.2.4. Caracterización fisicoquímica del AR

6.2.4.1. Perfil de hinchamiento y solubilidad del AR

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría. Sin embargo la abundancia de grupos hidroxilo en su molécula motiva la tendencia de este polisacárido a absorber agua cuando se expone a este líquido. Debido a la insolubilidad de los gránulos, sólo pueden absorber una cantidad relativamente baja de agua que va acompañado de un determinado hinchamiento y aumento en su tamaño el cual puede ser reversible. Cuando una suspensión acuosa de almidón se calienta, los puentes de hidrógeno intermoleculares de las zonas amorfas se rompen y los gránulos se hinchan por una absorción progresiva e irreversible de

agua durante el proceso de gelatinización. En estas condiciones se favorece el hinchamiento tangencial de los gránulos, caracterizado por un aumento en su tamaño y la pérdida de la birrefringencia debido a la ruptura del arreglo radial de las fracciones de amilosa y amilopectina.

Se utilizó el método modificado por Sathe y Salunkhe (1981). Para determinar el grado de hinchamiento de los almidones modificados. En un tubo de centrifuga de 50 mL previamente tarado, se prepararon 40 mL de una suspensión de almidón al 1 % (p/v) en base seca. Se adicionó un agitador magnético y se colocó el tubo en un baño de agua a temperatura constante (60, 70, 80, ó 90 °C). Al tubo se le adaptó un termómetro y se le proporcionó agitación constante a la suspensión para mantenerla uniforme durante 30 min. Transcurrido el tiempo, se retiró el tubo del baño, se sacó el magneto y se secó el tubo. Se centrifugó a 2500 rpm durante 15 min. Se decantó el sobrenadante y se pesaron los gránulos hinchados. Del sobrenadante se tomaron 10 mL, los cuales se colocaron en una charola de aluminio previamente tarada y se secó a 120 °C durante 4 h. Después se pasó la muestra a un desecador y se pesó para determinar la solubilidad y el poder de hinchamiento mediante las siguientes ecuaciones [5] y [6]:

$$\% \text{ Solubilidad} = \frac{\text{Peso del almidón soluble} \times 400}{\text{Peso muestra seca}} \quad [5]$$

$$\text{Poder de Hinchamiento} = \frac{\text{Peso del sedimento}}{\text{Peso muestra seca} \times (100 - \% \text{ solubilidad})} \times 100 \quad [6]$$

6.2.5. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

6.2.5.1. Gelatinización

Las propiedades térmicas tanto del almidón nativo y los modificados, como temperatura y entalpia de gelatinización se evaluaron con un colorímetro de barrido diferencial (TA Instrument, modelo 2010), calibrado previamente con indio, siguiendo la metodología

propuesta por Paredes y col. (1994). Se pesaron 2 mg de muestra (en base seca, mínimo tres réplicas) dentro de una charola de aluminio, posteriormente se le adicionaron 7 μ l de agua desionizada. La charola se selló herméticamente y se dejó equilibrar por espacio de 1h antes de realizar el análisis. Como referencia se utilizó una charola vacía. La muestra se sometió a un programa de calentamiento en un intervalo de temperatura de 30 a 140 °C y una velocidad de 10 °C/min. La temperatura de inicio (T_o), temperatura de pico (T_p), temperatura final (T_f) fueron obtenidas directamente del análisis del software TA Instruments OS/2 versión 2.1.

6.2.5.2. Retrogradación

Una vez calentadas las charolas para gelatinización, estas se almacenaron a 4°C durante 7 días. Transcurrido el tiempo de almacenamiento las charolas se sometieron nuevamente al mismo programa de calentamiento descrito para gelatinización, para de esta manera obtener las propiedades térmicas de retrogradación. Se pesaron 2 mg de muestra (en base seca, mínimo tres réplicas) dentro de una charola de aluminio, posteriormente se le adicionaron 7 μ l de agua desionizada. La charola se selló herméticamente y se dejó equilibrar por espacio de 1h antes de realizar el análisis. Como referencia se utilizó una charola vacía. La muestra se sometió a un programa de calentamiento en un intervalo de temperatura de 30 a 140 °C y una velocidad de 10 °C/min. La temperatura de inicio (T_o), temperatura de pico (T_p), temperatura final (T_f) fueron obtenidas directamente del análisis del software TA Instruments OS/2 versión 2.1.

6.2.6. Caracterización molecular del AR

6.2.6.1. Difracción de Rayos X.

La difracción de rayos X permite estudiar el nivel de cristalinidad de los polímeros, brindándonos información de su estructura. El fenómeno de difracción ocurre cuando ondas de rayos X interaccionan con un cuerpo cristalino, con estructuras atómicas repetidas, en las que la distancia de los espacios interatómicos son aproximadamente iguales a los de la longitud de onda del rayo incidente. Siendo los almidones cuerpos parcialmente cristalinos, tienen la capacidad de difractar los rayos X, permitiendo conocer

cómo afecta la modificación en cuanto al empaquetamiento de la amilop ectina en el granulo de almidón

Las muestras fueron almacenadas a temperatura ambiente y posteriormente fueron analizadas. Una cantidad de almidón fue colocado sobre el porta muestra del difractor metro de rayos X, modelo *D8 ADVANCE*, serie H-X-L4-102, con un generador de radiación de Cu-K α con filtro de Ni y rejilla de 2 mm, se corrieron en 2θ de 5 a 40° con una velocidad de barrido de 60 s/° y con una intensidad de 30 mA y un voltaje de 40 kV. El porcentaje de cristalinidad (%C) fue determinado del difractograma, calculando el área correspondiente de los picos cristalinos (A_p) entre el área total bajo la curva (halo amorfo y cristalino) (A_t) menos el ruido del instrumento (N) de acuerdo a la siguiente ecuación [7]:

$$\% C = \frac{A_p}{A_t - N} \quad [7]$$

Dónde:

A_p = Área correspondiente de los picos cristalinos

A_t = Área total bajo la curva (halo amorfo y cristalino)

N = Ruido del instrumento

6.3. Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados estadísticamente usando un análisis de varian za de una vía (ANDEVA) con un valor de significancia ($\alpha = 0.05$) y un tamaño de muestra ($n = 3$). Al encontrar diferencias estadísticas se aplicó un análisis de Tukey.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1. Determinación de las fracciones de ADR, ADL Y AR

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la prueba Englyst, los cuales expresan las propiedades de digestión: almidón de digestión rápida (ADR), de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR), para los almidones de plátano roatán y macho. El almidón de plátano roatán nativo mostró un alto contenido (aproximadamente 66 %) de almidón resistente (AR), mientras que el almidón de plátano macho nativo mostro un 65 %, no observaron diferencias significativas en el contenido de AR. Estos valores encontrados en esta investigación son mayores que el reportado (40.0 %) previamente (Aparicio-Saguilán y col. 2005), para almidón de plátano de la misma variedad. Estas diferencias en el contenido de AR pueden ser debidas a las características agronomicas del cultivo. A pesar de las diferencias, con respecto a las demás ambas variedades de almidón indican que el plátano es uno de los alimentos que presentan un alto contenido de AR, es decir, una baja digestibilidad en su estado inmaduro con respecto a las demás fuentes de almidón que han sido estudiadas por otros autores. De acuerdo a la Tabla 2, el contenido de AR disminuyó significativamente en ambas especies, sin embargo se observa que en el caso de la variedad macho la disminución es más notoria que las muestras de plátano roatán. Un comportamiento similar para el almidón de maíz a los tres días de lintnerización fue reportado por Hamaker y col. (2006). Esta disminución en el contenido de AR en el almidón de plátano roatán hasta 32 % es debida a la acción del ácido clorhídrico sobre los gránulos de almidón provocando su destrucción parcial de la estructura granular y como consecuencia de las características cristalinas dentro de los gránulos son disminuidas, por lo tanto, la estructura del almidón puede ser más susceptible al ataque enzimático (Buleon y col. 1998). Por otra parte a los 7 días de lintnerización los niveles de AR incrementaron ligeramente de un 32% (5 días) hasta un 36 % en la muestra de plátano roatán. Este resultado indica que el ácido puede dañar tanto zonas amorfa como cristalina del almidón (Bertoft, 2004). Sin embargo, el daño es menor en la zona cristalina, debido al impedimento estérico que opone la estructura de la amilopectina. Las cadenas de amilosa tienen mayor volumen libre y como consecuencia son propensas más fácilmente al ataque del ácido.

Tabla 2. Valores de digestibilidad del almidón de plátano macho y roatán lintnerizado al tiempo indicado.

Muestra	Tiempo de hidrolisis (días)	ADR (%)	ADL (%)	AR (%)
APR	Nativo	3.2 ± 0.22 ^a	13.2 ± 0.47 ^a	65.8 ± 0.43 ^a
	3	5.8 ± 0.34 ^b	28.2 ± 0.32 ^b	57.3 ± 1.10 ^b
	5	25.6 ± 0.30 ^c	25.0 ± 0.07 ^c	32.3 ± 0.62 ^c
	7	20.2 ± 0.56 ^d	29.7 ± 0.40 ^b	36.3 ± 0.64 ^d
APM	Nativo	0.7 ± 0.15 ^e	7.8 ± 0.25 ^e	65.1 ± 0.49 ^a
	3	5.0 ± 0.22 ^b	5.5 ± 0.15 ^f	62.3 ± 0.54 ^e
	5	5.0 ± 0.24 ^b	10.4 ± 0.41 ^g	60.7 ± 0.42 ^f
	7	22.2 ± 0.47 ^f	18.3 ± 0.35 ^h	48.1 ± 0.22 ^g

Nota: Promedio de tres repeticiones ± error estándar. Valores con la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes a $p < 0.05$.

AR = Almidón Resistente, ADR: Almidón de digestión rápida, ADL: Almidón de digestión lenta, APR = Almidón de Plátano Roatán., APM = Almidón de Plátano Macho.

En general, aún cuando los niveles de AR de ambas variedades disminuyeron con el tiempo de hidrólisis, los resultados de AR siguen siendo más altos que los valores reportado para otras fuentes de almidón hidrolizadas a 7 días, tal como almidón de mango (20.6%) (Espinosa-Solis y col. 2011), plantano (16.2 %) (Espinosa-Solis y col. 2011) y maíz (9.7 %) (Zhang t col. 2006).

Por otro lado, con respecto al contenido de ADL, el almidón de plátano roatán lintnerizado presentó el mayor contenido (29.7%) en comparación con el almidón de plátano macho tratado durante el mismo tiempo de hidrólisis (18.3%). Estas diferencias en su digestibilidad se deben principalmente a las diferencias estructurales alcanzadas a los diferentes tiempos de hidrólisis, la estructura fina de los constituyentes del almidón (distribución de longitud de cadena de la amilopectina y contenido de amilosa). Estas características afectan el proceso de retrogradación durante el almacenamiento de las muestras. (Yao y col. 2002; Hoover, 1995). Así también, presentó un mayor contenido de ADL en comparación con almidones lintnerizados de papa, los cuales presentaron 16.5 % (Zhang y col. 2006b), sin embargo, estos valores son menores a los reportados por otras fuentes, tal como lintnerizados de maíz (40.1 %) (Zhang y col. 2006b) y lintnerizados de almidón plátano macho (35.4 %)(Espinosa-Solis y col. 2011). El aumento en los niveles de ADL en los primeros días de hidrólisis se debe probablemente a que las cadenas de amilosa que forman parte de las zonas amorfas fueron despolimerizadas (Kuakpetoon y Wang, 2008), obteniéndose cadenas con longitudes más cortas, las cuales, se reorganizan y forman estructuras cristalinas menos perfectas (se consideran estructuras perfectas a aquellas que forman idealmente la cruz de malta) y de mucho menor tamaño, las cuales generan una lenta digestión por las enzimas (Morrison y col. 1993; Raja, 1994).

También es notorio en la Tabla 2 que el contenido de ADR se incrementa con el tiempo de hidrólisis. Esto resalta la importancia del factor tiempo en el proceso de modificación química utilizado. Esto es debido a que algunas cadenas generadas durante el proceso de lintnerización fueron degradadas parcialmente y tienen un grado de polimerización suficiente para reordenarse y otras debido al tiempo de hidrólisis prolongado no lo hacen, como consecuencia de esto la digestión enzimática se ve facilitada por la presencia de cadenas más cortas. Por esta razón el contenido de ADR cuantificado es mayor al de su contra parte

el almidón nativo. Zhang y col. 2006 reportaron que con tratamientos extensos de lintnerización (21 días) para almidón de papa se produce un incremento en el contenido de ADR y disminución en el contenido de AR, con pequeños cambios en el contenido de ADL. Estas diferencias en las propiedades de hidrólisis muestran que el almidón de plátano, maíz y papa podrían estar relacionada a la organización de las estructuras cristalinas de la molécula de amilopectina, las cuales, son hidrolizadas por el ácido en diferentes maneras (Bertoft y col., 2012) o a la distribución de la amilosa en la estructura lamela amorfa, donde la amilosa podría estar mezclada con la amilopectina en menor o mayor grado, dependiendo de la fuente botánica. Adicionalmente, la localización de la amilosa dentro del gránulo podría influenciar la hidrólisis ácida de los componentes del almidón (Wikman y col., 2012).

7.2. Hinchamiento y Solubilidad

La Figura 6 muestra los perfiles de hinchamiento de los almidones nativos (plátano macho y roatán) y lintnerizados, a diferentes tiempos y temperaturas. Aun cuando la capacidad de hinchamiento de las muestras tanto de plátano roatán como de macho comienza a partir de los 70°C, se puede observar que las muestras de de roatán alcanzan porcentajes más altos en menos tiempo en comparación con las muestras macho. En general, el poder hinchamiento incrementa en función del aumento de la temperatura, lo cual implica que los enlaces intermoleculares en las cadenas del almidón se rompan durante el calentamiento permitiendo así la incorporación de las moléculas de agua hacia el interior de los gránulos de almidón. De esta manera a mayor temperatura, la energía cinética de las moléculas de agua aumenta y facilita la difusión de agua hacia el interior del gránulo de almidón y como consecuencia el poder de hinchamiento es mayor. Es notorio, que las muestras de almidón de plátano macho lintnerizado a 5 días (APML (5)) y almidón de plátano roatán lintnerizado a 7 días (APRL (7)) presentan el más alto grado de hinchamiento. Esto indica que a mayor tiempo de hidrólisis ácida mayor es la degradación del gránulo, dañando principalmente las zonas amorfas (cadenas de amilosa) y enlaces α -1,6 de la estructura de amilopectina, lo cual, permite una mayor incorporación de las moléculas de agua al interior de los gránulos del almidón. Las cadenas de amilosa podrían estar reducidas a tamaños

óptimas para retrogradar y formar agregados que son capaces de atrapar moléculas de agua (Gidley, y Bulpin, 1989). Por lo tanto, el hinchamiento es dependiente del reacomodo estructural. No obstante, las muestras de almidón de plátano roatán lintnerizado a 3 días (APRL (3)), almidón de plátano roatán lintnerizado a 5 días (APRL (5)) y almidón de plátano macho lintnerizado a 7 días (APML (7)) demuestran que el grado de hinchamiento no es dependiente del tiempo. Debido a que el hinchamiento puede ser también afectado por otros factores, tales como, el contenido de amilosa, grado de ramificación de la molécula de amilopectina, cristalinidad, e interacción de las cadenas del polímero entre los dominios amorfos y cristalinos, en donde los grupos hidroxilos disponibles para interaccionar con el agua pueden estar disminuidos por los enlaces entre las cadenas del almidón y los puentes de hidrogeno (Rickard, Asoaka y Blanshard, 1991). La disminución en los valores de hinchamiento de la muestra de almidón de plátano roatán nativo (APRN) a altas temperaturas indica un rompimiento de los gránulos con la pérdida de agua y consecuentemente valores bajos de hinchamiento.

Las Figuras 7 (a y b) muestran los resultados de solubilidad en porcentajes para los almidones nativos y lintnerizados de plátano macho y roatán. Se observó un incremento en el porcentaje de solubilidad para los almidones lintnerizados desde los 50 °C, en ambas especies. En el caso de los almidones de plátano roatán lintnerizados a diferentes tiempos (Figura 7b) el porcentaje de solubilidad incrementó hasta un 90 % aproximadamente. Para todos los casos excluyendo el almidón de plátano macho nativo (APMN) (el cual aumentó su solubilidad a partir de los 80°C), incrementaron su porcentaje de solubilidad considerablemente a partir de los 70 °C. Por lo tanto, es claro que el porcentaje de solubilidad aumenta con la temperatura y también con la lintnerización tanto en las muestras de plátano macho como de roatán. Por ejemplo, a 80 °C el APRN incrementó su solubilidad hasta un 38 %, en cambio con la lintnerización aumentó hasta un 80 %, mientras que el APMN incrementa su solubilidad de un 8% a 90 °C y con la lintnerización llegó a incrementar su solubilidad hasta un 98%.

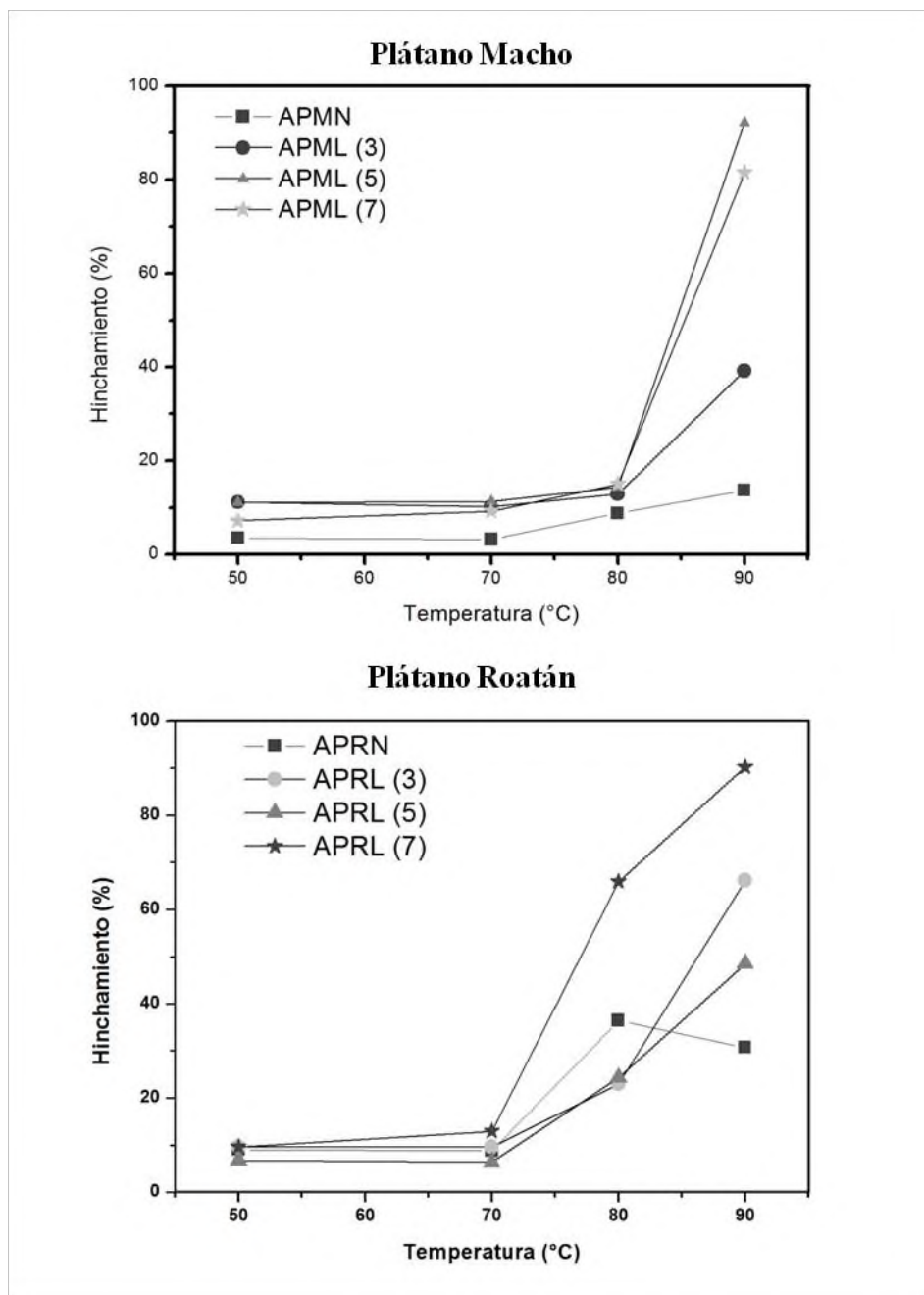


Figura 6. Perfiles de hinchamiento de almidones nativos y lintnerizados de almidón de plátano a) macho y b) roatán.

El incremento en el porcentaje de solubilidad del almidón de plátano lintnerizado de ambas especies se debe probablemente a la parcial despolimerización de las cadenas de almidón por el prolongado tratamiento con ácido, lo cual produce cadenas cortas u oligómeros de almidón solubles durante el calentamiento (Aparicio-Saguilán y col., 2005). Para todos los almidones lintnerizados (3, 5 y 7 días) se observó un incremento de los valores de solubilidad después de los 70°C, este comportamiento está relacionado con una mayor desorganización de los gránulos de almidón con la temperatura de gelatinización obtenida con las pruebas de DSC. El almidón de plátano nativo mostró valores bajos de solubilidad en las diferentes temperaturas, lo cual es debido a la integridad de los gránulos de almidón. De acuerdo a Gao y col. 2012 otros factores que pueden afectar el porcentaje de solubilidad es el grado de empaquetamiento de las doble hélices en la lamela cristalina, cristalinidad y retrogradación de las cadenas hidrolizadas, provenientes del reacomodo estructural durante la lintnerización pueden también afectar el porcentaje de solubilidad.

7.3. Características térmicas de los almidones de plátano variedad macho y roatán modificados mediante Lintnerización

Las temperaturas y entalpías de gelatinización del almidón nativo y lintnerizado de plátano de la variedad macho y roatán se muestran en la Tabla 3. El almidón de plátano nativo roatán mostró una temperatura de pico (T_p) de 77.02 °C, mientras que el almidón nativo de macho mostró una temperatura de pico (T_p) de 79.88 las cuales son más alta que en otras fuentes de almidón, tales como el mango ($T_p = 69.73$ °C) (Espinosa-Solís y col. 2011), cassava ($T_p = 66.5$ °C) (Mutingi y col. 2009) y maíz ($T_p = 72$ °C) (Hernández-Lauzardo y col. 2004). La diferencia en la temperatura de gelatinización entre las diferentes fuentes de almidón podría deberse a su estructura molecular (Noda y col. 1998), a la longitud de las cadenas de la amilopectina (Yuan y col., 1993, Jane y col., 1999) y al grado de ramificación.

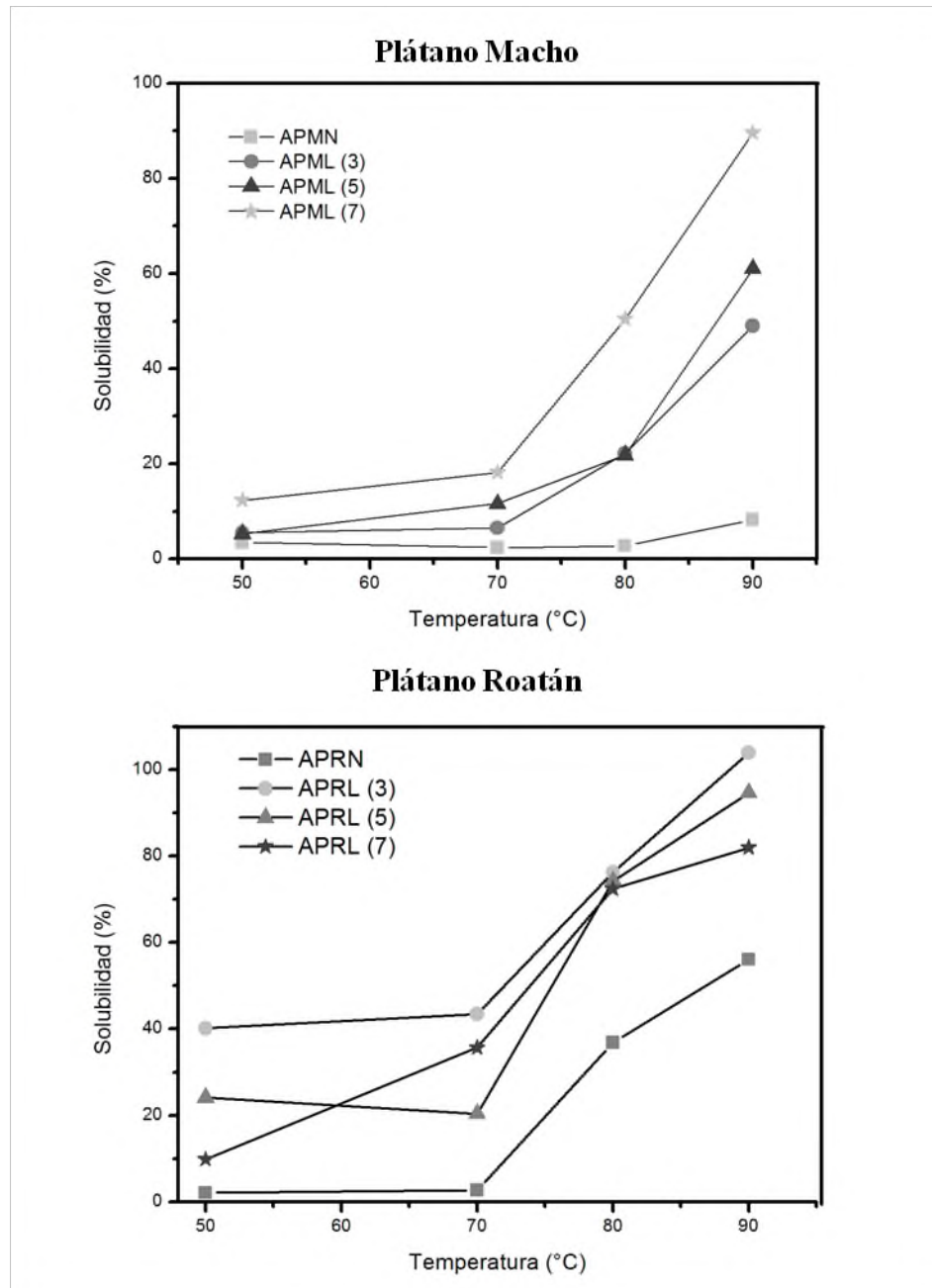


Figura 7. Perfiles de solubilidad de almidones nativos y lintnerizados de almidón de plátano a) macho y b) roatán.

La hidrólisis ácida produjo un incremento en la temperatura de pico (T_p), temperatura final (T_f), y entalpía en los tiempos 3 y 5 días para las muestras de plátano roatán y 3, 5, y 7 días en las muestras de plátano macho. El arreglo de los componentes del almidón y la perfección de los cristales producidos por la hidrólisis ácida son responsables de este comportamiento. El tratamiento ácido removió las zonas amorfas de los gránulos de almidón y permanecieron las lamelas cristalinas las cuales fundieron a altas temperaturas. En el caso de la muestra de plátano roatán con los tratamientos con ácido a tiempos prolongados (7 días), la T_p y T_f disminuyeron pero la entalpía incrementó comparando con los 3 y 5 días de hidrólisis ácida. Los valores bajos de T_p y T_f son debidos a que algunas regiones cristalinas de la molécula de amilopectina fueron desorganizadas, por lo tanto, se requirió una menor temperatura para completar el proceso de gelatinización. Mientras que el incremento de la entalpía probablemente resulte de la reducción de la fracción amorfa, lo que lleva a un incremento en la cristalinidad relativa del almidón residual.

La Figura 8 y Tabla 3, se muestran las transiciones térmicas del almidón nativo y linternizado a los diferentes días. De acuerdo a los termogramas, la hidrólisis ácida afectó la temperatura de gelatinización del almidón. La linternización del almidón provocó un aumento de la temperatura de gelatinización a los 3 días de linternización. Este incremento se mantiene hasta los 5 días, posteriormente disminuye hasta casi su valor inicial. Los cambios en la temperatura de gelatinización por efecto de la linternización se deben probablemente al daño en los gránulos de almidón durante la hidrólisis y reacomodo estructural de las cadenas degradadas. Dado que las zonas amorfas son las primeras en ser degradadas por el ácido, la amilosa tiende a ser depolimerizada, algunas de las cuales, son capaces de formar dobles hélices provocando que la temperatura y entalpía de gelatinización incrementen.

De acuerdo a Jayakody y Hoover (2002), el incremento de la entalpía refleja la energía necesaria para fundir y desbaratar la estructura de la doble hélice de la molécula de amilopectina, así como, la formada entre amilosa-amilopectina y amilosa-amilosa durante la linternización. Al tiempo máximo de hidrólisis (7 días) en la muestra de plátano roatán, la depolimerización es mayor, tanto en la zona amorfa como en la parte cristalina de los gránulos.

Tabla 3. Temperaturas y entalpías de gelatinización en almidones nativos y lintnerizados de plátano macho y roatán a diferentes tiempos de hidrólisis ácida.

Muestra	Tiempo de hidrólisis (Días)	T _o (°C)	T _p (°C)	T _f (°C)	ΔH (J/g)
APR	Nativo	73.08 ± 0.06 ^c	77.02 ± 0.13 ^b	87.86 ± 0.27 ^a	11.65 ± 0.08 ^a
	3	75.86 ± 0.04 ^e	80.53 ± 0.11 ^d	96.89 ± 0.11 ^c	13.56 ± 0.006 ^b
	5	71.26 ± 0.004 ^b	80.52 ± 0.00 ^d	100.35 ± 0.51 ^d	14.12 ± 0.04 ^c
	7	66.04 ± 0.15 ^a	76.47 ± 0.13 ^a	111.92 ± 2.54 ^f	15.0 ± 0.19 ^d
APM	Nativo	74.55 ± 0,03 ^d	79.88 ± 0,10 ^c	93.72 ± 0,66 ^b	13.55 ± 0,16 ^b
	3	77.92 ± 0,02 ^g	83.56 ± 0,11 ^e	100.36 ± 0,30 ^d	15.13 ± 0,04 ^d
	5	77.75 ± 0,11 ^g	86.12 ± 0,17 ^f	108.37 ± 0,87 ^e	16.11 ± 0,004 ^c
	7	76.71 ± 0,08 ^f	87.63 ± 0,23 ^g	115.64 ± 0,50 ^g	17.61 ± 0,28 ^f

Media de tres repeticiones ± error estándar. Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$).

APM: Almidón de plátano macho, APR: Almidón de plátano Roatán, T_o = Temperatura inicial, T_p = Temperatura promedio, T_f = Temperatura promedio, ΔH = Entalpia de gelatinización.

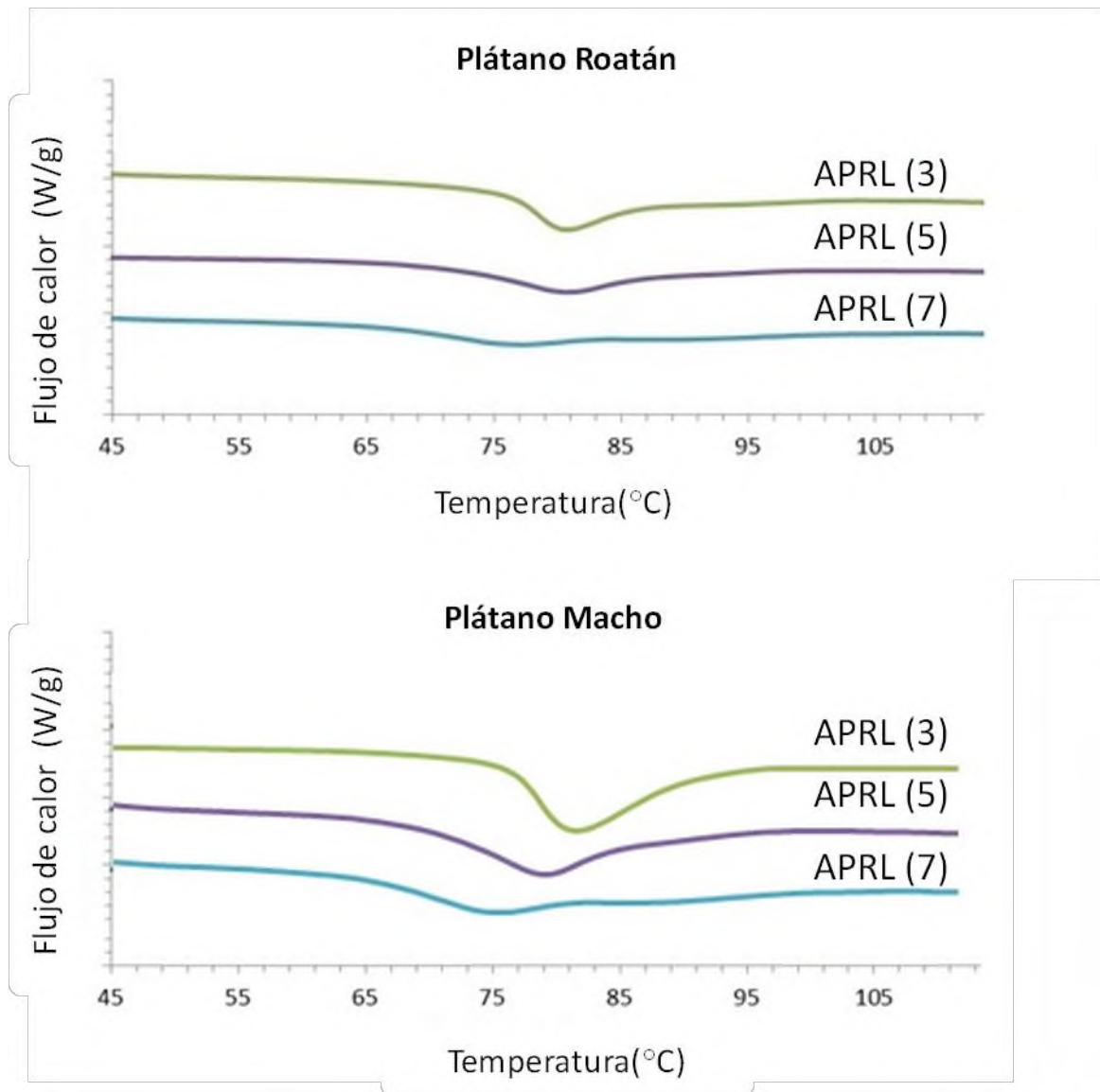


Figura 8. Termogramas de gelatinización del almidones lintnerizados de almidón de plátano a) roatán y b) macho

En las muestras de plátano roatán la temperatura necesaria para iniciar el desarreglo de las estructuras (T_0) es menor que la de las muestras de macho. Sin embargo, dado que la despolimerización genera una diversidad en el tamaño de las cadenas poliméricas, algunos cristales serán más fácilmente gelatinizados por efecto de la temperatura que otros. La entalpía indicada en la Tabla 3 para la muestra de roatán con hidrólisis (7 días) corresponde a la suma de las dos bandas. Por lo tanto, la destrucción parcial de los gránulos de almidón, lo cual puede permitir el desacoplamiento de las dobles hélices de las cadenas de amilopectina (Morrison y col., 1993; Jacobs y col., 1998) y el rearrreglo de estructuras cristalinas provenientes de cadenas poliméricas más cortas pueden ser la causa de las diferencias en las transiciones térmicas durante la linternización. Los resultados térmicos son también relacionados con el incremento en los niveles de ADL en los diferentes tiempos de linternización, dado que se forman estructuras cristalinas menos perfectas que las que son completamente resistentes a la hidrólisis enzimática. Los linternizados de plátano macho y roatán no presentaron T_p de gelatinización mayores a 100 °C, lo cual significa que estos linternizados podrían ser utilizados en productos que no son cocidos durante la preparación y/o con una ligera cocción antes de ser consumidos, para que pueda conservar las propiedades de digestión.

La Figura 9 muestra las transiciones por retrogradación del almidón (pruebas hechas después de 7 días de reposo). La temperatura y la entalpía de retrogradación aumentan con el tiempo de hidrólisis.

En el caso de los linternizados de plátano roatán que se especifican en la Tabla 4. Un comportamiento similar para el almidón de mango y plátano linternizado a diferentes tiempos fue previamente reportado (Espinosa-Solís, y col., 2011). El aumento podría deberse a las cadenas cortas que se generaron al incrementar el tiempo de hidrólisis ácida, las cuales tienen mayor movilidad, permitiendo una mejor reorganización entre ellas a través de puentes de hidrogeno, afectando como consecuencia la temperatura de retrogradación. La protección a la retrogradación puede ser también causada por la reestructuración cristalina de las cadenas cortas obtenidas de la despolimerización parcial de la amilosa. Este resultado comprueba el incremento de los niveles de ADL.

Tabla 4. Temperatura y entalpía de retrogradación del almidón nativo y lintnerizado a diferentes tiempos de hidrólisis ácida y almacenada durante 7 días.

Muestra	Tiempo de hidrólisis (Días)	T _o (°C)	T _p (°C)	T _f (°C)	ΔH (J/g)
APR	Nativo	40.7 ± 0.6 ^b	51.0 ± 0.5 ^a	70.4 ± 0.9 ^b	10.1 ± 0.2 ^e
	3	37.9 ± 1.42 ^a	53.5 ± 1.6 ^b	73.4 ± 0.91 ^d	10.4 ± 0.03 ^e
	5	45.3 ± 1.44 ^d	58.8 ± 0.70 ^d	80.1 ± 0.51 ^e	12.1 ± 0.06 ^f
	7	42.1 ± 0.73 ^c	58.0 ± 0.04 ^d	84.3 ± 0.96 ^f	15.0 ± 0.37 ^g
APM	Nativo	54.37 ± 0.16 ^h	61.9 ± 0.25 ^e	71.28 ± 0.04 ^c	3.7 ± 0.04 ^a
	3	46.7 ± 0.44 ^e	56.9 ± 0.47 ^c	69.9 ± 0.33 ^a	4.6 ± 0.29 ^b
	5	48.6 ± 0.92 ^f	58.7 ± 1.33 ^d	71.5 ± 1.66 ^c	5.7 ± 0.20 ^c
	7	49.0 ± 0.22 ^g	65.7 ± 0.37 ^f	80.0 ± 1.14 ^e	7.3 ± 0.12 ^d

Media de tres repeticiones ± error estándar. Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas (p<0.05).

APM: Almidón de plátano macho, APR: Almidón de plátano Roatán, T_o = Temperatura inicial, T_p = Temperatura promedio, T_f = Temperatura promedio, ΔH = Entalpia de gelatinización.

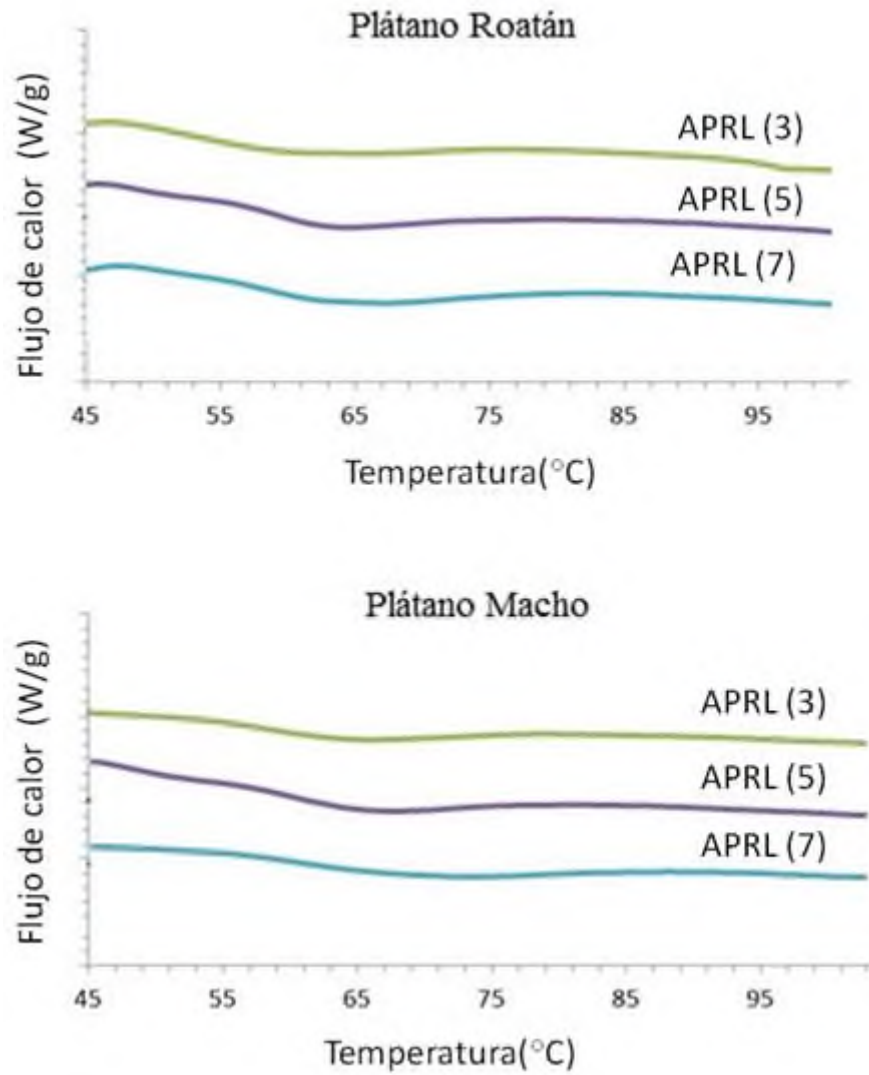


Figura 9. Termogramas de retrogradación de almidones lintnerizados de almidón de plátano a) roatán y b) macho

7.4. Difracción de rayos X

Los patrones de difracción de rayos X de los almidones nativo y modificados por Lintnerización de plátano macho y roatán se muestran en la figura 10. El almidón de plátano macho y roatán nativo presentaron un patrón de difracción tipo B con picos a valores $2\theta = 5, 15, 17, 23$. Otros estudios han reportado también patrones de difracción tipo B para almidón de plátano (Faisant y col., 1995). Se han reportado algunos estudios de patrones de difracción diferentes para el almidón de plátano macho, tal es el caso de Espinosa Solís y col., (2011) quienes reportaron un patrón tipo C., Millán-Testa y col., (2005) determinaron también un patrón de difracción tipo C (el cual es una mezcla del tipo -A y -B) para almidón de plátano nativo de la especie *Musa paradisiaca*, mientras que Bello Pérez y col., (2000^a) determinaron un patrón tipo A. Estas diferencias en los patrones de difracción de rayos X reportados para el plátano son debido a la variedad, a las condiciones ambientales de crecimiento de cultivo y a la estructura de la molécula de amilopectina (Sang-Ho y Jay-Lin, 2002).

En el caso del almidón de plátano se han reportados los tres tipos de patrón de difracción de rayos X. Zhang y col. (2005) mencionan que el arreglo cristalino del almidón de plátano aún no está claro, ya que este va a depender principalmente de la variedad del plátano y/o las condiciones de cultivo (medio ambiente), el proceso de aislamiento y del estado de madurez del fruto.

Los almidones modificados no presentaron ningún cambio en el patrón de difracción en ambas variedades. Las modificaciones no cambiaron el arreglo cristalino pero si se incremento el porcentaje de cristalinidad, Una explicación del aumento observado en los almidones lintnerizados es que durante la hidrólisis puede ocurrir un cierto grado de despolimerización como efecto secundario (Kuakpetoon y Wang, 2008). Esto permite obtener cadenas lineales de amilosa que se reorganizan en una estructura ordenada (Morrison y col. 1993; Raja, 1994). Estos resultados indican que después de la hidrólisis de las zonas amorfas, continuaron los puntos de ramificación de la molécula de amilopectina, lo cual modificó los picos de cristalinidad anteriormente mencionados. Los ligeros cambios en los picos de cristalinidad de los almidones lintnerizados están relacionados con el contenido de

amilosa; ambos resultados sugieren que el empaquetamiento cristalino de los almidones nativos limita la hidrólisis ácida.

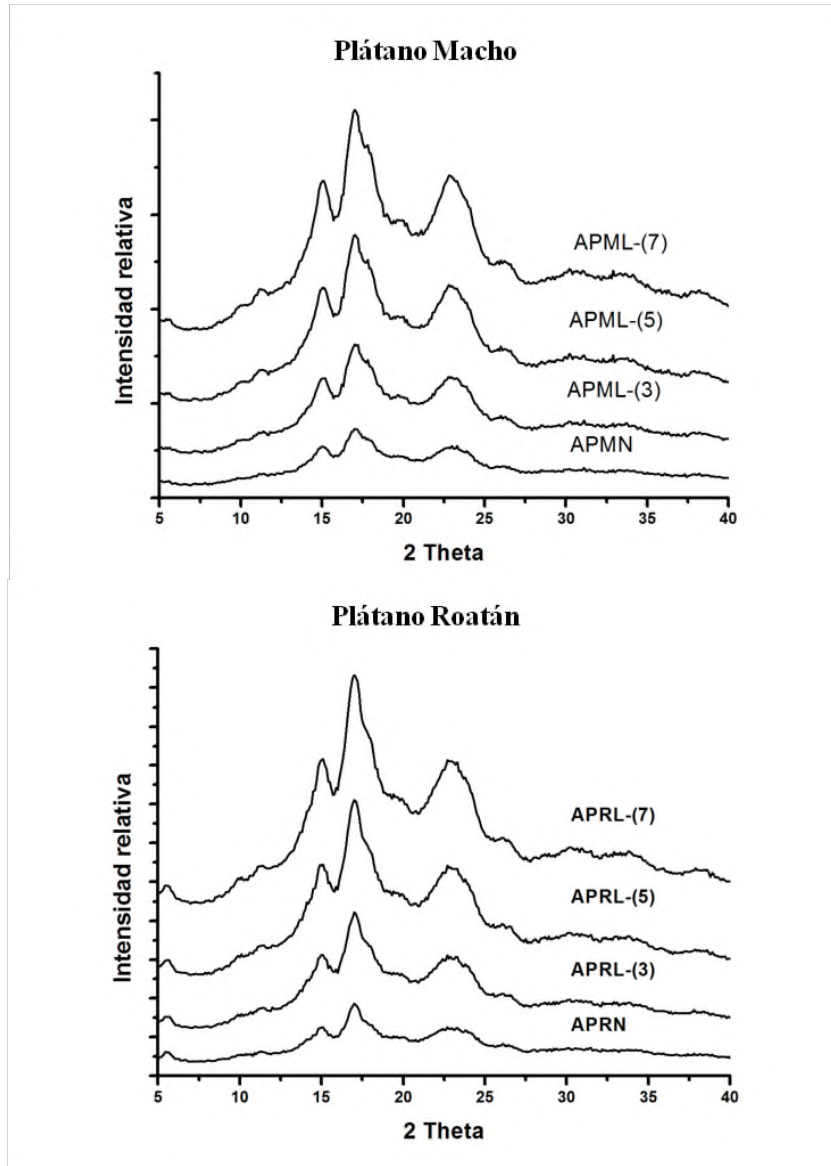


Figura 10. Patrones de difracción de rayos X de almidones lintnerizados de almidón de plátano a) macho y b) roatán.

VIII. CONCLUSIONES

Fue estudiado el efecto de la lintnerización a 3, 5 y 7 días sobre almidón de plátano roatán y macho. En ambos casos el contenido de AR fue disminuido en función al tiempo de hidrólisis. Sin embargo, el porcentaje obtenido fue mayor que el reportado para otras fuentes de almidón usando condiciones similares de lintnerización. Los niveles de ADL y ARD incrementaron con el proceso de modificación química, debido al ordenamiento o asociación de cadenas cortas generadas después del proceso de hidrólisis.

Las modificaciones alteraron el orden estructural en el almidón de plátano macho y roatán, aumentando la temperatura y entalpía de gelatinización y retrogradación.

Los almidones nativos y modificados en ambas variedades presentaron un patrón de difracción de rayos X tipo B. En los almidones modificados se observó un incremento en el porcentaje de cristalinidad en comparación con el almidón nativo para ambas variedades.

Los porcentajes de hinchamiento y solubilidad incrementaron con el aumento de la hidrólisis ácida, indicando cambios estructurales y conformacionales de las cadenas de almidón.

La lintnerización modificó las características de digestibilidad, las propiedades térmicas y fisicoquímicas del almidón de plátano macho y roatán.

La modificación química realizada en los almidones de las variedades macho y roatán incrementaron la cantidad de almidón resistente, dando posibilidad para uso alimenticio.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Annison, G., y Topping. (1994). Nutritional role of resistant starch: chemical structure vs physiological function. *Annual Review Nutrition*. 14, 297-320.
- Aparicio-Saguilán, A., Flores-Huicochea, E., Tovar, J., Garcia-Suárez, F., Gutiérrez-Meraz, F., y Bello-Pérez, L.A. (2005). Resistant starch-rich powders prepared by autoclaving of native and lintnerized banana starch: partial characterization. *Starch/stärke*, 57, 405-412.
- Atwell, W. A., Hood, L., Lineback, D., Varriano-Marston, E., & Zohel, H. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomenon. *Cereal Foods World*, 33, 306–311.
- Bello-Perez, L. A. Méndez-Montevalvo, M. G., y Agama-Acevedo E. (2006). Almidón: definición, estructura y propiedades. In: Carbohidratos en alimento regionales iberoamericanos. Franco maría, Menezes, Elizabete Wenzel de (orgs). Sao paulo: editora da Universida de de Sao Paulo. Impreso en Brazil.
- Bello-Pérez, L.A., Méndez-Montevalvo, G., y Solorza-Feria, J. (2002). Estructura molecular de almidones. Memorias de Investigación. *CeProBi-IPN*, México.
- Bello-Pérez, L. A., Romero-Manilla, R. y Paredes-López, O. (2000). Preparation and properties of physically modified banana starch prepared by alcoholic-alkaline treatment. *Starch/Stärke*. 52:154 – 159.
- Bello-Pérez, L. A., Solorza-Feria, J. y Paredes-López, O. (2001). “El almidón como fibra”. *Conversa*. 10–15.
- Bello-Pérez, L.A. (1995). Amilopectina-Characterización molecular y funcional. Tesis de doctorado. Cinvestav-IPN. Irapuato, México.
- Bello-Pérez, L.A., Roger, P., Baud, B. y Colonna, P. (1998). Macromolecular features of Starches Determined by Aqueous High-performance Size Exclusion Chromatography. *Journal. of Cereal Science*. 27, 270-275.

- Bello-Pérez, L.A., y Paredes-López, O. (1999). El almidón: lo comemos pero no lo conocemos. *Revista de la Academia Mexicana de Ciencias*. 50, 29-33.
- Berry, C. S. (1986). Resistant starch: Formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fiber. *Journal of Cereal Science*. 4, 301-314.
- Bertoft, E. (2004). Lintnerization of two amylose-free starches of A and B-crystalline types, respectively. *Starch/Stärke*, 56, 167–180.
- Bertoft, E., Koch, K., & Åman, P. (2012). Building block organization of clusters in amylopectin from different structural types. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50, 1212-1223.
- Biliaderis, C.G. (1991). The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 69, 60-78.
- Bjorck, I. (1996). Starch: Nutritional Aspects, Cap. 11. En: Carbohydrates in Food. Charlotte-Eliasson, A. Ed. University of Lund, Sweden. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Buleon, A., Colonna, P., Planchot, V. y Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International journal of biological macromolecules*. 23, 85-112.
- Bultosa, G. ; Hamaker, B. R. ; Bemiller, J. N. (2008) . An SEC-MALLS Study of molecular features of water-soluble amylopectin and amylose of tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter] starches. *Starch/Stärke*., 60, 8-22.
- Champ, M., Langkilde, A.M., Brouns, F., Kettlitz, B. y Bail-Collet, Y. L. (2003). Advances in dietary fibre characterization. 2. Consumption, chemistry, physiology and measurement of resistant starch; implications for health and food labeling. *Nutrition Research Reviews*, 16: 143-161.
- Chávez M. M., Hernández M., y Roldan J. A. (1992). Tablas de uso práctico del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. Comisión Nacional de Alimentación del Instituto Nacional de Nutrición.

- Chesson, A. (1995). Dietary Fiber. In: *Food Polysaccharides and their applications*. Macallister, A., Eds. Boerd, New York.; pp. 559-560.
- Colonna, P., Leloup, V. y Buléon, A. (1992). Limiting factors of starch hydrolysis. *European Journal of Clinical Nutrition* 46 (suppl. 2): S17-S32.
- Cummings, J. H. y MacFarlane, G. T. (1991). The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *Journal of Applied Microbiology*. 70, 443-459.
- Eerlingen, R. C. y Delcour, J. A. (1995). Formation, Analysis, Structure and Properties of Type III Enzyme Resistant Starch. *Journal of Cereal Science*. 21, 1-8.
- Eliassoon, A. C. 1996. Carbohydrates in Food. Marcel Dekker, New York.
- Englyst, H. N. y Cummings, J. H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46: S33-S50.
- Espinosa-Solis, V., Sanchez-Ambriz, S. L. Hamaker R. B. y Bello Pérez, L. A. (2011). *Fine structural characteristics related to digestion properties of acid-treated fruit starches*. *Starch/ Stärke*, , 63:11, 717-727.
- EURESTA. (1992). European flair action concerted on resistant starch. EURESTA Newsletter III: 7.
- Faisant, N, Gallant, D. J., Bouchet, B. y Champ. (1995). Banana starch breakdown in the human small intestine studied by electron microscopy. *Eur. Journal of Clinical Nutrition*. 49, 98-104.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), (2010). FAOSTAT statistics database.
- Flores-Gorosquieta, E. (2004). Obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de plátano empleando un reactor enzimático a nivel planta piloto. Tesis de Maestría. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del Instituto Politécnico Nacional. Yautepec, Morelos, México. pp. 34.

- French, D. (1984). Organization of starch granules. In: Starch: chemistry and technology, 2nd ed., Whistler, R.L., BeMiller, J.N., y paschal, E.F. (eds). Academic Press, Orlando, Fl. U.S.A.
- Gallant, D. J.; Bouchet, B., Baldwin, P.M. (1997). Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. *Carbohydrate Polymers*. 32, 177-191.
- Gao, J., Vasanthan, T., Hoover, R., y Li, J. (2012). Structural modification of waxy regular, and highamylose maize and hullless barley starches on partial acid hydrolysis and their impact on physicochemical properties and chemical modification. *Starch/Stärke*, 64, 313–325.
- Garcia-Alonso A., Martin-Carron N. y Goñi L. (1997). Funcionalidad de los almidones de la dieta. *Digestión y fermentación. Alimentaria*, 65-69.
- Gidley, M.J., y Bulpin, P.V. (1989). Aggregation of amylose in aqueous systems: the effect of chain length on the phase behavior and aggregation kinetics. *Macromolecules*, 22, 341–346.
- Goodhart, R.S. y Shils, M.E. (1980). *Modern nutrition in health and disease*, Lea and Febiger, Eds. Philadelphia.
- Guilbot, A., y Mercier, C. (1985). Starch. In: *The Polysaccharides*, (ed.) O. Aspinall. Academic Press, New York, pp: 209-282.
- Heller, R.S. (1998). Anatomía y fisiología de la digestión y absorción de carbohidratos. Desarrollo de la función de amilasas en el tubo digestivo. *Acta Pediátrica Mexicana*, 19(S), 12-15.
- Hizukuri, S. (1986). Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins, and its significance. *Carbohydrate Research*, 147: 342-347.
- Jacobs, H., Eerlingen, R. C., Rouseu, N., Colonna, P., Delcour, J. A. (1998). Avid hydrolysis of native and annealed wheat, potato and pea starches – DSC melting

- features and chain length distributions of lintnerised starches. *Carbohydrate research*. 308, 359–371.
- Jane, J. (2006). Current understanding on starch granule structures. *The Japanese Society of Applied Glycoscience*. 53, 205-213.
- Jane, J., Chen, Y. Y., Lee, L. F., McPherson, A. E., Wong, K. S., Radosavljevic, M., Kasemsuwan T. (1999). Effects of amylopectin branch length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. *Cereal Chemistry*. 76, 629- 637.
- Jayakody, L y Hoover, R. (2002). The effect of lintnerization on cereal starch granules, *Food Research Internacional*. 135, 665-680.
- Kozlov, S.S.; Kriviadin, A. V.; Shantalova, O.V.; Noda, T.; Bertoft, E.; Fornal, J.; Yuryev, V.P. (2007). Structure of starches extracted from near-isogenic wheat lines. Part II. Molecular organization of amylopectin clusters. *Journal of thermal Analysis and calorimetry*. 87,575-584.
- Kuakpetoon, D., y Y. Wang. (2008). Locations of hypochlorite oxidation in corn starches varying in amylose content. *Carbohydrate Research*, 343:90-100.
- Lajolo F.M y Wenzel M. E. (2006). Carbohidratos en alimentos regionales iberoamericanos. Editora da universidade, São Paulo, Brasil.
- Lehmann U. y Robin F. (2007). Slowly digestible starch-its structure and health implications: a review. *Food Science and Technology*. 1:346-355.
- Lehmann, U., Rossler, C., Schmedl, D., y Jacobasch, G. (2003). Production and physicochemical characterization of resistant starch type III derived from pea starch. *Nahrung/Food*. 47, 60-63.
- Lineback, D.R., y Rasper, V.F. (1988). Wheat Carbohydrates. In: *Wheat: Chemistry and Technology*, Vol. I, (ed.) Y. Pomeranz. Am. Assoc. Cereal Chemistry. Inc. St. Paul Minnesota, pp. 227-372.

- Ludwing, D.S. (2002). The glycemic index: physiological mechanism relating to obesity, diabetes and cardiovascular disease. *Journal of the american medical association*, 287, 2414- 2423.
- Matveev, Y. I.; Soest, J.J.G.;Nieman, C.; Wasserman, L.A.; Protserov, V.; Ezernitskaja, M.;Yuryev, V.P. (2001). The relationship between thermodynamic and structural propierties of low and high amylose maie starches. *Carbohydrate Polymers*. 44, 151-160.
- Millán-Testa, C. E., M. G. Méndez-Montevalvo, M. A. Otthenhof, I. A. Farhat, y L. A. Bello-Pérez. (2005). Determination of the molecular and structural characteristics of okenia, mango and banana starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 495-501.
- Moore, C.O., TuschHoff, J.V., Hastings, C.W. y Schanefelt, R.V. (1984). Applications of starches in foods. In *Starch: Chemistry and Technology*, ed. R.L. Whistler. Academic Press, Inc. New York, pp. 575-591.
- Morrison, W.R. Tester, R.F. Gidley, M.J. y Karkalas, J. (1993). Resistance to acid hydrolysis of lipid complexed amylose and lipidfree amylose in linterized waxy and non-waxy barley starch. *Carbohydrate research.*, 245 289-302.
- Oates, C. G. (1997). Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. *Trends in Food Science and Technology*. 81, 375-382.
- Paredes-López O., Bello-Pérez, L.A., y López, M.G. (1994). Amylopectin: structural, gelatinization and retrogradation studies. *Food Chemistry*. 50, 411-418.
- Raja, K. C. M. (1994). Modified properties of lintnerized cassava and maize starches. *Carbohydrate Research*. 24: 85-90.
- Rickard, J E., Asaoka, M., Blanshard, M. V. (1991). The Physicochemical Properties of Cassava Starch. *Tropical Science.*, 31, 189-207.

- Robin, J.P., Mercier, C., Charbonniere, R., y Guilbot, A. (1974). Ligninized starches. Gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. *Cereal Chemistry*. 51, 389-406.
- Sajilata, M.G., Singhal, R.S. y Kulkarni, P.R. (2006). Resistant starch- a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5:1-17.
- Sang-Ho, Y., y Jay-Lin, J. (2002). Structural and physical characteristics of waxy and other wheat starches. *Carbohydrate Polymers*. 49: 297-305.
- Sathe, S.K. y Salunkhe, D.K. (1981). "Isolation, partial characterization and modification of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris*) starch". *Journal of Food Science*. 46, 617-621.
- SE, 2012. Secretaría de Economía: Dirección general de industrias básicas.
- Sharma, A., Singh-Yadav, B. y Ritika. (2008). Resistant starch: Physiological roles and food applications. *Food Reviews International*, 24: 193-234.
- Shin, M., Byun, J., Park, H. K. y Moon, W. T. (2004). Effect of partial acid hydrolysis and heat-moisture treatment on formation of resistant starch. *Cereal Chemistry*. 81, 194-198.
- Shin, M., Woo, K. y Seib, P. (2003). Hot-water solubilities and water sorptions of resistant starches at 25 °C. *Cereal Chemistry*. 80, 564-566.
- Sievert, D., y Pomeranz, Y. (1989). Enzyme - resistant starch. I. Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical, and microscopic methods. *Cereal Chemistry*., 66, 342 - 347.
- Skude, G. y Ihse, I. (1976). Salivary amylase in duodenal aspirates. *Scand. J. Gastroenterol*. 11, 17.

- Srichuwong, S.; Jane, J. (2007). Physicochemical properties of starch affected by molecular composition and structures: a review. *Food Science and Biotechnology*, 16, 234-332.
- Tester, R. F., Debon, S. J. (2000). Annealing of starch: a review. En: *International Journal of Biological Macromolecules*. Vol. 27, pp 1-12.
- Tester, R. F.; Karkalas, J.; Qi, X. (2004). *Starch – Composition, Fine Structure And Architecture*. *Journal Of Cereal Science*. 39, 151-165.
- Thomas, D. J. y Atwell, W. A. (1999). *Starches: Practical Guides for the Food Industry*. Eagan Press handbook Series AACC. St. Paul, Minnesota, USA.
- Tobin, G., y Muller, H. G. (1988). *Nutrición y ciencia de los alimentos*. Primera Edición. Editorial Acibia, S. A. 171-173.
- Tovar, J. (1994). Natural and man-made resistant starch. *Agro Food Industry. Hi-Tech*. 5, 23-25.
- Tovar, J., Herrera, E., Laurentín, A., Melito, C., Pérez, E. (1999). In vitro digestibility of modified starches, in *Recent Research Advances in Agricultural and Food Chemistry* Vol. 3 (Ed. S. G. Pandalai) Research Signpost, Trivandrum, pp. 1– 10.
- Van Hung, P. (2005). Resistant starch: health aspect, production and prospect laboratories of Food Chemistry, Graduate School of Life and Environment Sciences, Osaka 599-8531.
- Velazquéz, O.C., Lederrer, H. M.; Rombean, J. L. (1996). Butyrate and the colonocyte. Implications for neoplasia. *Digestive Diseases and Sciences*. 41,727-39.
- Würsch, P. (1999). Production of resistant starch. In *Complex Carbohydrates in Foods*. eds. S. Sungsoo-Cho, L. Prosky y M. Dreher. Marcel Dekker Inc., New York. 385-394.

- Wikman, J., A Blennow, A., & Bertoft, E. (2012). Effect of amilosa depositions on potato tuber starch granule architecture and dynamics as studied by lintnerizations. *Biopolymers*, 99, 73-83.
- Yao, Y., Zhang, J., y Ding, X. (2002). Structure-retrogradation relationship of rice starch in purified starches and cooked rice grains: a statistical investigation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 7420-7425.
- Yuan, R.,C. Thompson, D.B. y Boyer, C.D. (1993). The fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from three wx-containing genotypes in two inbred lines. *Cereal Chemistry*. 70:81-89.
- Zamudio-Flores, P. B., Vargas-Torres, A., Gutiérrez-Meraz, F., & Bello-Pérez, L. A. (2010). *Physicochemical characterization of dually-modified banana starch*. *Agrociencia.*, 44: 283-295.
- Zhang, G., Venkatachalam, M., & Hamaker, B. (2006). Structural basis for the slow digestion property of native cereal starches. *Biomacromolecules*, 7, 3259–3266.
- Zhang, P., Whistler, R. L., BeMiller, J. N., Hamaker, B. R. (2005). Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility – a review. *Carbohydrate Polymers*. 59, 443-458.
- Zobel, H.F. (1988). Molecules to granules: a comprehensive starch review. *Starch/Starke*, 40, 44-50.