



**UNIVERSIDAD CENTRAL DE
VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA**

***Evaluación de las características físicas, químicas,
fisicoquímicas y funcionales de almidón de arroz
modificado a dos niveles de acetilación***

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Presentado ante la Ilustre Universidad Central de Venezuela, por la Bachiller Busnego Borges María Fernanda como requisito parcial para optar por el título de Licenciado en Biología.

Tutor: Prof.(a). Zurima González

CARACAS, VENEZUELA

Octubre – 2013

Dedicatoria:

*...No muestres a Dios lo grande de tus carencias...
Muéstrale a tus carencias lo grande que es Dios...*



... A mi Madre, Padre y Hermano...



*...Para los colegas investigadores que se están sumergiendo en el mundo del almidón:
"El grano de almidón ... abre la puerta a la creación de una nueva disciplina... los mecanismos
moleculares de los cuerpos organizados" (Nägeli, 1858)...Él sin duda, no sabía que más de
150 años después, todavía estamos tratando de entender la compleja arquitectura de los
gránulos de almidón... Todavía tenemos mucho que investigar sobre este Pequeño- Grande mundo
lleno de complejidad: el almidón.....*



Agradecimientos:

- ... Gracias Diosito mío por tu amor y misericordia, por darme aliento y esperanza...*
- ... Gracias Mami y Papi, por llevarme de la mano siempre, en las buenas y en las malas...
por tantos sacrificios a lo largo de esta carrera y en la vida...*
- ... En este año tan difícil después de tu partida querida Madre sé que El AMOR lo puede todo
y sé que Dios en su infinito amor aun nos une a los cuatro, nos fortalece y nos permite
compartir las alegrías y logros sin importar el tiempo y el espacio...*
- ... Gracias Hermanito por ser como eres...*
- ... A mis abuelitos...*
- ... Gracias Tía Petra por entenderme en estos momentos de alegría y tristeza confrontados, por
darme ánimo en seguir...*
- ... A Félix por estar pendiente de lo que me faltase...*
- ... A Fabiolita por comportarse conmigo como una hermana...*
- ... A mi Profe Zarima, por no solo ser mi tutora, si no también mi amiga...*
- ... A Unai, Anita y María Andreina por su apoyo...*



I. RESUMEN

El almidón es una materia prima de uso casi ilimitado en diversas industrias. Considerando su gran demanda, en este estudio se extrajo un almidón de alta pureza a partir de granos de arroz partidos, como una fuente alternativa de almidón.

Además, conociendo las ventajas de utilizar almidones modificados en la formulación de alimentos, el almidón de arroz extraído se modificó por acetilación a dos niveles de anhídrido acético (6 % y 8 %), según las normativas vigentes, para proporcionarle mayor valor agregado; se evaluó su efecto sobre las propiedades físicas, químicas, fisicoquímicas y reológicas de los almidones de arroz y la posibilidad de incorporar los almidones acetilados en la elaboración de un producto. El porcentaje de grupos acetilo y el grado de sustitución, incrementaron al aumentar el nivel de acetilación ($P < 0,05$). No se observaron diferencias en cuanto al tamaño, color, forma y composición química de los almidones. El poder de hinchamiento, la solubilidad y la absorción de agua fueron mayores en las muestras acetiladas ($P < 0,05$). Los almidones acetilados presentaron menor temperatura de empaste, mayor viscosidad máxima, menor “setback” y sinéresis, parámetros importantes para decidir su uso en formulaciones alimenticias.

En vista de lo anterior, se seleccionó el almidón acetilado al 6 % para elaborar minitartaletas con relleno de chocolate, las cuales fueron más preferidas ($P < 0,05$) que las minitartaletas elaboradas con el almidón nativo.

Palabras clave: Arroz partido, almidón, acetilación, anhídrido acético, minitartaletas.

ÍNDICE

Páginas

I. RESUMEN	IV
II. INTRODUCCIÓN	1
III. JUSTIFICACIÓN	3
IV. ANTECEDENTES	5
1. Reseña bibliográfica.....	5
1.1. Almidón.....	5
1.2. Componentes principales del almidón.....	7
1.2.1. Amilosa.....	7
1.2.2. Amilopectina.....	8
1.3. Niveles de organización del almidón.....	10
1.4. Propiedades del almidón.....	11
1.4.1. Cristalinidad.....	11
1.4.2. Birrefringencia.....	14
1.5. Cambios en el almidón por tratamiento hidrotérmico.....	16
1.5.1. Gelatinización y "pasting".....	16
1.5.2. Retrogradación.....	17
1.5.3. Sinéresis.....	18
1.6. Almidón de arroz.....	18
1.6.1. Características.....	18
1.7. Usos del almidón.....	20

1.8.	Almidones nativos vs almidones modificados.....	21
1.8.1.	Clases de modificaciones.....	21
1.8.1.1.	Almidones estabilizados.....	21
1.8.1.1.1.	Almidones acetilados.....	22
V.	HIPÓTESIS	33
VI.	OBJETIVOS	34
1.	Objetivo general.....	34
2.	Objetivos específicos.....	34
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	35
1.	Materiales.....	35
2.	Métodos.....	35
2.1.	Extracción del almidón de arroz.....	35
2.2.	Evaluación del almidón extraído de arroz.....	37
2.2.1.	Análisis químicos.....	37
2.2.1.1.	Humedad.....	37
2.2.1.2.	Cenizas.....	37
2.2.1.3.	Proteína.....	37
2.2.1.4.	Grasa.....	40
2.2.1.5.	pH y acidez.....	41
2.2.2.	Pureza del almidón.....	42
2.2.3.	Análisis físicos.....	42
2.2.3.1.	Color.....	42
2.2.3.2.	Microscopia electrónica de barrido.....	42
2.2.4.	Análisis fisicoquímicos.....	43
2.2.4.1.	Absorción de agua, solubilidad y poder de hinchamiento.....	43

2.2.5. Análisis reológicos.....	45
2.2.5.1. Perfil amilográfico.....	45
2.2.5.2. Viscosidad aparente.....	45
2.2.6. Sinéresis de los geles de almidón de arroz.....	46
2.3. Modificación por acetilación del almidón de arroz.....	47
2.3.1. Acetilación con anhídrido acético.....	47
2.3.2. Porcentaje de grupos acetilo y grado de sustitución.....	47
2.4. Evaluación de los almidones acetilados.....	49
2.5. Elaboración de las minitartaletas y evaluación de su preferencia.....	49
2.5.1. Elaboración de las minitartaletas.....	49
2.5.2. Evaluación de la preferencia de las minitartaletas.....	52
3. Análisis estadístico de los resultados.....	53
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
1. Análisis químicos.....	54
1.1. Composición química y pureza de los almidones de arroz.....	54
1.2. pH y acidez.....	58
1.3. Porcentaje de grupos acetilo y grado de sustitución de los almidones acetilados.....	61
2. Análisis físicos.....	64
2.1. Color	65
2.2. Microscopía electrónica de barrido.....	68
3. Análisis fisicoquímicos.....	72
3.1. Absorción de agua, solubilidad y poder de hinchamiento.....	72
4. Análisis reológicos.....	77
4.1. Perfil amilográfico.....	77

A. Temperatura de "gelatinización" (empaste).....	79
B. Viscosidad máxima.....	82
C. Viscosidad a 95°C.....	85
D. Viscosidad a 95°C por 5 minutos.....	86
E. Viscosidad a 50°C.....	88
F. Viscosidad a 50°C por 1 minuto.....	91
G. "Breakdown"	92
H. "Setback"	94
4.2. Viscosidad aparente.....	96
5. Sinéresis.....	99
6. Evaluación de la preferencia de las minitartaletas.....	103
IX. CONCLUSIONES.....	108
X. RECOMENDACIONES.....	110
XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111
XII. ANEXOS.....	i
Anexo 1. Cálculo de la cantidad de anhídrido acético utilizada para modificar el almidón de arroz.....	i
Anexo 2. Tabla del número mínimo de respuestas concordantes necesarias para establecer significancia a varios niveles de probabilidad para la prueba de comparación pareada por preferencia.....	ii
Anexo 3. Amilogramas de los almidones de arroz.....	iii

ÍNDICE DE FIGURAS

Páginas

FIGURA 1. Morfología de almidones de distintas especies botánicas.....	6
FIGURA 2. Estructura de la amilosa.....	7
FIGURA 3. Estructura de la amilopectina.....	8
FIGURA 4. Comparación entre las moléculas de amilosa y amilopectina.....	9
FIGURA 5. Niveles de organización del almidón.....	10
FIGURA 6. Modelo de "cluster" de la amilopectina y el arreglo posible entre la amilosa y la amilopectina.....	10
FIGURA 7A. Estructura de la superhélice.....	11
FIGURA 7B. Superficie del gránulo de almidón con poros y canales y un detalle de los "blocklets".....	11
FIGURA 8. Patrones de difracción de rayos X.....	12
FIGURA 9. Zonas amorfas y zonas cristalinas del gránulo de almidón.....	14
FIGURA 10. Cruz de malta de un almidón observado bajo luz polarizada.....	15
FIGURA 11. Micrografías de almidón de arroz nativo.....	18
FIGURA 12. Reacción de acetilación con anhídrido acético de una unidad de anhidroglucosa.....	23
FIGURA 13. Arroz partido utilizado para la extracción del almidón.....	35
FIGURA 14. Proceso de extracción del almidón de arroz.....	36
FIGURA 15. Digestión de las muestras de almidón.....	38

FIGURA 16. Etapa de destilación en la determinación de proteína del almidón de arroz.....	39
FIGURA 17. Extracción de grasa del almidón de arroz utilizando solventes orgánicos.....	41
FIGURA 18. Equipo para la determinación de la absorción de agua, solubilidad y poder de hinchamiento del almidón de arroz.....	45
FIGURA 19. Agujas de corte y viscosímetro Brookfield.....	46
FIGURA 20. Tonalidades obtenidas por las muestras en la determinación del grado de acetilación.....	49
FIGURA 21. Elaboración de la minitartaleta.....	51
FIGURA 22. Planilla utilizada en la evaluación de la preferencia de las minitartaletas elaboradas.....	52
FIGURA 23. Micrografías de los almidones de arroz.....	69
FIGURA 24. Absorción de agua, solubilidad y poder de hinchamiento de los almidones de arroz.....	73
FIGURA 25. Viscosidad aparente de los almidones de arroz.....	97
FIGURA 26. Fotografías de los geles de almidón a 60 horas de almacenamiento a 5°C.....	101
FIGURA 27. Minitartaletas de almidón acetilado (6 % de anhídrido acético) y almidón nativo de arroz.....	106

ÍNDICE DE TABLAS

Páginas

TABLA 1. Contenido de humedad, cenizas, proteína, grasa y pureza de los almidones de arroz.....	55
TABLA 2. pH y acidez de los almidones de arroz.....	59
TABLA 3. Porcentaje de grupos acetilo y grado de sustitución de los almidones de arroz.....	61
TABLA 4. Parámetros de color de los almidones de arroz.....	66
TABLA 5. Parámetros del perfil amilográfico de los almidones de arroz	78

II. INTRODUCCIÓN

El almidón es el polisacárido de reserva energética de las plantas (Cubero y col., 2002) y constituye la principal fuente de energía para el hombre.

Se ha empleado en la industria de alimentos por sus propiedades funcionales, ya que contribuye, en gran parte, a la textura de muchos alimentos, actúa como agente espesante, gelificante, enlazante de agua o grasa, controla e influye sobre ciertas características, tales como, consistencia, apariencia y estabilidad durante el almacenamiento, además de desempeñar un papel importante en la aceptabilidad y palatabilidad de numerosos productos alimenticios (Rincón y col., 2007).

Asimismo, el almidón, al ser un polímero natural, presenta ventajas sobre algunos otros materiales empleados en la industria, ya que proviene de reservas naturales; es renovable, biodegradable, abundante y su procesamiento es de bajo costo (Xie y col., 2006). Por estas razones, el almidón se ha utilizado como materia prima, aditivo o, en algunos casos, como sustituto de materiales derivados del petróleo (Bratskaya y col., 2006).

Los distintos almidones poseen un espectro amplio de características que los hacen adecuados para diversos usos; sin embargo, en cuanto a la comercialización del almidón, hay que tener presente dos grandes enfoques:

Primero: durante los últimos años, la producción mundial del almidón a partir de fuentes convencionales (maíz, trigo y papa) no es suficiente para satisfacer las demandas por parte de las diferentes industrias que lo emplean como materia prima; es por ello que en la actualidad se están evaluando fuentes alternativas para la obtención de almidón.

Segundo: los almidones nativos no satisfacen la totalidad de las propiedades funcionales requeridas por las diversas industrias, por lo que se debe recurrir a una serie de procedimientos o técnicas químicas, enzimáticas, físicas y/o genéticas para modificar sus características y así diversificar sus aplicaciones (Armada y col., 1994).

Con el objetivo de responder ambos enfoques, en este estudio se extrajo almidón de arroz partido como una materia prima alternativa para la industria nacional y, además de ello, se le proporcionó un valor agregado mediante la modificación por acetilación con anhídrido acético, con el propósito principal de disminuir la tendencia a retrogradar que presenta este almidón, el cual podría incorporarse, una vez modificado, en productos donde se requieran propiedades funcionales específicas.

III. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, existe una demanda creciente del almidón impulsada por el aumento de la producción en las distintas industrias que lo requieren por sus innumerables propiedades. Es prioritario entonces, la búsqueda de fuentes alternativas del mismo para satisfacer dicha demanda. Por ello, se consideró en este estudio la extracción de almidón a partir de un subproducto de la obtención del arroz de mesa, como lo son los granos partidos.

Sabiendo que no solo en Venezuela, sino a nivel mundial, el arroz de grano entero se destina exclusivamente para consumo directo, no sería rentable extraer almidón del grano entero, puesto que éste constituye parte del aporte calórico principal y diario de muchas poblaciones. Por ello, sería interesante utilizar el grano partido para la extracción de almidón y de esta forma responder a la demanda de nuevas fuentes de obtención. Al lograr esto, se estaría aprovechando de manera integral un rubro de importancia estratégica, como lo es el arroz en muchos países y, entre ellos, Venezuela y, en lo particular, se estaría obteniendo una materia prima versátil como el almidón.

Conociendo también que los almidones nativos no responden en su totalidad a las propiedades requeridas a nivel industrial para la diversidad de productos que actualmente se producen, es necesario darle mayor valor agregado, lo que es indispensable para competir con otras materias primas. En vista de lo anterior, en esta investigación se modificó químicamente el almidón de arroz mediante acetilación, para usarlo en el desarrollo de un producto, en este caso como parte del relleno de una minitartaleta. La acetilación se realizó a dos niveles, 6 % y 8 % de anhídrido acético, con el fin de evaluar el efecto de la concentración del reactivo sobre las propiedades físicas, químicas, fisicoquímicas

y funcionales y en muestras de este almidón pertenecientes a dos lotes industriales distintos para verificar la reproducibilidad de los resultados.

IV. ANTECEDENTES

1. Reseña bibliográfica

1.1. Almidón

El almidón es el polisacárido de reserva energética de las plantas. Su estructura es la de un homopolisacárido de moléculas de D-anhidroglucosa unidas mediante enlaces α (1,4) y α (1,6). Está compuesto de dos polímeros: amilosa y amilopectina. De acuerdo a su proporción y a la fuente de obtención del almidón, éste presenta características y propiedades diferentes (Cubero y col., 2002).

El almidón es el único polisacárido que se presenta como partículas complejas discretas llamadas gránulos (Whistler y BeMiller, 1999). Estos gránulos son relativamente densos e insolubles en agua fría y su hidratación es casi nula (Singh y col., 2003). Los almidones nativos pueden distinguirse de acuerdo al tamaño de sus gránulos, especie vegetal y porcentaje de regiones amorfas y cristalinas (Ratnayake y Jackson, 2006); su aplicación tecnológica está relacionada directamente con estas características, las cuales se considerarán más adelante.

En la Figura 1 se muestra esquemáticamente, a modo de ejemplo, la morfología de los gránulos de almidón de trigo, maíz, papa y cúrcuma, la cual se tomó de un estudio realizado con un microscopio de luz polarizada (Greenish, 2006); la morfología de los gránulos de almidón de guisante y semillas de fruto de pan, obtenida con un microscopio electrónico de barrido, se tomó de los trabajos de Hoover y Zhou (2003) y Rincón y col. (2007), respectivamente. Se aprecian las diferencias existentes entre almidones de distintas especies botánicas, evidenciando que la morfología del gránulo de almidón constituye

muchas veces el factor de identificación de la fuente de origen y que, además, proporciona un indicio de su complejidad.

El almidón de trigo presenta gránulos de distintos tamaños, algunos de forma lenticular y otros alargados y el "hilum" es central. El almidón de maíz, en cambio, tiene gránulos con tamaños más uniformes, que pueden ser poligonales o redondeados. El almidón de papa presenta forma ovoide aplanada y un "hilum" que está adyacente al extremo estrecho del gránulo, mientras que el extremo ancho presenta un contorno sinuoso; además tiene anillos concéntricos bien pronunciados. El almidón de cúrcuma es de forma oval alargada, el "hilum" está situado en una proyección desde el extremo estrecho del grano y es excéntrico. El almidón de guisante presenta una depresión central que se irradia dando la apariencia de un trébol. El almidón de semillas de fruto de pan es ovalado, de superficie lisa y con extremo truncado.

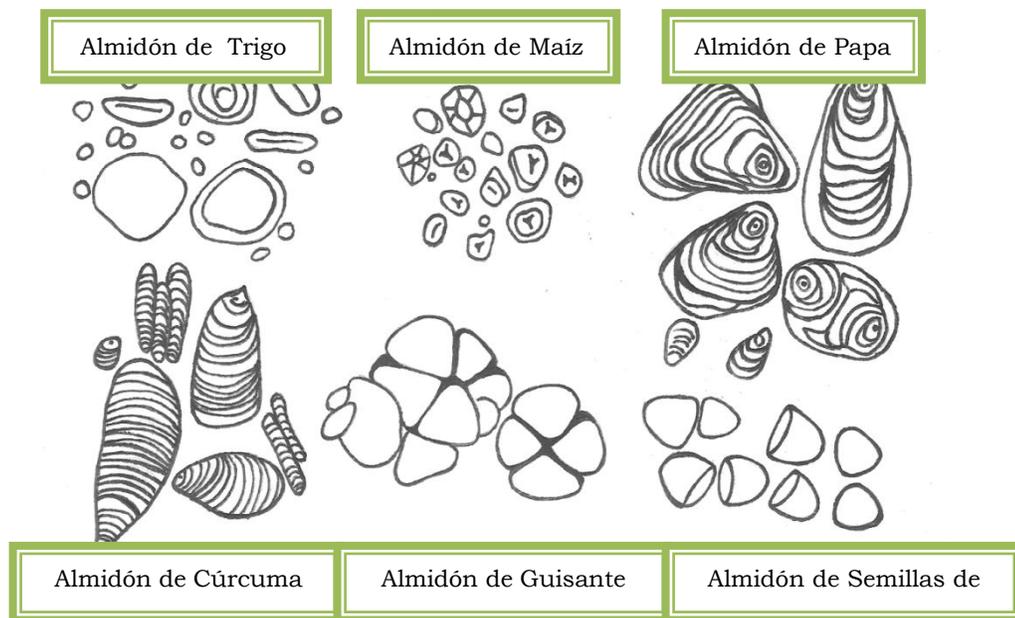


FIGURA 1. Morfología de almidones de distintas especies botánicas (Esquema basado en resultados obtenidos por Hoover y Zhou, 2003; y Rincón y col., 2007).

1.2. Componentes principales del almidón

1.2.1. Amilosa

La amilosa es un polímero esencialmente lineal que presenta uniones α (1,4) entre las moléculas de glucosa (Bennington, 2000). Su grado de polimerización (100-10.000) influye en el comportamiento del almidón (Cubero y col., 2002). Asimismo, tiene una disposición espacial helicoidal, lo que determina que se coloree de azul intenso en contacto con yodo y que se establezcan uniones a través de puentes de hidrógeno, que pueden debilitarse y romperse fácilmente por acción de la temperatura. Esto provoca una mayor movilidad y reordenación de esta molécula durante el enfriamiento, fenómeno que se conoce con el nombre de retrogradación, el cual se considerará más adelante.

En la Figura 2 se muestra la estructura de la amilosa.

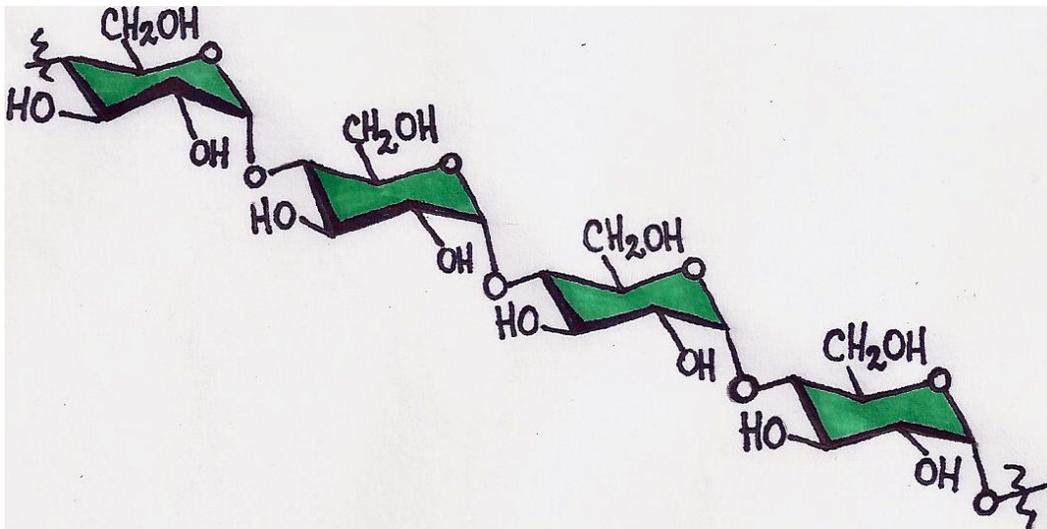


FIGURA 2. Estructura de la amilosa.

1.2.2. Amilopectina

La amilopectina es una molécula polimérica ramificada que contiene, tanto uniones glucosídicas α (1,4), como uniones glucosídicas α (1,6). Se colorea de rojo a violeta si es tratada con yodo (Bennington, 2000). Su molécula presenta un grado de polimerización mayor que la amilosa. También tiene ramificaciones, lo que dificulta su movilidad y reorientación, hecho que conlleva a la disminución de su tendencia a retrogradar y, por ende, a la formación de dispersiones más estables una vez enfriadas (Cubero y col., 2002).

En la Figura 3 se presenta la estructura de la amilopectina.

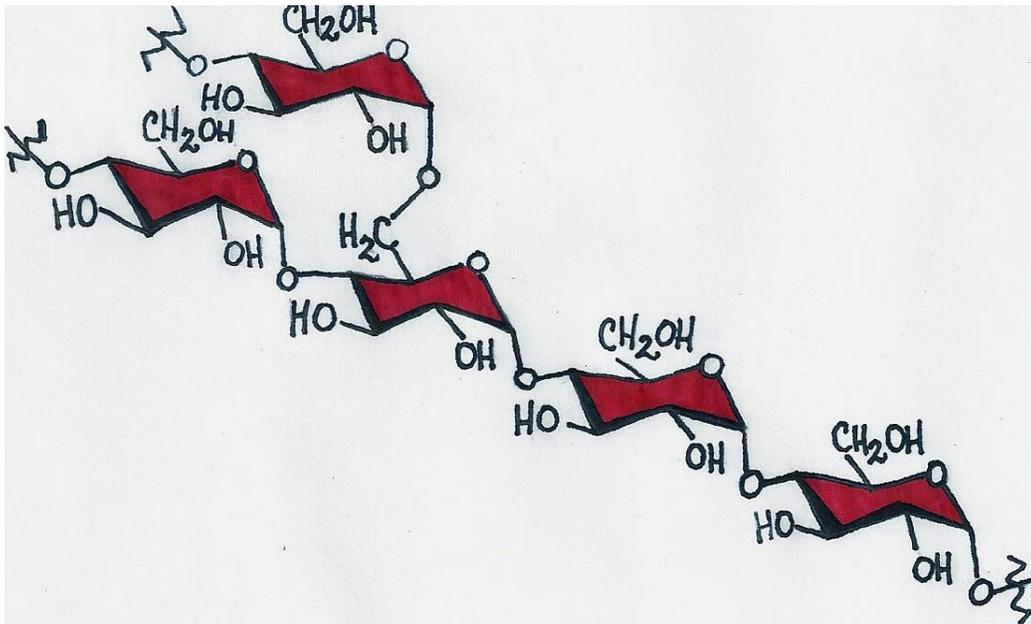


FIGURA 3. Estructura de la amilopectina.

En la Figura 4 se muestran comparativamente las moléculas de amilosa y amilopectina; se observa que la primera es un polímero lineal, con estructura más flexible y helicoidal, mientras que la segunda es ramificada, tal y como se indicó anteriormente.

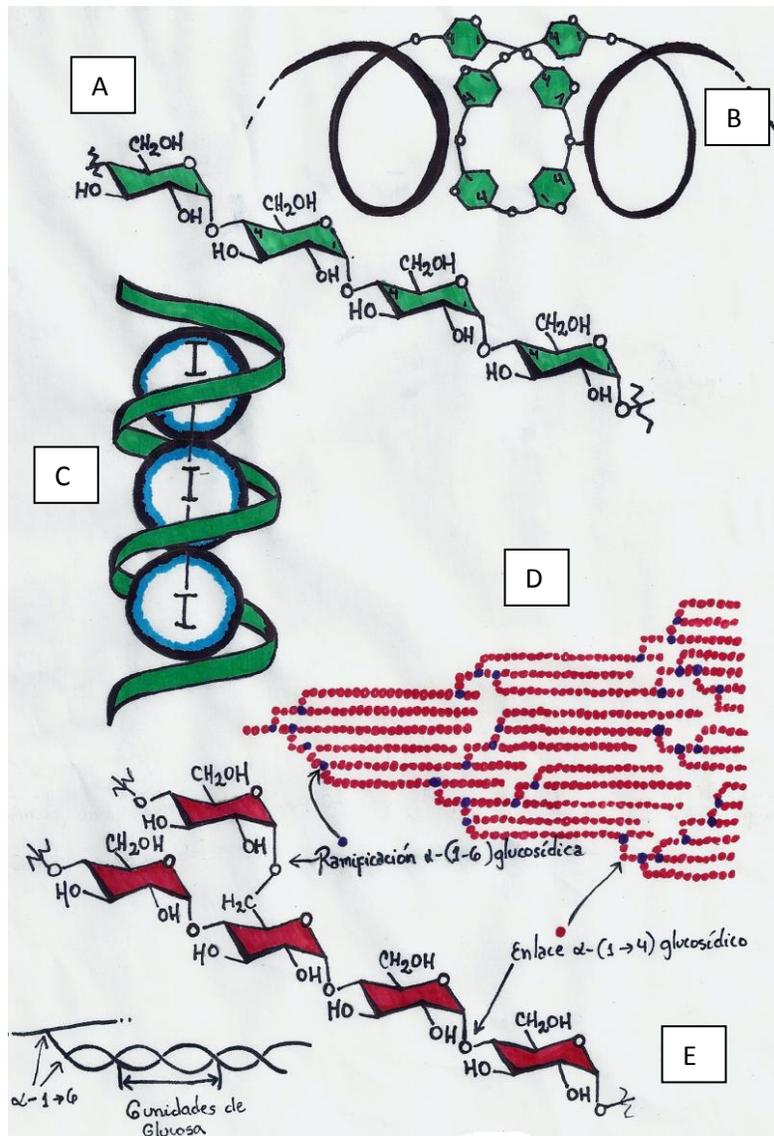


FIGURA 4. Comparación entre las moléculas de amilosa y amilopectina. A: Molécula de amilosa, B: Estructura helicoidal de la amilosa, C: Complejo iodo-amilosa, D: Estructura ramificada de la amilopectina [Puntos rojos: enlaces α -(1-4) glucosídicos; Puntos azules: ramificaciones α -(1-6) glucosídicas], E: Molécula de amilopectina (Modificado de Pérez y Bertoft, 2010).

1.3. Niveles de organización del almidón

En la Figura 5 se muestra la categorización, en forma esquemática, de los 6 niveles de organización del almidón.

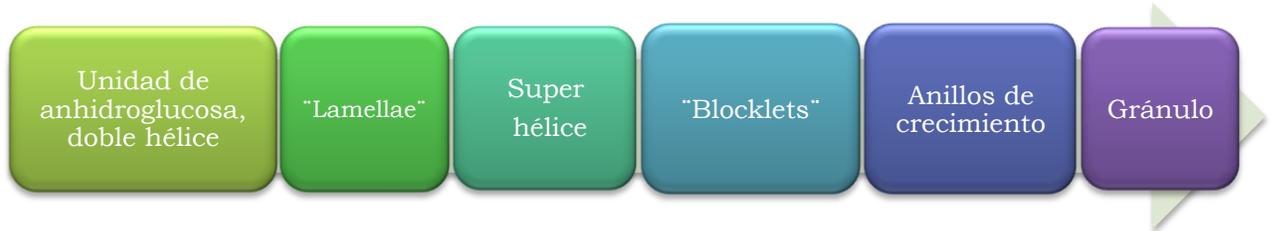


FIGURA 5. Niveles de organización del almidón.

A nivel molecular, el almidón está constituido por dos polímeros: amilosa y amilopectina y ambos tienen unidades de anhidroglucosa (secciones 1.2.1 y 1.2.2). Los resultados de los estudios de difracción de rayos X y los estudios bioquímicos de la molécula de amilopectina muestran que la misma se organiza en grupos cristalinos de doble hélice, denominados laminillas o "lamellae" [Lamella-ae (Lat.) Laminilla- las laminillas] (Pérez y Bertoft, 2010).

En la Figura 6 se presenta el modelo "cluster" de la amilopectina (las laminillas se indican con flechas rojas) y una sección ampliada, la cual revela el arreglo posible entre la amilosa y la amilopectina, mostrando la estructura de doble hélice ya indicada para esta última.

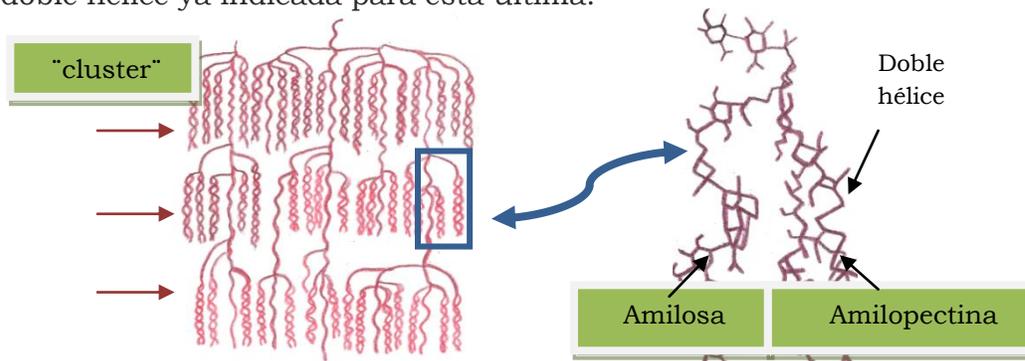


FIGURA 6. Modelo "cluster" de la amilopectina y el arreglo posible entre la amilosa y la amilopectina (Modificado de Pérez y Bertoft, 2010).

Estudios adicionales de difracción de rayos X muestran que las laminillas o “lamellae” de dobles hélices se organizan, a su vez, probablemente en una superestructura helicoidal o superhélice (Fig. 7A).

Otro estudio reciente, utilizando microscopía de fuerza atómica para evaluar la superficie del gránulo de almidón, mostró la presencia de “blocklets” dentro de sus anillos de crecimiento. Estos “blocklets” son más o menos esféricos, con un tamaño de 20-100 nm. Por otra parte, todavía no está claro cómo las súper hélices, los “blocklets” y los anillos de crecimiento se relacionan entre sí (Pérez y Bertoft, 2010). La Figura 7B muestra esquemáticamente los “blocklets” y la superficie de los gránulos de almidón con sus poros y canales.

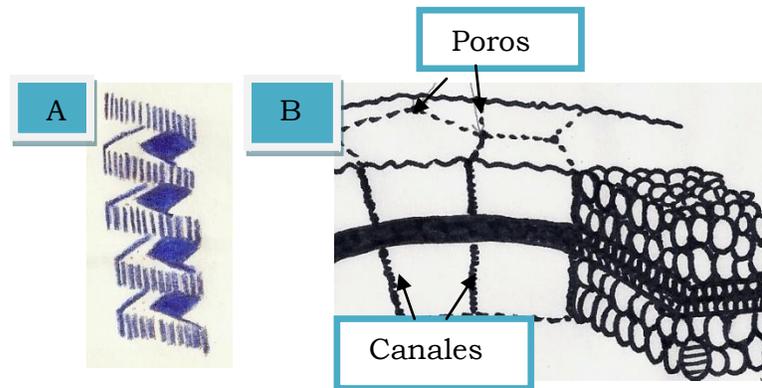


FIGURA 7. A: Estructura de la superhélice y B: Superficie del gránulo de almidón con poros y canales y un detalle de los “blocklets” (Modificado de Pérez y Bertoft, 2010).

1.4. Propiedades del almidón

1.4.1. Cristalinidad

Se han realizado estudios diversos analizando la estructura cristalina del gránulo de almidón a través de la difracción de rayos X (Mua y Jackson, 1997).

Los almidones de cereales presentan un patrón de difracción tipo A, los almidones de tubérculos, un patrón tipo B y los almidones de ciertas raíces y semillas muestran un patrón tipo C, que es una mezcla intermedia de los patrones tipo A y B. Otro tipo de patrón es el V, que es característico del complejo de inclusión que se forma en el interior de la hélice de la amilosa (Rodríguez y González, 2001).

En la Figura 8 se observan los difractogramas de los almidones de diferentes fuentes botánicas, así como el patrón de difracción tipo V.

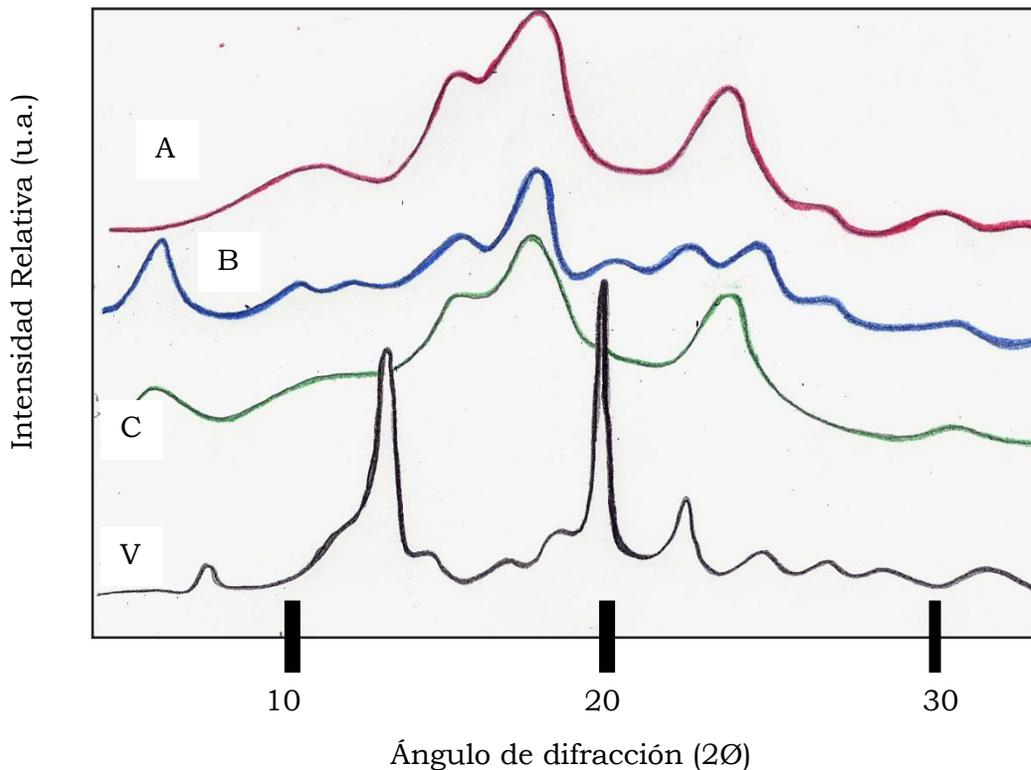


FIGURA 8. Patrones de difracción de rayos X de diversas fuentes amiláceas. A: Cereales, B: Tubérculos, C: Raíces y semillas, V: Patrón que resulta de la formación de un complejo de inclusión o clatrato en el interior de la hélice de la amilosa (Rodríguez y González, 2001).

El análisis de difracción de rayos X muestra que el gránulo de almidón está formado por regiones amorfas y cristalinas. Las zonas amorfas del gránulo del almidón están constituidas, esencialmente, por amilosa, mientras que la región cristalina está conformada por cadenas cortas (50- 60 Å) en la amilopectina, la cual, asimismo, presenta regiones amorfas y regiones altamente cristalinas (Rodríguez y González, 2001).

Por esta razón, se dice que el almidón es un material semicristalino, cuya cristalinidad se encuentra entre el 25 – 31 %, dependiendo de la especie vegetal. La amilopectina es el principal componente responsable de la cristalinidad del gránulo de almidón, tal y como se indicó anteriormente, la cual es producto de la longitud y el ordenamiento de sus cadenas ramificadas, sin embargo, también depende del porcentaje de amilosa (Ratnayake y Jackson, 2006).

La alternancia de zonas ramificadas amorfas con zonas lineales cristalinas confiere al gránulo de almidón un aspecto de anillos concéntricos cuando se observa mediante microscopía electrónica.

En la Figura 9 se observa esquemáticamente la disposición de las zonas amorfas y cristalinas en el gránulo de almidón, como se explicó anteriormente. Además se muestra, con fines didácticos, un ejemplo de un sólido cristalino, para resaltar el hecho que la configuración ordenada de las moléculas en el espacio puede generar estructuras cristalinas, tal y como ocurre internamente en el gránulo de almidón.

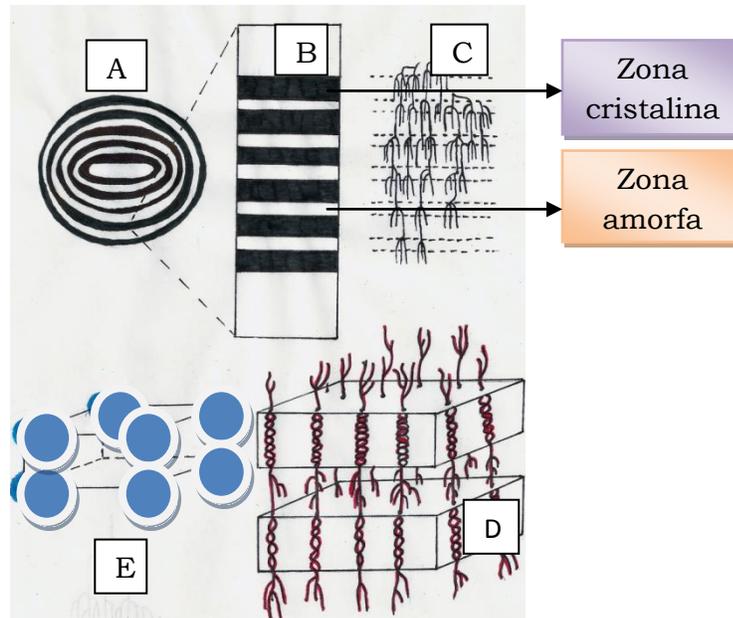


FIGURA 9. Zonas amorfas y zonas cristalinas del gránulo de almidón. A: Alternancia de zonas amorfas y cristalinas (anillos concéntricos); B: Sección ampliada de la alternancia de zonas amorfas y cristalinas; C: Zonas ramificadas amorfas y zonas cristalinas lineales; D: Representación didáctica de la cristalinidad del almidón; E: Representación didáctica de un sólido cristalino (Modificado de Jacobs y Delcour, 1998).

1.4.2. Birrefringencia

La birrefringencia o doble refracción es una propiedad de ciertos materiales de convertir un rayo de luz incidente en dos rayos linealmente polarizados de manera perpendicular entre sí, como si el material tuviera dos índices de refracción distintos. Uno de los rayos sigue las leyes de la refracción y se conoce como rayo ordinario; el otro rayo tiene una velocidad y un índice de refracción variables y es el rayo extraordinario. Este fenómeno sólo puede ocurrir si la estructura del material es anisótropa, es decir, si es un material cuyas propiedades físicas, como elasticidad, temperatura, conductividad, velocidad de

propagación de la luz, etc., varían según la dirección en que se determinan (Thomas y Atwell, 1999).

La birrefringencia se estima por la relación:

$$\Delta n = n_e - n_o$$

Donde n_o y n_e son los índices de refracción para las polarizaciones perpendicular (rayo ordinario) y paralela (rayo extraordinario) al eje de anisotropía, respectivamente.

Cuando los gránulos de almidón se analizan bajo un microscopio de luz polarizada, puede observarse una sombra en forma de cruz llamada "cruz de malta". El "hilum", que es el punto original de crecimiento del gránulo de almidón, está en el centro de dicha cruz. A este fenómeno se le denomina birrefringencia, como ya se señaló, y es un indicador del grado de orden de los gránulos de almidón (Thomas y Atwell, 1999). Al medir la disminución de la birrefringencia de los gránulos es posible establecer, de manera indirecta, el intervalo de temperatura de gelatinización del almidón.

En la Figura 10 se observa la "cruz de malta" característica de un almidón bajo luz polarizada.

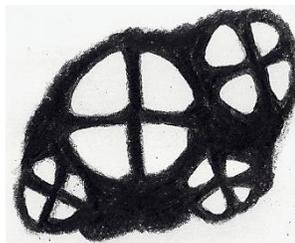


FIGURA 10. Cruz de malta de un almidón observado bajo luz polarizada.

1.5. Cambios en el almidón por tratamiento hidrotérmico

Cuando el almidón se encuentra en medio acuoso y es calentado y enfriado posteriormente, se producen distintos cambios en su estructura y propiedades, los cuales se consideran a continuación.

1.5.1. Gelatinización y "pasting"

Según Atwell y col. (1988), en su artículo clásico concerniente a los términos asociados a los fenómenos básicos del almidón, la gelatinización es la destrucción (colapso) del orden molecular dentro del gránulo de almidón, la cual se manifiesta en cambios irreversibles en sus propiedades, tales como, hinchamiento granular, fusión de los cristalinos nativos, pérdida de la birrefringencia y solubilización del polisacárido. La temperatura donde se inicia este proceso (gelatinización) y el intervalo en el que ocurre están determinados por la concentración del almidón, el método de observación, el tipo de gránulo y por la heterogeneidad dentro de la población de gránulos bajo estudio.

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, sin embargo, cuando la suspensión se calienta (50-70°C), comienza un proceso lento de absorción de agua en las zonas amorfas, que son las menos organizadas y las más accesibles, ya que los puentes de hidrógeno no son tan numerosos, ni rígidos como en las áreas cristalinas. En una primera fase, el agua que se difunde por las zonas amorfas del gránulo de almidón produce un primer hinchamiento que es reversible. En esta etapa, los gránulos conservan sus propiedades ópticas, incluyendo la capacidad de refractar la luz polarizada (birrefringencia), la cual está asociada a la alineación de las moléculas dentro del gránulo. Si el calentamiento continúa, se produce una disminución de los puentes de hidrógeno en el interior de los gránulos y, por ello, absorben agua lentamente y se hinchan,

aumentando su volumen. Este proceso es irreversible y ocurre después que se alcanza una temperatura crítica, definida como temperatura de gelatinización (intervalo), la cual es característica de cada almidón, y depende de la concentración de la suspensión, entre otros factores (Aristizábal y Sánchez, 2007).

Una vez que las zonas amorfas se han hidratado completamente, las zonas cristalinas inician un proceso semejante, requiriendo para ello una mayor cantidad de energía (Singh y col., 2007).

“Pasting” es el fenómeno subsiguiente a la gelatinización. Durante este proceso continúa el hinchamiento granular, la exudación de componentes moleculares (amilosa) y, eventualmente, una destrucción total de la estructura granular.

1.5.2. Retrogradación

Cuando la suspensión de almidón calentada se enfría o almacena a bajas temperaturas, las moléculas de amilosa tienden a asociarse, a través de la formación de puentes de hidrógeno, con otras moléculas de amilosa adyacentes, originándose una estructura ordenada. En sus fases iniciales, dos o más cadenas de amilosa pueden formar una unión simple, que puede originar zonas con un mayor grado de ordenamiento.

El grado de retrogradación está determinado por la concentración de amilosa y amilopectina, el tamaño y la dispersión molecular, la temperatura, el pH y la presencia de otros componentes (Singh y col., 2007). Se puede tener una estimación de dicho fenómeno mediante los parámetros de “setback” y “breakdown” en el análisis amilográfico.

1.5.3. Sinéresis

Durante el almacenamiento de los geles de almidón a temperaturas bajas, ocurre la agregación y recristalización molecular, lo que conlleva a un aumento gradual de la rigidez y la separación de fases del gel, generando el fenómeno de sinéresis, que consiste en la exudación de agua del mismo (Whistler y BeMiller, 1999); este fenómeno se acentúa con el tiempo de almacenamiento y se favorece con tratamientos extremos, como la congelación- descongelación del gel.

1.6. Almidón de arroz

1.6.1. Características

El almidón de arroz presenta gránulos poliédricos con aproximadamente 6 μm de diámetro y en los de mayor tamaño se observa el "hillum". Este almidón presenta más de un "hillum", por ello se considera que sus gránulos son compuestos (2 a 150 gránulos); en un almidón comercial no es común observar estos gránulos, debido a su rompimiento durante el proceso de extracción (Salama, 2005).

En la Figura 11 se observan dos micrografías de almidón nativo de arroz, donde se puede apreciar la forma poliédrica y el tamaño pequeño de sus gránulos.

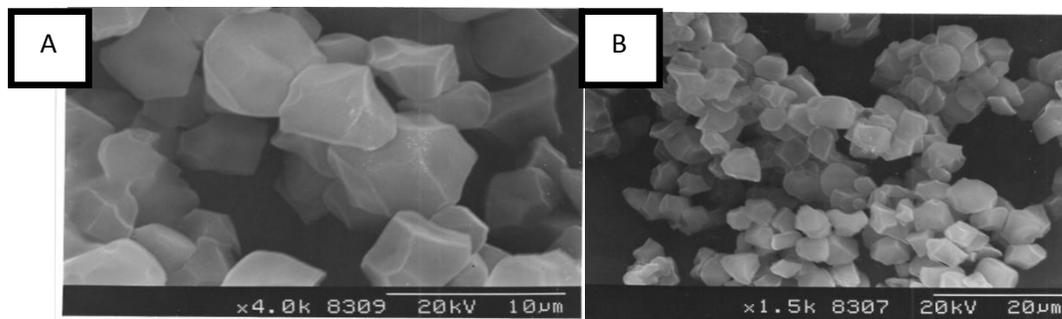


FIGURA 11. Micrografías de almidón de arroz nativo. A) Aumento: 4.000x, marcador: 10 μm y B) Aumento: 1.500x, marcador: 20 μm .

El contenido de amilosa puede variar desde 0%, en almidones de arroz ceroso, hasta 35 % en almidones provenientes de cultivares de arroz grano largo; se ha determinado que este contenido afecta considerablemente casi todas las propiedades funcionales del almidón de arroz, debido a su efecto sobre la gelatinización, “pasting”, retrogradación, sinéresis, etc. (Wani y col., 2012 a).

Los componentes minoritarios del almidón, los cuales se encuentran sobre o en el interior de sus gránulos, son lípidos y proteínas. Los almidones de arroz no ceroso (12,2 a 28,6 % de amilosa) contienen entre 0,9 a 1,3 % de lípidos, de los cuales, entre el 29 y 45 % son ácidos grasos y el 48 % son fosfolípidos. Además de estos dos componentes, el fósforo también desempeña una función importante en las propiedades funcionales del almidón de arroz y está presente en dos formas, como ésteres de monofosfato y fosfolípidos (Wani y col., 2012 a).

Además, el almidón de arroz presenta componentes minerales como calcio, potasio, magnesio y sodio (Salama, 2005).

Este almidón tiene diversas aplicaciones en la industria de alimentos y otras industrias (como gelificante, espesante, formador de películas, encapsulador de sabores, excipiente en productos farmacéuticos, etc.) y debido a su tamaño pequeño, se utiliza como reemplazante de grasas.

El almidón de arroz tiene una digestibilidad lenta en el tracto intestinal y, por tanto, proporciona una respuesta glucémica (efecto sobre los niveles de glucosa en la sangre que presentan los alimentos) reducida después de su ingestión. Esto puede deberse a la propia estructura de la amilosa presente o tal vez al complejo que forma la amilosa con algunas estructuras lipídicas, a pesar que estas últimas no están presentes en grandes cantidades en el arroz blanco (0,90 g por 100 g de porción comestible). Por consiguiente, el almidón de arroz

podría considerarse como un ingrediente idóneo para la elaboración de alimentos nutracéuticos, dependiendo de la variedad de la cual proceda (Bello, 2000). Si bien los almidones de arroz tienen una amplia versatilidad de uso, es importante señalar que presentan una alta retrogradación y sinéresis, entre otras características.

1.7. Usos del almidón

El almidón es una materia prima para la industria alimentaria, textil, farmacéutica, del papel, entre otras (Barrera y col., 2004). La producción de almidón se destina, aproximadamente, 75 % al sector industrial y 25 % al área de alimentos. La industria del papel y cartón utilizan cerca del 80 % del almidón suministrado al sector industrial, seguida de la industria textil, de adhesivos y otras industrias.

Según Aristizábal y Sánchez (2007), el almidón puede usarse en la industria de alimentos como:

- A. Agente para el moldeado de caramelos de frutas, rodajas de naranja y gomas de mascar.
- B. Agente para impartir textura y estabilidad a caramelos.
- C. Agente para espolvorear, combinado con azúcar pulverizada, en gomas, caramelos y gomas de mascar.
- D. Protector anti-humedad de diversos productos en polvo, como azúcares, ya que los almidones absorben humedad sin apelmazarse.
- E. Espesante para sopas, alimentos para niños, salsas.
- F. Agente coloidal, porque imparte textura y apariencia.
- G. Aglutinante y emulsificante para la unión de componentes.
- H. Estabilizante, por su elevada capacidad de retención de agua.

I. Para reducir el contenido de proteínas y la fuerza del gluten en harinas de trigo.

1.8. Almidones nativos vs. almidones modificados

Los gránulos del almidón nativo de algunas fuentes botánicas se hinchan rápidamente y tienden a romperse, perdiendo viscosidad y originando pastas muy fibrosas y cohesivas (Cubero y col., 2002); sus geles no poseen estabilidad durante el almacenamiento en frío y presentan sinéresis en los ciclos de congelación-descongelación. Para ampliar el uso de los mismos almidones, la industria recurre a diversos métodos para modificar las características o propiedades funcionales que determinan su aplicación, como son su transparencia o claridad, poder espesante, resistencia a medios ácidos, cocción prolongada, temperaturas elevadas (esterilización), fuerzas de corte y agitación y estabilidad a bajas temperaturas (Armada y col., 1994).

1.8. 1. Clases de modificaciones

Las modificaciones de los almidones pueden ser químicas, físicas, enzimáticas y genéticas. Entre las modificaciones químicas se pueden mencionar (Wurzburg, 1995): conversión (conversión ácida, oxidación, piroconversión), entrecruzamiento (ejemplos de productos obtenidos: dialmidón adipato y fosfato de dialmidón) y estabilización (ejemplos de productos obtenidos: acetato de almidón, fosfato de monoalmidón, almidón octenil succinato de sodio y almidón hidroxipropilado).

1.8.1.1. Almidones estabilizados

Los almidones estabilizados son aquellos cuyos grupos -OH se sustituyen por grupos éter (hidroxietilos, hidroxipropilos) o éster (acetatos, fosfatos). El grado de sustitución varía con la naturaleza del almidón, en función de la proporción

de moléculas de amilosa y amilopectina que posea (Bello, 2000). Los grupos -OH del almidón pueden esterificarse con diversos compuestos orgánicos e inorgánicos, obteniéndose varios ésteres de almidón, entre los que destacan los fosfatos y los acetatos (o acetilados) de almidón.

La introducción de un grupo éster en el polisacárido constituye un hecho importante, debido a que permite modificar la naturaleza hidrofílica y obtener cambios significativos en las propiedades mecánicas, térmicas y reológicas del almidón.

1.8.1.1.1. Almidones acetilados

El almidón acetilado es un éster de almidón con grupos CH_3CO introducidos a temperatura ambiente. La acetilación es un método importante de sustitución que le imparte al almidón propiedades de estabilidad y resistencia a la retrogradación, las cuales se requieren en algunos productos alimenticios como tartaletas de frutas, salsas, aderezos para ensaladas y pasteles rellenos (Singh y col., 2003).

En la Figura 12 se muestra la reacción de acetilación con anhídrido acético, en presencia de hidróxido de sodio como catalizador.

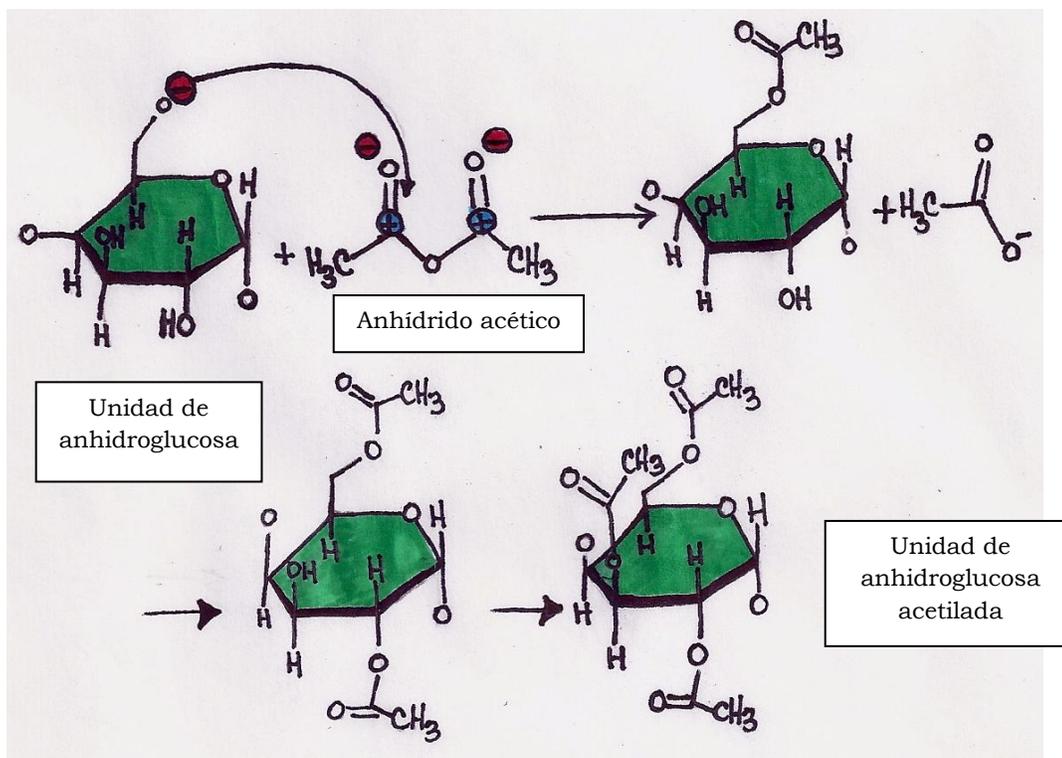


FIGURA 12. Reacción de acetilación con anhídrido acético de una unidad de anhidroglucosa.

Los grupos -OH libres de la molécula de glucosa tienen reactividad diferente; el -OH en el C_6 es el más reactivo en solución y es acetilado más rápidamente que los grupos -OH de los C_2 y C_3 (Singh y col., 2007), pero en forma granular, el -OH del C_2 es el más reactivo. De los grupos -OH secundarios, el grupo -OH en el C_2 es más reactivo que el -OH del C_3 (Xu y col., 2004), pero Heins y col. (1998) demostraron, mediante resonancia magnética nuclear, que al realizar el análisis de los almidones ya acetilados, la posición que se encontró mayormente acetilada fue la del C_3 .

Como en cualquier reacción química, el número de grupos aceto que se incorporan a la molécula de almidón durante la acetilación, así como la velocidad y la eficiencia de la reacción, dependen de la concentración y el tipo de reactivo, el

pH, la presencia del catalizador, la concentración de la suspensión de almidón, la temperatura, el tiempo de reacción, el origen botánico del almidón, sus características estructurales y del tamaño de sus gránulos (Huang y col., 2007).

En la reacción de acetilación puede ocurrir:

(1) El proceso de acetilación como tal; la muestra de almidón es acetilada con un volumen conocido de anhídrido acético y en presencia de hidróxido de sodio al 3 %. Como resultado de la reacción, se produce almidón acetilado, acetato de sodio y agua (Kruger y Rutenberg, 1967).

(2) La hidrólisis del anhídrido acético con formación de acetato de sodio, que puede producirse si las condiciones no son favorables, como, por ejemplo, una temperatura de reacción superior a la temperatura ambiente, lo que ocasionaría que el almidón resultante presente un menor contenido de grupos acetilo (Kruger y Rutenberg, 1967).

(3) La hidrólisis del almidón acetilado que se produce cuando las condiciones de reacción no son óptimas, como ocurre cuando el tiempo de reacción es muy prolongado o si la temperatura es alta (Kruger y Rutenberg, 1967).

La introducción de grupos acetilo en el almidón interfiere en el proceso de asociación de sus moléculas constituyentes, con lo cual se retarda o minimiza la retrogradación de las pastas obtenidas. Los almidones acetilados presentan pastas más claras y estables al almacenamiento a bajas temperaturas (Armada y col., 1994), poseen una alta resistencia a la aparición del fenómeno de la sinéresis y son particularmente aptos para preparar productos alimenticios destinados a ser ultracongelados (Bello, 2000), los cuales son aquellos que se han sometido a un proceso de congelación rápida.

Los usos potenciales de los almidones acetilados están relacionados con el grado de esterificación o sustitución del polímero. El grado de sustitución indica el promedio del número de sustituciones por unidad de anhidroglucosa en el almidón. El máximo grado de sustitución (GS) que puede obtenerse es 3, debido a que existen tres grupos hidroxilo libres, por unidad de anhidroglucosa, susceptibles de acetilarse (Miladinov y Hanna, 2000), tal y como se indicó con anterioridad.

La FDA establece un máximo de 2,5 % de grupos acetilo (porcentaje p/p con base al peso seco de almidón) en almidones acetilados destinados al consumo humano.

A continuación, se presenta una selección de algunos de los artículos más recientes y relevantes relacionados con la acetilación de almidones de diferentes fuentes botánicas.

González y Pérez (2002) evaluaron el efecto de la acetilación sobre algunas propiedades de un almidón de arroz comercial, el cual se acetiló con 6,3 % de anhídrido acético, en base al peso seco del almidón. El almidón acetilado presentó un menor contenido de humedad, cenizas, proteína cruda, amilosa aparente y pH que el almidón nativo. El porcentaje de grupos acetilo fue 0,67 % y el grado de sustitución 0,03. Estos grupos acetilo provocaron un aumento de la absorción de agua, el poder de hinchamiento, la solubilidad y la viscosidad a 90°C y una disminución de la temperatura de empaste y la viscosidad a 50°C. La morfología del almidón acetilado resultó afectada ligeramente, comparada con la del almidón nativo.

Adebowale y Lawal (2003) extrajeron el almidón de *Mucuna pruriens* (leguminosa) y modificaron el mismo por acetilación con anhídrido acético (10,2

%) para evaluar sus propiedades funcionales y su tendencia a retrogradar, en comparación al almidón nativo. Según sus resultados, la acetilación incrementó el poder de hinchamiento, la solubilidad, la viscosidad máxima, la viscosidad a 95°C y la viscosidad después de 30 min a 95°C, mientras que disminuyó la temperatura de empaste, el “breakdown”, las viscosidades a 50°C y después de 30 min a 50°C y el “setback”. De acuerdo a los autores, el almidón acetilado de mucuna puede usarse en productos donde se requiera alta viscosidad y buena estabilidad.

Requena (2003) estudió el efecto del grado de acetilación sobre las propiedades fisicoquímicas y reológicas del almidón de arroz (*Oryza sativa* L.). La autora evaluó diferentes concentraciones de anhídrido acético: 3,15 %; 6,30 %; 8,19 % p/p, en base al peso seco del almidón. La acetilación ocasionó cambios en sus propiedades físicas, fisicoquímicas y reológicas, las cuales estuvieron determinadas por el grado de sustitución alcanzado. Se produjo una disminución del contenido de humedad, pH y la temperatura de empaste, así como un incremento de la acidez, la absorción de agua, el poder de hinchamiento, la solubilidad, el asentamiento y la consistencia del gel como consecuencia de la modificación. Asimismo, se observó que al aumentar la concentración de anhídrido acético, incrementó el grado de sustitución y el porcentaje de grupos acetilo de los almidones modificados. Se encontró que el almidón acetilado con 8,19 % p/p de anhídrido acético presentó las características y el comportamiento funcional más idóneo para la elaboración de un relleno para tartaleta.

Singh y col. (2004 a) estudiaron la influencia del anhídrido acético a diferentes concentraciones (desde 2 a 12 g/100 g almidón) sobre las propiedades fisicoquímicas, morfológicas y térmicas de almidones de maíz y papa. El almidón

de maíz presentó un menor porcentaje de grupos acetilo y grado de sustitución que el almidón de papa, bajo condiciones experimentales similares. Los almidones acetilados mostraron un mayor poder de hinchamiento, solubilidad y transmitancia que los almidones nativos; los valores de estos índices incrementaron con el aumento de la concentración de anhídrido acético. La sinéresis, tanto de los almidones acetilados, como de los almidones nativos, fue aumentando durante el almacenamiento a 4°C, pero este incremento fue menos pronunciado en los almidones modificados.

Adebowale y col. (2005) acetilaron el almidón del fruto de pan (*Artocarpus artilis*) con anhídrido acético (10 %) para evaluar su efecto en las propiedades fisicoquímicas de este almidón. Según sus resultados, la acetilación incrementó el poder de hinchamiento y redujo la temperatura de empaste, la viscosidad máxima, a 95°C y 50°C. Además, la acetilación disminuyó el "setback" y, por ende, la tendencia a la retrogradación.

Anchundia (2005) modificó almidón de batata con anhídrido acético y evaluó sus propiedades físicas, químicas y reológicas. Además, formuló y elaboró un producto tipo pudín utilizando el almidón acetilado. Los parámetros absorción de agua, poder de hinchamiento y solubilidad del almidón acetilado fueron mayores que los del almidón nativo a todas las temperaturas estudiadas. Se encontró una disminución de la temperatura de "gelatinización" (empaste) y la estabilidad, y un incremento de la viscosidad máxima y el asentamiento. El producto (pudín) elaborado con este almidón acetilado no presentó sinéresis.

Paredes (2005) extrajo almidón de arroz y lo modificó por acetilación y deshidratación por doble tambor. La autora elaboró un yogurt firme con fruta y observó que las distintas modificaciones alteraron, especialmente, las

características reológicas del almidón, notándose en el almidón acetilado cierta tendencia a retrogradar, aunque en la prueba de sinéresis no se observó exudación de agua en sus geles.

Saartrat y col. (2005) extrajeron el almidón de cultivares de *Canna edulis* (sagú) y lo modificaron por acetilación (5 %, 7 % y 9 % p/p de anhídrido acético) con la finalidad de reducir la retrogradación e incrementar la estabilidad del gel. Se encontró que el grado de la acetilación incrementó proporcionalmente con la concentración de anhídrido acético utilizada. Los gránulos de almidón conservaron su morfología luego de dicha modificación, de acuerdo a las observaciones realizadas con el microscopio electrónico de barrido. La acetilación disminuyó la temperatura de empaste, la viscosidad en caliente (92,5°C), así como el "setback" y, con ello, la retrogradación. Los geles de los almidones acetilados fueron más suaves y mostraron un menor desarrollo de sinéresis que los geles de los almidones nativos.

Singh y Singh (2005) evaluaron las propiedades fisicoquímicas de varios almidones acetilados (6 % de anhídrido acético) de cultivares de arroz de India, los cuales mostraron diferencias en su comportamiento, dependiendo del grado de sustitución. El microscopio electrónico de barrido no permitió evidenciar ninguna diferencia significativa en la morfología de los almidones nativos y acetilados. Además, los autores reportaron que la acetilación causó un debilitamiento de los geles de almidón, así como una disminución de la tendencia a retrogradar y la entalpía de gelatinización y un incremento del poder de hinchamiento, la solubilidad y la viscosidad máxima de los almidones de arroz modificados. Los geles de los almidones acetilados almacenados a 4°C presentaron una reducción significativa de la sinéresis.

Adebowale y col. (2006) determinaron el efecto de la acetilación en las propiedades del almidón de canavalia (*Canavalia gladiata*). La acetilación (10,2 % de anhídrido acético) causó la ruptura de menos del 10 % de los gránulos de almidón, incrementó la capacidad de absorción de agua, el poder de hinchamiento y la viscosidad máxima; la entalpía de gelatinización fueron menores después de dicha modificación.

Rincón y col. (2007) evaluaron el efecto de dos métodos de modificación química (acetilación y oxidación) sobre algunas propiedades del almidón de las semillas del fruto de pan (*Artocarpus altilis*) y concluyeron que ambas modificaciones produjeron cambios de diferente intensidad en las características químicas, físicas y funcionales de este almidón, aunque no alteraron la morfología de sus gránulos. La acetilación redujo la temperatura de empaste y la viscosidad de la pasta en caliente, mientras que aumentaron los valores de viscosidad máxima, absorción de agua, poder de hinchamiento, sólidos solubles, viscosidad en frío y estabilidad. El almidón acetilado presentó el valor más bajo de asentamiento. Los autores sugieren la utilización de este almidón en sistemas alimenticios que requieran una rápida viscosidad, así como en productos que conlleven procesos de refrigeración, debido a su baja tendencia a la retrogradación.

Mirmoghtadaie y col. (2009) acetilaron almidón de avena con dos niveles de anhídrido acético (6 % y 8 % p/p). Las muestras modificadas presentaron un aumento del poder de hinchamiento y una reducción de la temperatura de gelatinización y la sinéresis. Además, no hubo modificación de la morfología granular de estos almidones. Teniendo en cuenta estas características del almidón acetilado, los autores propusieron utilizarlo en distintos productos

alimenticios, como productos horneados, rellenos de pasteles, salsas, sopas, alimentos congelados, alimentos infantiles, "snacks" y aderezos para ensaladas.

Bello-Pérez y col. (2010) obtuvieron almidones acetilados de cebada con dos niveles de sustitución (bajo grado: 0,9 y alto grado: 2,7) y encontraron que la morfología y las características de gelatinización (temperatura de gelatinización y entalpía de gelatinización) y retrogradación (entalpía de retrogradación) prácticamente no se afectaron en el almidón con bajo grado de sustitución, si bien estas características disminuyeron en la muestra con alto grado de sustitución.

López y col. (2010) evaluaron las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón de maíz modificado por diferentes métodos: acetilación, acetilación-entrecruzamiento, entrecruzamiento-hidroxipropilación y modificación ácida. Los autores observaron un aumento significativo en el poder de hinchamiento a 90°C de los almidones substituidos y doblemente modificados; adicionalmente, estos tratamientos disminuyeron el grado de cristalinidad, la temperatura y la entalpía de gelatinización. Los almidones nativos desarrollaron geles con estructuras más rígidas durante el almacenamiento. Además, la retrogradación de los almidones substituidos disminuyó después de 12 días a 4°C, ya que el grado de sinéresis y la firmeza de sus geles fue significativamente menor que los observados en los geles del almidón nativo. La forma y la distribución de los gránulos de almidón no resultaron afectadas por las modificaciones químicas consideradas en este estudio.

Han y col. (2012) acetilaron almidón de maíz con anhídrido acético en medio acuoso con hidróxido de sodio e investigaron los factores que pueden afectar el grado de sustitución y la eficiencia de la reacción, con el objetivo de optimizar las

condiciones de acetilación. Asimismo, evaluaron el efecto de esta modificación sobre la composición química y las propiedades funcionales de este almidón. Los resultados sugirieron que el almidón acetilado presenta mejores propiedades funcionales que el almidón nativo y puede usarse en aplicaciones especiales en la industria de alimentos. Además se observó que al aumentar el grado de sustitución incrementó el poder de hinchamiento, la absorción de agua, la solubilidad y la claridad de la pasta, la estabilidad a la congelación-descongelación y la viscosidad del almidón de maíz, mientras que disminuyó su tendencia a retrogradar.

Mbougoung y col. (2012) extrajeron almidón de yuca (*Manihot esculenta*) y papa (*Solanum tuberosum*) y los modificaron por acetilación (6 % de anhídrido acético), con la finalidad de evaluar la influencia de dicha modificación sobre las propiedades fisicoquímicas, funcionales y térmicas de estos almidones. La capacidad de absorción de agua, la solubilidad y las regiones cristalinas incrementaron en las muestras acetiladas, donde disminuyó la temperatura de gelatinización, el pH y la entalpía de gelatinización.

Osundahunsi y Mueller (2011) estudiaron las propiedades funcionales y reológicas de almidones acetilados de dos cultivares de yuca con diferentes grados de sustitución. Los niveles de anhídrido acético empleados fueron 1,5 %, 3,5 %, 4 % y 7 %. La modificación incrementó la solubilidad en agua y el poder de hinchamiento; las propiedades reológicas y térmicas variaron de acuerdo al cultivar estudiado, observándose una reducción de la entalpía de gelatinización.

Simsek y col. (2012) estudiaron el efecto de la acetilación (10,2 % de anhídrido acético en base al peso de almidón) sobre las propiedades funcionales de almidón de caraota, encontrando que esta modificación produjo un incremento

en la capacidad de retención de agua, el contenido de almidón resistente y una reducción de la sinéresis y el índice glucémico.

Wani y col. (2012 b) estudiaron las propiedades fisicoquímicas y funcionales de almidón de caraota modificado a dos niveles de acetilación (0,04 y 0,08 g de anhídrido acético por gramo de almidón, en base seca). Se encontró que el grado de acetilación incrementó proporcionalmente con la concentración de anhídrido acético utilizada. Los autores concluyeron que esta modificación produjo la reducción de la temperatura de empaste y que la retrogradación de las pastas y geles fue menor a los observados en el almidón nativo. A simple vista fue posible apreciar la mayor transparencia de las pastas y geles de las muestras acetiladas.

De los estudios anteriores se podría inferir, en términos generales, que la acetilación:

- A) Incrementa el poder de hinchamiento
- B) Aumenta la solubilidad
- C) Incrementa la viscosidad máxima
- D) Disminuye la retrogradación y la temperatura de “gelatinización” (empaste)
- E) Disminuye la sinéresis y la entalpía de gelatinización de los almidones.

V. HIPÓTESIS

Se planteó como hipótesis en este estudio, con base a los antecedentes antes mencionados, que la acetilación con anhídrido acético del almidón de arroz partido modificaría las propiedades físicas, químicas, fisicoquímicas y funcionales del mismo. Dichos cambios dependerían de la concentración de anhídrido acético utilizada y serían reproducibles para cada lote modificado en condiciones idénticas.

VI. OBJETIVOS

1. Objetivo general

- Evaluar las características físicas, químicas, fisicoquímicas y funcionales de almidón de arroz partido modificado a dos niveles de acetilación.

2. Objetivos específicos

- Extraer el almidón de arroz y evaluar sus propiedades físicas, químicas, fisicoquímicas y funcionales.
- Modificar el almidón de arroz a dos niveles de acetilación (6 % y 8 %) y evaluar la reproducibilidad de esta modificación en dos lotes diferentes.
- Evaluar el grado de modificación de los almidones acetilados.
- Evaluar las propiedades físicas, químicas, fisicoquímicas y funcionales de los almidones acetilados.
- Elaborar un relleno para minitartaletas con los almidones obtenidos y evaluar su preferencia a través de un estudio de consumidores.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materiales

Para la extracción del almidón, se utilizaron granos de arroz partido (ver Figura 13) adquiridos en el mercado local, procedentes de dos lotes industriales distintos. Según la norma COVENIN 1641: 1999, Arroz blanco de grano largo, el grano partido se define como aquel cuyo tamaño es menor que las $\frac{3}{4}$ de la longitud media del grano entero.



FIGURA 13. Arroz partido utilizado para la extracción del almidón.

2. Métodos

2.1. Extracción del almidón de arroz

El método de extracción del almidón de arroz se basó en los procedimientos propuestos por Patindol y col. (2005) y Taborda (2005) y el mismo se describe a continuación: El arroz partido se remojó en agua destilada durante 24 horas; luego se homogenizó y pasó por una tela fina de muselina. La lechada obtenida se transfirió a recipientes adecuados y se procedió a centrifugar por 15 min a 2.000 rpm. Se descartó el sobrenadante y el sedimento se colocó en bandejas para su secado en un deshidratador por convección a 45°C durante 24 horas. En el momento de la recuperación del sedimento (almidón), se verificó que no presentara una capa superficial oscura; en caso tal, se retiró dicha capa con una

espátula. El almidón obtenido se molió en un procesador de alimentos y se procedió a tamizar con un tamiz de malla 60 (60 mesh) (Ver en la Figura 14 el procedimiento antes descrito).



FIGURA 14. Proceso de extracción del almidón de arroz.

2.2. Evaluación del almidón extraído de arroz

2.2.1. Análisis químicos

Al almidón extraído de arroz de los 2 lotes se le realizaron las siguientes determinaciones químicas:

2.2.1.1. Humedad (método N° 44-15.02, AACC, 2004)

Fundamento: La determinación de humedad se basó en la reducción de peso que experimenta un alimento cuando se elimina el agua que contiene por calentamiento, bajo condiciones controladas de presión, temperatura y tiempo (Sierra y col., 2007).

Fórmula:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{(\text{Peso cápsula y muestra A})(g) - (\text{Peso cápsula y muestra B})(g)}{\text{Peso muestra (g)}} \times 100$$

Donde: A significa antes del calentamiento y B después del calentamiento.

2.2.1.2. Cenizas (método N° 08-01.01, AACC, 2004)

Fundamento: La cenizas constituyen el residuo obtenido después de la incineración de la materia orgánica de la muestra hasta que queda libre de carbón y representa el contenido de material mineral presente en la misma. La incineración se llevó a cabo a una temperatura comprendida entre 500-600°C, de acuerdo al tipo de producto que se evaluó (Caravaca y col., 2003).

Fórmula:

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{\text{Peso de crisol y cenizas (g)} - \text{Peso de crisol vacío(g)}}{\text{Peso muestra (g)}} \times 100$$

2.2.1.3. Proteína (método N° 46-13.01, AACC, 2004)

Fundamento: Este método se basó en la destrucción de la materia orgánica de la muestra por calentamiento con ácido sulfúrico concentrado, en presencia de sulfato de potasio (eleva el punto de ebullición del ácido sulfúrico para disminuir

el tiempo de reacción) y de sulfato cúprico que actuó como catalizador (Etapa de digestión). El nitrógeno presente se destiló como amoníaco, liberándose del sulfato de amonio con una solución concentrada de hidróxido de sodio 50 % P/V (Etapa de destilación). El amoníaco se recogió en una solución de ácido bórico al 4 % y el borato de amonio formado se tituló con una solución valorada de ácido clorhídrico 0,1 N (Etapa de titulación), utilizando la mezcla rojo de metilo – verde de bromocresol como indicador.

Procedimiento:

1. Digestión:

Se pesaron 0,7 g de muestra sobre un trozo de papel de filtro sin cenizas y se introdujo en el tubo de digestión. Se añadieron 15 g de sulfato de potasio, 0,5 g de sulfato cúprico anhidro y 10 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se ajustó dicho tubo al equipo de digestión (Büchi digestion unit K-424; Fig. 15) y se calentó hasta que la solución se tornó transparente.



FIGURA 15. Digestión de las muestras de almidón.

2. Destilación:

Se dejó enfriar el tubo de digestión y se añadieron, cuidadosamente, 250 mL de agua y se mezcló bien. Luego se adicionaron 30 mL de hidróxido de sodio al 50 % P/V por las paredes del tubo para liberar el ion amonio presente,

formándose 2 capas de líquido (como control visual del proceso se debe observar esta bicapa (azul y blanca) y en ningún momento se debe visualizar un color marrón o negro; Fig. 16A). El destilado (100 mL) se recogió en 50 mL de solución de ácido bórico 4 % P/V , en una fiola de capacidad 500 mL con 3 gotas de la mezcla indicadora rojo de metilo- verde de bromocresol.

En la Figura 16B se observa el equipo de destilación Büchi Distillation Unit K- 314, utilizado en esta etapa y el viraje de color de rojo a verde al destilarse el amoníaco (Fig. 16C).

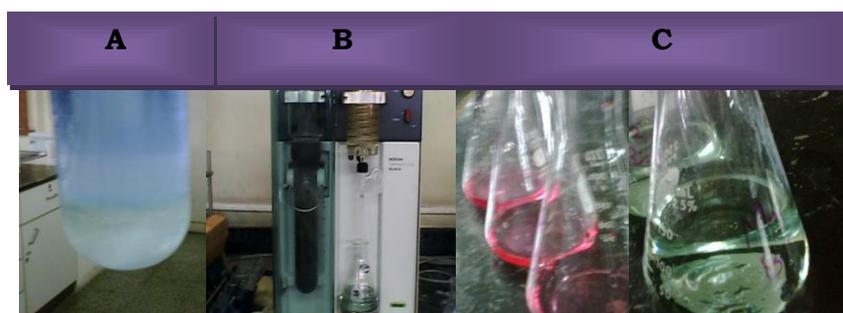


FIGURA 16. Etapa de destilación en la determinación de proteína del almidón de arroz. A) bicapa, B) equipo de destilación y C) viraje de color.

3. Titulación:

El destilado recogido en la fiola con la solución de ácido bórico al 4 % P/V se tituló con una solución de ácido clorhídrico 0,1 N hasta obtener un color gris.

Fórmulas:

$$\text{Nitrógeno (\%)} = \frac{\text{Volumen gastado (mL)} \times N \left(\frac{\text{meq}}{\text{mL}}\right) \times 0,014007\left(\frac{\text{g}}{\text{meq}}\right)}{\text{Peso muestra (g)}} \times 100$$

$$\text{Proteína cruda (\%)} = \text{Nitrógeno (\%)} \times 5,95$$

Donde: N es la normalidad del ácido clorhídrico (0,1 N) y 5,95 es el factor de conversión para arroz.

2.2.1.4. Grasa

Fundamento: Todos los almidones de cereales contienen cantidades pequeñas de sustancias grasas. Así, la proporción de glicéridos es usualmente inferior al 0,1 % y los mismos pueden removerse por extracción con solventes hidrofóbicos, tales como, éter, hexano o tetracloruro de carbono. Muchos almidones también poseen un contenido de ácidos grasos libres que oscila entre 0,5 % y 0,6 %, los cuales forman complejos con el componente lineal (amilosa) del almidón nativo. La extracción de estos ácidos grasos puede realizarse en caliente con solventes hidrofílicos como metanol, etanol, p-dioxano al 80 % y 2-metoxietanol (Fig. 17).

Este método se basa en la recuperación de las sustancias grasas mediante una extracción con solventes posterior a la hidrólisis del almidón (Schoch, 1964).

Método: Se pesaron 5 g de almidón en un beaker de 100 mL, añadiéndole 5 mL de etanol al 95 % V/V y 15 mL de ácido clorhídrico 8 N. Esta mezcla se mantuvo en un baño de agua entre 70°C y 80°C durante 1 hora con agitación ocasional para hidrolizar el almidón. Luego se dejó enfriar al añadir 5 mL de etanol al 95 % V/V . Posteriormente, se transfirió cuantitativamente el contenido del beaker a un embudo de separación. El mismo se enjuagó con 3 porciones de 7 mL de éter dietílico cada uno, las cuales se colocaron en el embudo (tapando y agitando vigorosamente y abriendo la llave para liberar la presión interna). A continuación, se añadieron 20 mL de éter de petróleo, se agitó y mantuvo en posición vertical hasta que la capa superior estuvo prácticamente transparente, para luego retirar la fase etérea y filtrar a través de lana de vidrio;

el filtrado se recolectó en un beaker de 150 mL. La extracción del líquido remanente en el embudo de separación se repitió dos veces, una con 20 mL de éter etílico y la otra con 20 mL de éter de petróleo y se recogió nuevamente en el beaker la capa etérea filtrada, repitiendo el proceso una vez más. Se lavó el embudo y la lana de vidrio con unos pocos mililitros de una mezcla a partes iguales de ambos éteres, recogiendo el líquido en el beaker; su contenido fue evaporado lentamente en un baño de vapor en una campana y luego el beaker se colocó en una estufa a 100°C durante 30 min.



FIGURA 17. Extracción de grasa del almidón de arroz utilizando solventes orgánicos.

Fórmula:

$$\text{Porcentaje de grasa} = \frac{\text{Peso de grasa (g)}}{\text{Peso de muestra (g)}} \times 100$$

2.2.1.5. pH y acidez

El pH y la acidez se determinaron por los métodos oficiales de la “American Association of Cereal Chemists” N° 02-31.01 y N° 02-52.01, respectivamente (AACC, 2004).

2.2. Pureza del almidón

Para calcular la pureza del almidón extraído de arroz partido, de ambos lotes, se restó de 100 % la sumatoria de los valores del contenido de proteína, cenizas y grasa.

2.2.3. Análisis físicos

2.2.3.1. Color

La evaluación del color de los almidones de arroz se realizó con un colorímetro Hunter Lab Color Flex, modelo CX1819, provisto de una placa blanca estándar ($L = 93,54$, $a = -0,81$ y $b = 1,58$) para calibrar el equipo; se midieron los parámetros L^* , a^* y b^* (CIELAB), donde L^* representa la luminosidad, con una escala de valores de “0” para el color negro a “100” para el color blanco, a^* es el matiz (tonalidad del color), que varía del rojo al verde (valores positivos = rojo y valores negativos = verde) y b^* (es la intensidad del color), cuyos valores positivos representan el color amarillo, mientras que los valores negativos al color azul).

2.2.3.2. Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido provee una mayor perspectiva de la superficie del gránulo de almidón, así como de su morfología y tamaño. Se utilizó el método reportado por Ottenhof (2003) y las técnicas de rutina desarrolladas en el Centro de Microscopía Electrónica de la Escuela de Ingeniería Metalúrgica de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Central de Venezuela. La muestra se esparció sobre una cinta conductora de cobre de doble adhesión, la cual se fijó previamente a un portamuestra de aluminio; después se colocó en un ionizador de metales JEOL (modelo JSEM 35CX, Japan Electronic Optical Limited, Japón) y

se recubrió con una capa de oro de 60 nm de espesor. Finalmente, se procedió a su observación en el microscopio electrónico de barrido (Marca Hitachi, modelo S-2400) a un voltaje de 8 kV y se tomaron las fotomicrografías correspondientes, donde se evaluó el tamaño y la forma de los gránulos de almidón (observando, comparando y midiendo con una regla la longitud de los mismos, tomando en cuenta la escala proporcionada en la micrografía evaluada). Se reportó el promedio del tamaño de 10 gránulos donde se pudo realizar la medida con mayor facilidad.

2.2.4. Análisis fisicoquímicos

2.2.4.1. Absorción de agua, solubilidad y poder de hinchamiento

Estos parámetros se determinaron según la metodología propuesta por González y Pérez (2002). Se pesaron 4 gramos de almidón y se colocaron en un balón de fondo redondo de tres cuellos. Luego se agregaron 200 mL de agua destilada. Dicho balón, con la suspensión de almidón y un agitador magnético, se colocó en una manta de calentamiento con agitación, la cual se programó para lograr una velocidad de calentamiento de 1,5°C/min. En cada uno de los cuellos se procedió a insertar lo siguiente: en el cuello central se le ajustó un condensador de reflujo, en uno de los cuellos laterales se le insertó un termómetro con un tapón de goma y en el otro cuello lateral se colocó un tapón que se removió al momento de tomar las alícuotas de la suspensión de almidón durante el calentamiento (Fig. 18). Dichas alícuotas se tomaron, con una pipeta volumétrica de 10 mL, a las siguientes temperaturas: 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 y 95 °C. Dichas alícuotas se tomaron por duplicado y se colocaron en tubos de centrifuga previamente pesados. Luego se procedió a enfriar los tubos de centrifuga con dichas alícuotas y a pesarlos. Posteriormente, se centrifugaron a

1.600 rpm por 15 min y se decantó el sobrenadante en cápsulas de porcelana previamente pesadas. Se pesaron los tubos con el sedimento y el contenido de las cápsulas se evaporó a sequedad para colocarlas en una estufa a 45°C por 16 horas, luego de lo cual se pesaron.

Finalmente, se procedió a calcular la solubilidad (SS), la absorción de agua (AA) y el poder de hinchamiento (PH) mediante las siguientes expresiones:

$$\%SS = \frac{b}{W2} \times 100 \quad AA = \frac{a - W3}{W3} \times 100 \quad , \quad PH = \frac{a \times 100}{W2 \times (100 - \%SS)}$$

% SS es la Solubilidad (g de sólidos / 100 g de almidón).

AA es la Absorción de Agua (g agua absorbida / g almidón).

PH es el Poder de Hinchamiento.

b es el peso (g) del residuo en la cápsula de aluminio.

a es el peso (g) del sedimento en el tubo.

$$W2 = \frac{A \times W1}{100}$$

W2 son los gramos de almidón en cada alícuota y **A** es el peso (g) de la alícuota.

$$W1 = \frac{\text{Peso de almidón en base seca (g)}}{\text{Peso almidón en base húmeda (g) + 200}}$$

W1 es el porcentaje de almidón en base seca en la suspensión (p/v).

$$W3 = W2 - b$$

W3 es el peso (g) de almidón residual en el sedimento de cada alícuota.



FIGURA 18. Equipo para la determinación de la absorción de agua, solubilidad y poder de hinchamiento del almidón de arroz.

2.2.5. Análisis reológicos

2.2.5.1. Perfil amilográfico

Este perfil se obtuvo en el Micro Visco-Amylo-graph® Brabender (Duisburg, Alemania). Para ello, se prepararon suspensiones de almidón de arroz al 8 % (en base a 14 % de humedad) y se calentaron desde 30°C hasta 95°C a 7,5 °C/min, se mantuvieron a 95°C por 5 min y se enfriaron hasta 50°C a 7,5 °C/min, para luego mantenerlas durante un minuto a esta temperatura. Se determinaron los valores de temperatura de inicio de “gelatinización” (A), viscosidad máxima (B), viscosidad a 95°C (C), viscosidad después de mantener a 95 °C por 5 minutos (D), viscosidad a 50 °C (E), viscosidad después de mantener a 50 °C por 1 minuto (F), “breakdown” o fragilidad (B-D) y “setback” o asentamiento (E-B).

2.2.5.2. Viscosidad aparente

Para realizar esta determinación, se utilizaron pastas de almidón obtenidas en un amilógrafo Brabender de 500 cc (OHG, Type 800221, N° 930139, Duisburg, Alemania). Para ello, se prepararon suspensiones al 8 % y se colocaron en el recipiente de dicho amilógrafo, las cuales se calentaron desde 30°C a 90°C

(1,5 °C/min) y se mantuvieron a 90°C por 30 minutos, luego se enfriaron hasta 50°C (1,5 °C/min) y permanecieron a esta temperatura durante 30 minutos. Se retiraron las pastas obtenidas y se procedió a ajustar el viscosímetro Brookfield, modelo RVD-II (Figura 19D), a las velocidades 3, 6, 12, 30 y 60 rpm y se empleó la aguja número 4 para realizar las mediciones correspondientes (Fig. 19A). En caso que no se obtuviera lectura con dicha aguja, se usó la aguja número 3 (Fig. 19B). La viscosidad aparente se reportó en cP y las determinaciones se realizaron a 30 y 40°C.

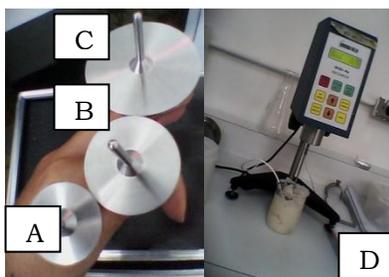


FIGURA 19. Agujas de corte y viscosímetro Brookfield. A: Aguja n°4; B: Aguja n°3; C: Aguja n°2; D: Viscosímetro.

2.2.6. Sinéresis de los geles de almidón de arroz

La sinéresis de los geles de almidón de arroz se evaluó de la siguiente forma: se prepararon geles al 8 % y se procedió a almacenarlos a 5°C por 24, 36 y 60 horas. La presencia de agua exudada se consideró como el indicativo de sinéresis.

2.3. Modificación por acetilación del almidón de arroz

2.3.1. Acetilación con anhídrido acético

La modificación del almidón de arroz por acetilación se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Wurzburg (1964), con algunas modificaciones en la fase final del proceso: Se pesaron 162 g de almidón (b.s.) y se mezclaron con 220 mL de agua a temperatura ambiente hasta obtener una suspensión uniforme. Es importante indicar que se mantuvo una agitación continua con un agitador magnético durante la modificación. Luego se ajustó el pH a 8 con una solución de NaOH al 3 % P/V . Se añadió una solución de anhídrido acético 0,1 M, gota a gota y, simultáneamente, se agregó NaOH al 3 % P/V para mantener el pH entre 8,0 y 8,4. Al finalizar la adición del anhídrido acético, se ajustó el pH a 4,5 con HCl 0,5 N. Luego se centrifugó durante 15 min a 1.500 rpm, se descartó el sobrenadante y se resuspendió en agua destilada. Esta operación se repitió dos veces. El sedimento (almidón acetilado) se secó en un deshidratador a 45°C por 24 horas. Finalmente, el producto obtenido se molió y se tamizó (60 mesh).

Es importante señalar que la modificación se realizó dos veces (lote 1 y lote 2) y a dos niveles de acetilación (6 % y 8 % de anhídrido acético, en base al peso seco de almidón), para lo cual se efectuaron los cálculos y ajustes en las proporciones originales de almidón y anhídrido acético sugeridas por Wurzburg (1964) (ver anexo 1).

2.3.2. Porcentaje de grupos acetilo y grado de sustitución

Para determinar estos índices se utilizó la metodología recomendada por Smith (1967) para almidones acetilados con bajo grado de sustitución (0,01 a 0,2 G.S). En una fiola de 250 mL se colocaron 5 g de almidón acetilado y 50 mL de agua destilada y se agitó para mezclar. Se añadieron unas gotas de fenolftaleína y

se tituló con una solución de NaOH 0,1 N hasta la aparición de un color rosado pálido (ver en la Figura 20A la tonalidad rosada obtenida). Luego se añadieron 25 ml de una solución de NaOH 0,45 N, teniendo cuidado que no se humedeciera el cuello de la fiola. Posteriormente, se tapó la fiola y se agitó durante 30 minutos en una plancha de agitación, previa colocación de un agitador magnético. Al finalizar este tiempo, se lavó el tapón y las paredes de la fiola con agua destilada. Se tituló el exceso de álcali con una solución de HCl 0,2 N hasta que desapareció la coloración rosada de la fenolftaleína (Ver en la Figura 20B la tonalidad blanca obtenida). Finalmente, se realizó el mismo procedimiento para el almidón nativo y con los resultados obtenidos se calculó el porcentaje de grupos acetilo y el grado de sustitución (GS), según las expresiones que se presentan a continuación. Es de resaltar que el GS es equivalente al número promedio de grupos hidroxilo substituidos por grupos acetilo (CH₃-C=O) en la unidad de anhidroglucosa (Wuzburg, 1964).

I) Porcentaje de grupos acetilo:

$$\text{Grupos acetilo (\%)} = \frac{(v_{gb} - v_{gm})(ml) \times N \left(\frac{meq}{mL}\right) \times 0,043\left(\frac{g}{meq}\right)}{\text{Peso muestra (b.s.) (g)}} \times 100$$

Donde: *v_{gb}* es el volumen de HCl gastado para el blanco o almidón nativo (mL); *v_{gm}* es el volumen de HCl gastado para el almidón acetilado (mL); **N:** Normalidad del HCl.

II) Grado de sustitución: 162A / 4300 – 42A.

Donde: A es el porcentaje de grupos acetilo (b.s.)

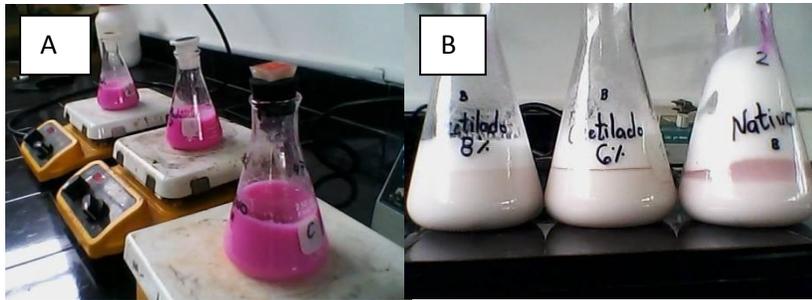


FIGURA 20. Tonalidades obtenidas por las muestras en la determinación del grado de sustitución. A) Punto final de la titulación con la solución de NaOH 0,45 N y B) punto final de la titulación con la solución de HCl 0,2 N.

2.4.3. Evaluación de los almidones acetilados

A los almidones acetilados (6 % y 8 % de anhídrido acético) de ambos lotes (lote 1 y lote 2) se les realizaron los análisis contemplados en las secciones: 2.2.1, 2.2.2, 2.2.3, 2.2.4, 2.2.5 y 2.2.6.

Asimismo, se determinó el ΔE , referente al análisis de color (sección 2.2.3.1), a través de la siguiente ecuación:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

Donde: ΔL = L^* del almidón acetilado - L^* del almidón nativo; Δa = a^* del almidón acetilado - a^* del almidón nativo; Δb = b^* del almidón acetilado - b^* del almidón nativo.

2.5. Elaboración de las minitartaletas y evaluación de su preferencia

2.5.1. Elaboración de las minitartaletas

Se elaboraron unas minitartaletas con relleno de chocolate; dicho relleno se preparó con el almidón nativo y el almidón acetilado al 6 %. El criterio de selección entre las muestras acetiladas se basó en la apariencia de los geles

durante el desarrollo de la prueba de sinéresis (sección 2.2.6.), siendo los geles de las muestras al 6 % las de mejor consistencia y apariencia a simple vista

El producto tuvo dos fases de elaboración. Primero se prepararon las bases de las minitartaletas y luego el relleno de chocolate. Es importante destacar que las cantidades utilizadas de los ingredientes y el procedimiento empleado fueron objeto de un exhaustivo proceso de evaluación antes de seleccionar la fórmula final.

Formulación para 100 minitartaletas (aproximadamente) de 1 cm de diámetro.

Base de las minitartaletas:

200g de harina de trigo, 25 g de azúcar, 1 huevo, 150 g de margarina.

Relleno:

50g de cacao, 50g de azúcar, 50g de margarina, 10 mL de esencia de vainilla, 25 mL de agua, 50 g de almidón (nativo o acetilado al 6% dependiendo del caso).

Para preparar las bases de minitartaletas, se elaboró una masa a partir de los siguientes ingredientes: harina (200 g), azúcar (25 g), huevo (una unidad) y margarina (150 g); los mismos se mezclaron en un bol. La masa obtenida se mantuvo en refrigeración por 30 min, con la finalidad de darle mayor firmeza al momento de estirla con el rodillo en una mesa previamente enharinada. Para darle forma, se usaron moldes de tartaletas de 1 cm de diámetro interno y 2 cm de diámetro externo; éstos se enmantequillaron y enharinaron para facilitar el desmoldado de la base de la minitartaleta una vez horneada. Luego de colocar la masa en los moldes, se procedió a barnizarla con agua, se le hicieron pequeños

orificios con un tenedor y se enfrió por 15 min en la nevera antes de hornear, esto con la finalidad que la masa mantuviera la forma del molde durante el horneado.

El horneado se realizó de 15 a 20 min a una temperatura entre 150°C a 200°C hasta observar un color dorado. Las cantidades indicadas anteriormente son para elaborar unas 100 unidades aproximadamente; por ello, para el análisis sensorial, se duplicaron los ingredientes, ya que, como mínimo, se necesitaron 200 bases de tartaletas. Para mantener sus características y garantizar su calidad (buen sabor, crocantez, aroma y apariencia), las bases se guardaron en envases de aluminio a temperatura ambiente.

Para el relleno se usaron 50 g de cacao en polvo, 50 g de azúcar, 50 g de margarina, 10 mL de esencia de vainilla, 25 mL de agua y 50 g de almidón nativo o acetilado al 6 %, según el caso; dichos ingredientes se mezclaron y calentaron hasta lograr una consistencia espesa y luego se dejó enfriar. El relleno obtenido se almacenó en bolsas de plástico y en refrigeración a 5 °C.

En la Figura 21 se observa un registro fotográfico de este proceso, desde la elaboración de la masa hasta el producto final para el análisis sensorial.



FIGURA 21. Elaboración de la minitartaleta. A: Ingredientes para la base de la minitartaleta, B: Masa, C: Estiramiento de la masa, D: Colocación de la masa en molde, E: Relleno de chocolate, F: base de minitartaleta sin relleno después del horneado, G: Minitartaleta.

2.5.2. Evaluación de la preferencia de las minitartaletas

La evaluación de la preferencia de las minitartaletas se realizó a través de una prueba afectiva de comparación pareada por preferencia (Meilgaard y col., 2007), con la participación de 100 consumidores (adultos y niños de ambos sexos). Dicha evaluación se realizó en el período de Semana Santa del año 2012, en la Iglesia Nuestra Señora del Buen Consejo y domicilios particulares de la localidad de la Urbanización Las Rosas, El Consejo, Edo. Aragua. Los productos evaluados fueron las minitartaletas con relleno de chocolate con almidón de arroz nativo y almidón de arroz acetilado al 6 % respectivamente.

Para la identificación de las muestras se prepararon etiquetas pequeñas plastificadas y con códigos numéricos (271: almidón nativo, 354: almidón acetilado al 6 %). Éstas se colocaron en cada una de las minitartaletas, las cuales se transportaban, por separado, en recipientes de plástico con tapas herméticas. A cada consumidor se le proporcionó un lápiz, la planilla de evaluación (Figura 22), las dos muestras de minitartaletas, agua y galletas de soda sin sal. Se les indicó que debían seleccionar cuál de las dos muestras codificadas era la más preferida; para ello, debían probar cada minitartaleta (entre una muestra y la otra debían tomar agua y comer un trozo de galleta de soda sin sal) e indicar su selección y comentarios en la planilla.

Nombre: _____	Fecha: _____
Indique cuál de las dos muestras prefiere mediante un círculo alrededor del código respectivo	
271	354
Comentarios: _____	

FIGURA 22. Planilla utilizada en la evaluación de la preferencia de las minitartaletas elaboradas.

3. Análisis estadístico de los resultados

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se realizó a través de un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores, con el paquete estadístico STATGRAPHICS (Statistical Graphics System Educational, versión 6.0, 1992, USA), con el fin de determinar si hubo un efecto estadísticamente significativo del nivel de acetilación del almidón de arroz (6 % y 8 % de anhídrido acético) sobre sus propiedades físicas, químicas, fisicoquímicas y funcionales y si hubo una reproducibilidad de las condiciones de proceso y su efecto sobre dichas propiedades, lote a lote, a un nivel de confianza del 95 %. Además, se aplicó una prueba *a posteriori* (análisis de rangos múltiples de Duncan) en caso tal de establecer un efecto estadísticamente significativo de los factores considerados (nivel de acetilación y/o lote) sobre los parámetros analizados.

Para el análisis de resultados de la evaluación de la preferencia sensorial de las minitartaletas (estudio de consumidores), se empleó la tabla para la prueba comparación pareada por preferencia (Roessler y col., 1978), con la cual se obtuvo el número mínimo de respuestas concordantes necesarias para establecer si había una mayor preferencia hacia alguna de las muestras evaluadas, según el número de consumidores encuestados, a un nivel de probabilidad de 0,05 (anexo 2).

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Análisis químico

1.1. Composición química y pureza de los almidones de arroz

El almidón de arroz presenta, además de la humedad, componentes minoritarios en la superficie y el interior de sus gránulos, tales como, proteínas, lípidos y minerales: fósforo, calcio, potasio y sodio (cenizas) (Wani y col., 2012 a). De allí que es de esperarse obtener un porcentaje asociado a estos componentes en el almidón extraído de arroz. La presencia de estos componentes podría afectar la funcionalidad de este polisacárido; por ello, es importante estimar su contenido, además que constituyen un indicio de su pureza y, por ende, de la eficiencia de su proceso de extracción (Adebowale y Lawal., 2003).

En la Tabla 1 se observan los resultados de la composición química y la pureza de los almidones de arroz nativos y acetilados de ambos lotes. En la misma se aprecia que no hubo una diferencia significativa ($P \geq 0,05$) entre los valores del contenido de humedad, cenizas, proteína y grasa de las dos muestras acetiladas y los valores de los almidones nativos, ni entre los valores de las muestras acetiladas (6 % y 8 % de anhídrido acético) para ambos lotes. De lo anterior se infiere que el proceso de acetilación, a los 2 niveles utilizados, no ocasionó cambios en la composición química del almidón de arroz.

El contenido de humedad y proteína fue superior ($P < 0,05$) en todas las muestras del segundo lote con relación a los almidones del primer lote, manteniéndose sin variación ($P \geq 0,05$) el resto de los componentes entre los mismos (Tabla 1).

Tabla 1. Contenido de humedad, cenizas, proteína, grasa y pureza de los almidones de arroz.

Parámetro (%)		Primer Lote	Segundo Lote
Humedad	I	10,62 ± 0,04 A ^a	12,52 ± 0,08 A ^b
	II	9,39 ± 0,13 A ^a	11,89 ± 0,12 A ^b
	III	10,82 ± 0,26 A ^a	11,74 ± 0,15 A ^b
Cenizas (Base seca)	I	0,56 ± 0,02 A ^a	0,39 ± 0,24 A ^a
	II	0,39 ± 0,32 A ^a	0,37 ± 0,30 A ^a
	III	0,53 ± 0,05 A ^a	0,38 ± 0,21 A ^a
Proteína (Base seca)	I	0,81 ± 0,02 A ^a	0,78 ± 0,13 A ^b
	II	0,67 ± 0,13 A ^a	0,71 ± 0,01 A ^b
	III	0,71 ± 0,01 A ^a	0,78 ± 0,00 A ^b
Grasa (Base seca)	I	0,46 ± 0,03 A ^a	0,54 ± 0,20 A ^a
	II	0,48 ± 0,31 A ^a	0,39 ± 0,09 A ^a
	III	0,36 ± 0,44 A ^a	0,21 ± 0,02 A ^a
Pureza	I	98,75 ± 0,05 A ^a	98,28 ± 0,01 A ^a
	II	98,60 ± 0,23 A ^a	98,52 ± 0,18 A ^a
	III	98,74 ± 0,27 A ^a	98,61 ± 0,14 A ^a

I: Nativo, II: Acetilado 6 % de anhídrido acético, III: Acetilado 8 % de anhídrido acético. Cada valor representa el promedio de tres determinaciones ± desviación estándar. Valores de un mismo parámetro entre filas o columnas seguidos de una letra diferente son estadísticamente diferentes a un nivel de significancia de 5 %; la letra mayúscula se refiere a la comparación entre muestras, mientras que el superíndice se refiere a la comparación entre lotes.

La diferencia del contenido de humedad y proteína de los almidones nativos de ambos lotes podría atribuirse a que el arroz partido utilizado como materia prima para su extracción provenía de lotes distintos y, por ello, de cultivares, zonas de cultivo y/o prácticas pre y postcosecha diferentes, que pudieron reflejarse como una variación de estos dos constituyentes en los almidones extraídos.

Al ser un proceso de extracción tipo semiartesanal, el contenido de proteína de estos almidones también puede variar, porque al extraer el almidón mediante una malla, se obtiene una lechada que es una suspensión de almidón, fibra y material proteico y la cantidad de estos 2 últimos constituyentes va a depender, en parte, del tamaño del poro de la malla o tela y la experticia del sujeto al momento de retirar las impurezas (capa oscura superior) en la fase de

sedimentación (centrifugación) y del número de lavados realizados (Fig. 14) en este proceso de extracción (Aristizábal y Sánchez, 2007).

Los almidones acetilados del lote 2 también presentaron un mayor contenido ($P < 0,05$) de humedad y proteína que los almidones acetilados del lote 1.

El contenido de humedad de los almidones de arroz varió de 9,39 % a 12,52 % (Tabla 1), que son valores inferiores a 13 %, lo cual resulta adecuado porque, según Aristizabal y Sánchez (2007), cuando el almidón presenta un contenido superior a este valor (13 %) y se almacena, se favorece el desarrollo de microorganismos y, a la vez, aumenta la posibilidad que se originen reacciones de fermentación, las cuales pueden aumentar la acidez titulable y disminuir el pH del almidón, con lo que se afectarían sus propiedades funcionales.

En almidones de arroz extraídos de cultivares venezolanos, se han reportado los siguientes valores de contenido de humedad: 12,62 % (Requena, 2003); 7,96 % - 13,19 % (Pereira, 2004); 10,95 % (Clemente, 2005); 7,72 % (Paredes, 2005) y 10,64 (Taborda, 2005).

Los almidones comerciales de cereales contienen cantidades mínimas o trazas de materiales inorgánicos no combinados que pueden proceder de la materia prima, las prácticas agronómicas realizadas durante su cultivo o del agua utilizada durante su extracción. Si se trata de almidones modificados, estos materiales pueden provenir de los reactivos utilizados en la modificación.

El contenido de cenizas de los almidones de arroz osciló entre 0,37 % y 0,56 % (b.s.; Tabla 1). Otros autores obtuvieron los siguientes valores para este contenido en almidones de arroz procedentes de cultivares nacionales: 0,35 %

(González y Pérez, 2002); 0,15 % - 0,29 % (Pereira, 2004) y 0,14 % (Clemente, 2005).

Los almidones de arroz evaluados presentaron un contenido de proteína entre 0,67 % y 0,81 % (b.s) (Tabla 1). En estudios previos, varios autores han reportado diversos valores para este contenido: 0,7 % (González y Pérez, 2002); 0,32 % - 0,52 % (Pereira, 2004); 0,54 % (Clemente, 2005); 0,93 % (Taborda, 2005).

La proteína residual del proceso de extracción del almidón puede afectar su sabor y olor y tiende a formar espuma (Aristizábal y Sánchez, 2007).

El contenido de grasa de los almidones de arroz varió de 0,21 % a 0,54 % (b.s.) (Tabla 1); este contenido debe ser inferior a 0,8 %, según Aristizabal y Sánchez (2007), ya que los lípidos (ácidos grasos libres) pueden formar complejos con la amilosa, los cuales disminuyen el hinchamiento y la solubilización del contenido granular, la hidrólisis enzimática y la formación del complejo yodo-amilosa, requiriéndose temperaturas superiores a 125°C para disociar el complejo amilosa-lípido y solubilizar la fracción de amilosa. La mayor parte de los lípidos presentes en el almidón de arroz son liso-fosfolípidos y ácidos grasos libres.

Pereira (2004), Clemente (2005) y Taborda (2005) obtuvieron valores entre 0,12 % y 0,60 %, 0,31 % y 0,51 %, respectivamente, para el contenido de grasa de almidones de arroz de origen nacional.

La pureza del almidón es un índice que puede calcularse a partir de su composición química y, a la vez, puede relacionarse con la eficiencia del proceso de extracción del mismo; mientras mayor sea la pureza del almidón, más eficiente fue su proceso de extracción. La pureza de los almidones nativos de ambos lotes

fue 98,75 % y 98,28 %, valores que fueron estadísticamente iguales entre sí ($P \geq 0,05$)(Tabla 1).

Según Aristizábal y Sánchez (2007), la pureza (carbohidrato puro) del almidón debe oscilar entre 92 y 96 % para considerar que su proceso de extracción fue eficiente. De lo anterior se puede inferir que el proceso de extracción de los almidones nativos de ambos lotes fue altamente eficiente, en vista que los valores de pureza de los mismos fueron superiores al 98 %.

En vista que la acetilación, a cualquiera de sus niveles (6 % y 8 % de anhídrido acético), no modificó la composición del almidón de arroz para ambos lotes (Tabla 1), la pureza de todos los almidones acetilados fue igual entre sí ($P \geq 0,05$) e igual a la pureza del almidón nativo de su lote correspondiente y la misma no varió entre lotes ($P \geq 0,05$); los valores obtenidos fueron superiores a 98 %.

En almidones de arroz de cultivares nacionales, Pereira (2004) y Clemente (2005) reportaron valores de pureza de 97,5 % - 98,4 % y 98,9 %, respectivamente.

1.2. pH y acidez

El pH es una medida de la acidez o alcalinidad de una muestra, mientras que la acidez titulable representa la cantidad de ácido presente en la misma.

En el caso de los almidones, es importante la determinación de estos dos parámetros, ya que su variación podría indicar el desarrollo de un proceso de fermentación o el resultado de una modificación química, bien sea por los reactivos utilizados o por los compuestos formados durante dicha modificación.

En la Tabla 2 se muestran los valores de pH y acidez de los almidones de arroz.

Tabla 2. pH y acidez de los almidones de arroz.

Parámetro		Primer Lote	Segundo Lote
pH	I	5,04 ± 0,03 C ^a	5,08 ± 0,00 C ^a
	II	4,00 ± 0,11 A ^a	4,00 ± 0,03 A ^a
	III	4,10 ± 0,10 B ^a	4,14 ± 0,07 B ^a
Acidez (meq NaOH/g) (Base seca)	I	0,02 ± 0,00 A ^a	0,02 ± 0,00 A ^a
	II	0,02 ± 0,00 A ^a	0,02 ± 0,00 A ^a
	III	0,02 ± 0,00 A ^a	0,02 ± 0,00 A ^a

I: Nativo, II: Acetilado 6 % de anhídrido acético, III: Acetilado 8 % de anhídrido acético. Cada valor representa el promedio de tres determinaciones ± desviación estándar. Valores de un mismo parámetro entre filas o columnas seguidos de una letra diferente son estadísticamente diferentes a un nivel de significancia de 5 %; la letra mayúscula se refiere a la comparación entre muestras, mientras que el superíndice se refiere a la comparación entre lotes.

El pH de los almidones nativos de arroz de los lotes 1 y 2 fue 5,04 y 5,08, respectivamente.

González y Pérez (2003) y Rincón y col. (2007) reportaron valores de pH de 5,40 y 5,20 en almidones nativos de yuca y fruto de pan (*Artocarpus altilis*); en almidones de arroz de cultivares nacionales, Pereira (2004) obtuvo valores de pH entre 5,33 y 6,40.

El pH de los almidones nativos comerciales se ajusta a un valor específico, el cual generalmente oscila alrededor de 5, aunque el mismo puede ser superior (6-6,5) (Smith, 1967).

Los almidones acetilados presentaron un pH inferior ($P < 0,05$) a los almidones nativos en ambos lotes (Tabla 2) y los valores obtenidos oscilaron entre 4,00 y 4,14. Esta reducción del pH de los almidones de arroz se explicaría por el ajuste de pH a 4,5 con la solución de HCl 0,5 N, la cual se realizó una vez finalizada la adición de anhídrido acético (sección 2.3.1.).

Otros autores han reportado la disminución de pH en almidones acetilados de distintas fuentes botánicas: arroz (González y Pérez, 2002; Requena, 2003;

Paredes, 2005); batata (Anchundia, 2005); canavalia (Lawal y Adebawale, 2005); fruto de pan (*Artocarpus altilis*) (Rincón y col., 2007); *Mucuna pruriens* (leguminosa) (Adebawale y Lawal, 2003); maíz (Lawal, 2004); papa y yuca (Mbougeng y col., 2012) y *Voandzeia subterranean* (leguminosa) (Adebawale y col., 2002).

El pH fue ligeramente superior ($P < 0,05$) en las muestras de almidón acetilado a 8 % en comparación a los almidones acetilados al 6 % en ambos lotes (Tabla 2); Mbougeng y col. (2012) obtuvieron una tendencia similar de incremento de pH al aumentar el porcentaje de anhídrido acético en almidones de papa.

No hubo variación del pH entre las muestras del primer y segundo lotes ($P \geq 0,05$) (Tabla 2).

En cuanto a la acidez, la misma se mantuvo constante en todas las muestras de arroz evaluadas ($P \geq 0,05$) (Tabla 2), siendo el valor obtenido 0,02 meq NaOH/g.

González y Pérez (2002), Requena (2003), Pereira (2004), Clemente (2005), Paredes (2005) y Taborda (2005) reportaron valores de acidez de 0,02, 0,03, 0,001-0,01, 0,003, 0,002 y 0,025 meq NaOH/g en almidones de arroz de cultivares venezolanos.

González y Pérez (2002) y Rincón y col. (2007) tampoco obtuvieron variación en la acidez de almidones acetilados de arroz y fruto de pan (*Artocarpus altilis*); los valores obtenidos fueron 0,02 y 0,005 meq NaOH/g, respectivamente.

1.3. Porcentaje de grupos acetilo y grado de sustitución de los almidones de arroz.

El porcentaje de grupos acetilo, así como el grado de sustitución, son parámetros de especial importancia, ya que proporcionan una medida del grado de modificación que se ha logrado con el proceso de acetilación y permiten establecer si se ha cumplido con la normativa legal de la FDA que regula el uso de los almidones acetilados en alimentos.

En la Tabla 3 se muestra el porcentaje de grupos acetilo y el grado de sustitución de los almidones acetilados de arroz.

Tabla 3. Porcentaje de grupos acetilo y grado de sustitución de los almidones acetilados de arroz.

Parámetro		Primer Lote	Segundo Lote
Porcentaje de grupos acetilo (base seca)	II	0,45 ± 0,01 A ^a	0,43 ± 0,03 A ^a
	III	0,61 ± 0,02 B ^a	0,63 ± 0,03 B ^a
Grado de sustitución	II	0,01 ± 0,00 A ^a	0,01 ± 0,00 A ^a
	III	0,02 ± 0,00 B ^a	0,02 ± 0,00 B ^a

II: Acetilado 6 % de anhídrido acético, III: Acetilado 8 % de anhídrido acético. Cada valor representa el promedio de tres determinaciones ± desviación estándar. Valores de un mismo parámetro entre filas o columnas seguidos de una letra diferente son estadísticamente diferentes a un nivel de significancia de 5 %; la letra mayúscula se refiere a la comparación entre muestras, mientras que el superíndice se refiere a la comparación entre lotes.

En dicha tabla se observa un incremento ($P < 0,05$) en el porcentaje de grupos acetilo en las muestras acetiladas con 8 % de anhídrido acético respecto a las muestras acetiladas con 6 % de este reactivo en ambos lotes. Esto se explicaría porque al aumentar la concentración del anhídrido acético de 6 % a 8 %, incrementaría la tasa de colisión del mismo con el almidón y, por ende, la cantidad de grupos acetilos incorporados en su estructura (Lawal, 2004).

Otros autores han reportado un aumento del porcentaje de grupos acetilo al incrementar el porcentaje de anhídrido acético en almidones de distintas fuentes

botánicas: arroz (Requena, 2003; Shon y Yoo, 2006); avena (Mirmoghtadaie y col., 2009); batata (Lee y Yoo, 2009); caraota (Wani y col., 2012b); maíz (Lawal, 2004; Han y col., 2012); maíz y papa (Singh y col., 2004); sagú (Saartrat y col., 2005) y yuca (Osundahunsi y Mueller, 2011).

Los valores de este parámetro oscilaron entre 0,43 % y 0,63 % (0,43 g de grupos acetilo por 100 g de almidón y 0,63 g de grupos acetilo por 100 g de almidón en base seca, respectivamente) (Tabla 3).

De acuerdo a la FDA y FAO, los almidones acetilados pueden utilizarse en alimentos, siempre y cuando presenten un porcentaje de grupos acetilo inferior a 2,5 % (López y col., 2010); en vista de lo anterior, todos los almidones acetilados obtenidos en este estudio cumplen con la normativa indicada, ya que sus valores de porcentaje de grupos acetilo no superaron el 0,7 % (Tabla 3), lo que implica que pueden incorporarse en formulaciones alimenticias.

El grado de sustitución se define como el número promedio de grupos hidroxilo substituidos por unidad de anhidroglucosa. Por ejemplo, si se obtiene un grado de sustitución de 0,1, hay un grupo funcional substituido en la estructura del almidón por cada 10 unidades de anhidroglucosa.

En la Tabla 3 se reportan los resultados del grado de sustitución de los almidones acetilados obtenidos en este estudio. En ella se observa que hay un mayor grado de sustitución ($P < 0,05$) al incrementar el nivel de acetilación de 6 % a 8 %, tal y como se observó con el porcentaje de grupos acetilo; dicho resultado es lógico, porque al aumentar el nivel de acetilación, incrementa la probabilidad de sustitución de los grupos funcionales, ya que hay mayor disponibilidad de grupos acetilo para ser incorporados.

Numerosos autores, entre ellos Singh y col. (2004) y Mirmoghtadaie y col. (2009), indican que el grado de modificación de los almidones acetilados depende, entre otros factores, de la concentración del reactivo utilizado, en este caso, de anhídrido acético.

Asimismo, diversos autores también han reportado un aumento del grado de acetilación al incrementar el porcentaje de anhídrido acético en almidones de distintas fuentes botánicas: arroz (Requena, 2003; Shon y Yoo, 2006); avena (Mirmoghtadaie y col., 2009); batata (Lee y Yoo, 2009); caraota (Wani y col., 2012b); maíz (Lawal, 2004; Han y col., 2012); maíz y papa (Singh y col., 2004); sagú (Saartrat y col., 2005) y yuca (Osundahunsi y Mueller, 2011).

Los valores obtenidos para el grado de sustitución de los almidones acetilados obtenidos en este estudio fueron 0,01 y 0,02 para las muestras acetiladas con 6 % y 8 % de anhídrido acético, respectivamente, en ambos lotes (Tabla 3). Lo anterior quiere decir que para el almidón acetilado al 6 %, hay un grupo funcional sustituido en la molécula de almidón por cada 100 unidades de anhidroglucosa, mientras que para el almidón acetilado al 8%, hay 2 grupos funcionales sustituidos en la molécula de almidón por cada 100 unidades de anhidroglucosa.

De acuerdo a la FDA, los almidones acetilados con un grado de sustitución entre 0,01 y 0,2 se consideran de bajo grado de sustitución, por lo que los almidones acetilados obtenidos en esta investigación son de bajo grado de sustitución, ya que sus valores, para este parámetro, se encuentran en este intervalo.

A continuación, se refieren los valores de porcentaje de grupos acetilo y grado de sustitución obtenidos por algunos autores en almidones acetilados de

arroz: 0,67 % y 0,03 (González y Pérez, 2002); 0,89 % - 2,25 % y 0,03 - 0,09 (Requena, 2003); 2,26 % - 3,6 % y 0,087 - 0,144 (Singh y Singh, 2005); 1,12 % y 0,04 (Paredes, 2005).

Es importante señalar que, si bien se trata de almidones de arroz, los resultados anteriores muestran variabilidad con los resultados obtenidos en este estudio, lo cual puede atribuirse a variaciones en el cultivar de arroz utilizado, concentración de anhídrido acético, tiempo y temperatura de la reacción, velocidad de adición del reactivo, pH, velocidad y homogeneidad de la agitación durante el proceso, presencia de catalizador y concentración de la suspensión de almidón (Singh y col., 2004; Adebawale y col., 2005; Singh y Singh, 2005; Rincón y col., 2007; Mirmoghtadaie y col., 2009; Bello-Pérez y col., 2010; Han y col., 2012; Mbougoueng y col., 2012).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P \geq 0,05$) en los valores del porcentaje de grupos acetilo y grado de sustitución de los almidones acetilados al 6 % y 8 % de anhídrido acético entre ambos lotes (Tabla 3), lo cual denota que hubo reproducibilidad de las condiciones de modificación empleadas entre los mismos, hecho que podría ser importante en el momento de aplicar este tipo de modificación a escala industrial.

2. Análisis físicos

2.1. Color

Las coordenadas cromáticas L^* , a^* y b^* están relacionadas con la percepción fisiológica del color: claro u oscuro, rojo o verde y amarillo o azul. Es fundamental recordar que el ojo humano, cuando aprecia el color de un objeto, no distingue separadamente la cantidad de "verde-rojo", "amarillo-azul" o "claridad", sino que percibe un color que podría calificar como "claro u oscuro",

“vivo o apagado” y el tono que es el color en sí. Por ello, en muchos casos no resulta intuitivo analizar los valores por separado. De allí la importancia de analizar el color en términos de atributos de la percepción visual: tono (el color mismo, asociado a la longitud de onda predominante), saturación o croma (su intensidad, vivacidad o pureza) y claridad (cantidad de luz percibida, o grado de claro u oscuro) (Fizman y Salvador, 2005).

En la Tabla 4 se reportan los valores obtenidos para los parámetros de color: luminosidad (L^* : 100 es blanco y 0 es negro), matiz (a^* : valores positivos son rojos; valores negativos son verdes; 0 es neutral), intensidad (b^* : valores positivos indican amarillo; valores negativos indican azul; 0 es neutral) y ΔE (diferencia perceptible de color) (Good, 2002).

Los almidones nativos de los lotes 1 y 2 presentaron valores de L^* , a^* y b^* de 95,56 y 95,57; 0,06 y 4,04 y 4,03 (Tabla 4), los cuales fueron estadísticamente iguales ($P \geq 0,05$). Pereira (2004) y Clemente (2005) reportan valores de L^* , a^* y b^* de 91,56 – 93,11 y 93,95, (-0,47) – (-0,39) y -017 y 2,47 - 3,17 y 3,19 en almidones de arroz de cultivares nacionales.

Las muestras acetiladas presentaron valores de L^* y a^* ligeramente superiores ($P < 0,05$), mientras que los valores de b^* fueron ligeramente inferiores ($P < 0,05$) a los valores del almidón nativo para ambos lotes; entre los almidones acetilados no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0,05$) para estos 3 parámetros en cada lote, ni entre lotes (Tabla 4). Los valores de L^* , a^* y b^* de los almidones acetilados variaron entre 95,78 y 96,27, 0,09 y 0,14 y 3,51 y 3,85, respectivamente.

Tabla 4. Parámetros de color de los almidones de arroz.

Parámetro		Primer lote	Segundo lote
L*	I	95,56 ± 0,00 A ^a	95,57 ± 0,21 A ^a
	II	95,78 ± 0,00 B ^a	96,27 ± 0,12 B ^a
	III	95,98 ± 0,00 B ^a	96,26 ± 0,37 B ^a
a*	I	0,06 ± 0,00 A ^a	0,06 ± 0,02 A ^a
	II	0,09 ± 0,00 B ^a	0,13 ± 0,01 B ^a
	III	0,11 ± 0,00 B ^a	0,14 ± 0,03 B ^a
b*	I	4,04 ± 0,00 B ^a	4,03 ± 0,21 B ^a
	II	3,85 ± 0,00 A ^a	3,51 ± 0,11 A ^a
	III	3,72 ± 0,00 A ^a	3,60 ± 0,17 A ^a
ΔE	II	0,28 ± 0,00 A ^a	0,88 ± 0,14 A ^b
	III	0,52 ± 0,00 A ^a	0,82 ± 0,52 A ^b

I: Nativo, II: Acetilado 6 %, III: Acetilado 8 %. Cada valor representa el promedio de tres determinaciones ± desviación estándar. Valores de un mismo parámetro entre filas o columnas seguidos de una letra diferente son estadísticamente diferentes a un nivel de significancia de 5 %; la letra mayúscula se refiere a la comparación entre muestras, mientras que el superíndice se refiere a la comparación entre lotes.

De acuerdo a lo antes expuesto, todos los almidones de arroz presentaron un color blanco (o se perciben como tal), por el hecho que sus valores de L* están próximos a 100 (valor máximo de la escala de medición de este parámetro). Esto se puede corroborar con los valores neutrales (según Good (2002), un valor neutral lo indica el "cero") encontrados para el matiz (a*) de todos los almidones de arroz, ya que los mismos fueron muy cercanos al valor 0 en la escala (entre 0,09 y 0,14; Tabla 4). Asimismo, los valores de la intensidad (b*) de estas muestras también fueron próximos al valor neutro, aunque no tanto como los valores del matiz (a*) (los valores oscilaron entre 3,60 y 4,04) (Tabla 4).

La ligera tendencia hacia una intensidad amarilla (o menos azul) y/o tonalidad rojiza (o menos verde) de todos los almidones de arroz son, en realidad, imperceptibles a simple vista. Es importante considerar lo que se indicó con anterioridad que no se deben evaluar los parámetros L*, a* y b* por separado,

sino que su interpretación debe realizarse en términos de atributos de la percepción visual.

El ligero incremento de los valores de L^* y a^* ($P < 0,05$) y la ligera disminución de los valores de b^* ($P < 0,05$), al parecer indica que la acetilación con anhídrido acético tiene un efecto blanqueador en el almidón; el NaOH al 3 %, el cual se utiliza para mantener el pH entre 8,0 y 8,4 durante esta modificación, al igual que los lavados posteriores realizados en la fase de centrifugación (sección 2.3.1.), pudieron ocasionar conjuntamente la saponificación de los lípidos y la solubilización de componentes presentes en el almidón que pudieran estar relacionados al color amarillo (b^*), generando una mayor blancura (aumento en los valores de L^*) en los almidones acetilados (Tabla 4) (Sánchez y col., 2005).

Mbougoung y col. (2012) también reportaron un incremento de los parámetros L^* y a^* en almidones acetilados de yuca.

Los valores de ΔE (magnitud de la diferencia total de color, en este caso con respecto a los almidones nativos de arroz) fueron estadísticamente iguales ($P \geq 0,05$) entre las muestras acetiladas en ambos lotes; los valores oscilaron entre 0,28 y 0,52 en el lote 1 y de 0,82 a 0,88 en el lote 2 (Tabla 4). También se aprecia en dicha tabla que los valores del lote 2 fueron superiores ($P < 0,05$) a los valores del lote 1 (Tabla 4); esto último podría deberse a las variaciones particulares de su composición.

Según (Good, 2002), se considera que la diferencia de color entre dos muestras es perceptible a simple vista si el ΔE es superior a 1; de acuerdo a lo anterior, las muestras acetiladas con 6 % y 8 % de anhídrido acético de ambos lotes no presentan una diferencia de color perceptible con relación a los

almidones nativos de arroz respectivos, ya que sus valores de ΔE fueron inferiores a 1 (Tabla 4), lo cual podría ser de interés, tomando en consideración que el color de un almidón es un atributo de calidad e identidad muy importante, especialmente en lo que se refiere al momento de su selección para incorporarlo en formulaciones alimenticias.

2.2. Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido permite visualizar la morfología y determinar el tamaño de los gránulos de almidón. Presenta una serie de ventajas con respecto a otras técnicas de microscopía, entre ellas, buena resolución, fácil interpretación, amplio intervalo de aumentos, profundidad de campo excelente, preparación mínima de la muestra y el tamaño a utilizar está determinado por el tamaño del portamuestra, el cual es pequeño.

Por ello, constituye una herramienta muy útil para determinar si ha habido cambios en ambos parámetros (forma y tamaño de los gránulos de almidón) como consecuencia de cualquier modificación, tanto química, física o enzimática.

En la Figura 23 se presentan las micrografías de los almidones de arroz.

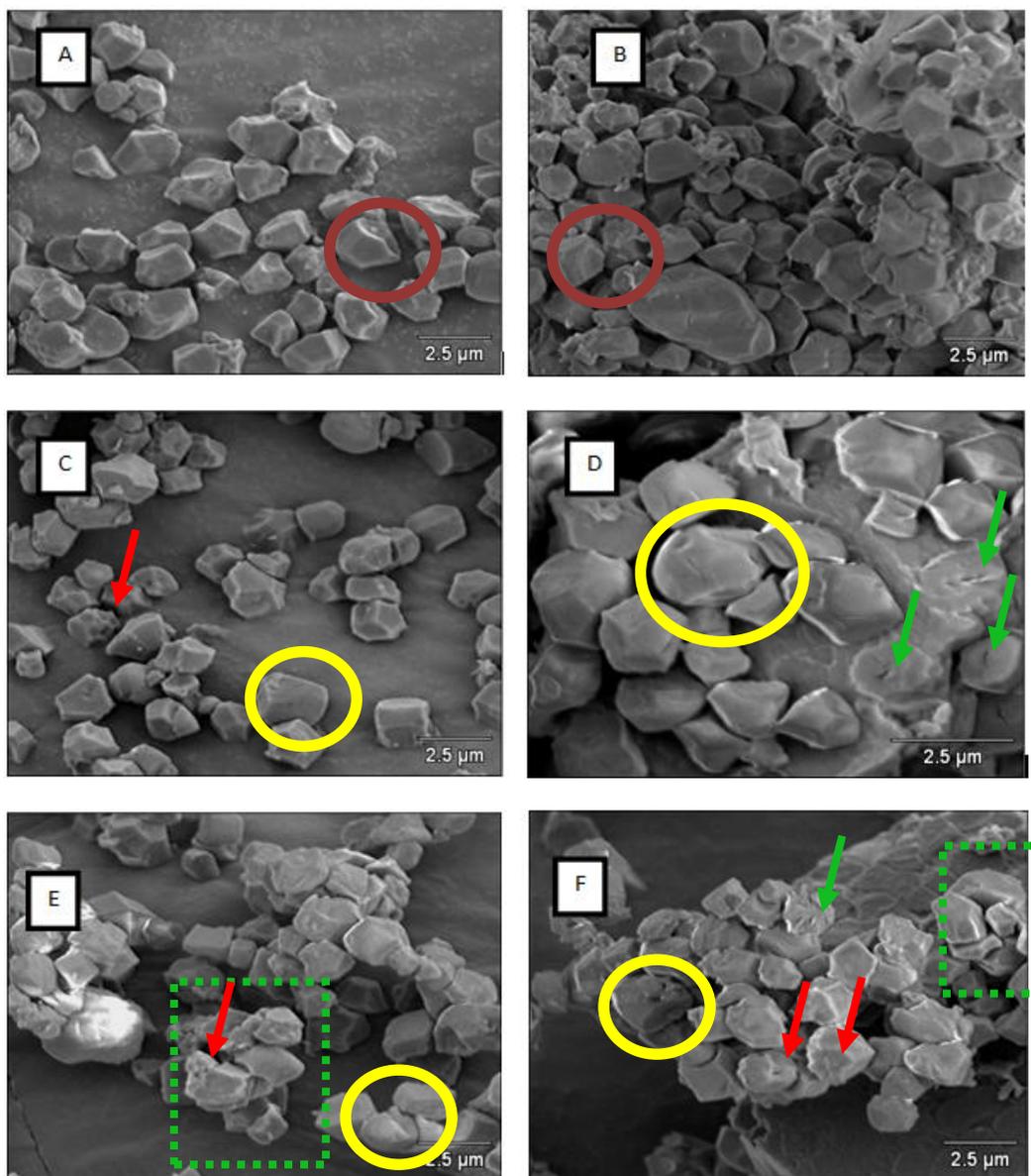


Figura 23. Micrografías de los almidones de arroz. A: Almidón nativo, primer lote (7 KV, 3.000X). B: Almidón nativo, segundo lote (7 KV, 3.000X). C: Almidón acetilado al 6 % con anhídrido acético, primer lote (7 KV, 3.000X). D: Almidón acetilado al 6 % con anhídrido acético, segundo lote (7 KV, 5.000X). E: Almidón acetilado al 8 % con anhídrido acético, primer lote (7 KV, 3.000X). F: Almidón acetilado al 8 % con anhídrido acético, segundo lote (7 KV, 3.000X). Circulos rojos/amarillos: gránulos poligonales/gránulos bordes redondeados. Flechas rojas/verdes: poros/grietas. Rectángulos verdes punteados: agregados.

Los gránulos de los almidones nativos de arroz presentaron forma poligonal y bordes bien definidos (aristas), lo cual es característico de esta fuente botánica (Figuras 23A y 23B y, en especial, los gránulos marcados con círculos rojos) y su tamaño promedio fue 1,1 μm .

En almidones de arroz procedentes de cultivares nacionales, se han reportado los siguientes valores para su tamaño granular: 4,46 – 7,20 μm (González y Pérez, 2002); 4,24 μm – 5,41 μm (Pereira, 2004) y 6,15 μm (Clemente, 2005).

La variación en el tamaño y la forma de los gránulos de almidón depende del origen botánico, la bioquímica del cloroplasto o amiloplasto, así como de la fisiología de la planta (Singh y col., 2004b).

Los almidones acetilados (6 % y 8 % de anhídrido acético) no presentaron variación en el tamaño de sus gránulos con respecto a los almidones nativos, para ambos lotes; en todos los casos, se obtuvo un tamaño promedio 1,1 μm .

En cuanto a la morfología granular, la acetilación con anhídrido acético produjo cambios en la misma, si bien no fueron tan marcados (Figuras 23C, 23D, 23E y 23F).

Algunos autores como Singh y col. (2004a), Singh y Singh (2005), Rincón y col. (2007), Bello-Pérez y col. (2010), López y col. (2010), Han y col. (2012), Mbougoung y col. (2012) y Wani y col. (2012b), tampoco evidenciaron una variación significativa del tamaño y/o morfología de los almidones acetilados de diversas fuentes botánicas (papa y yuca, arroz, fruto de pan, cebada, maíz, avena y caraota).

En las muestras acetiladas (en ambos niveles de acetilación y lotes) se notó una ligera pérdida de la forma poligonal del gránulo de almidón de arroz (Figuras

23A y 23B), ya que se observaron bordes más redondeados (círculos amarillos en las Figuras 23C, 23D, 23E y 23F). Igualmente se apreciaron grietas (flechas verdes en las Figuras 23D y 23F), poros (flechas rojas en las Figuras 23C, 23E y 23F) y se formaron agregados granulares solamente en los almidones acetilados con un 8 % de anhídrido acético (Figuras 23E y 23F). Se ha determinado que el grado de la alteración de la morfología granular depende de la concentración de anhídrido acético empleada; a mayor concentración, mayor grado de alteración (Rincón y col., 2007; Bello-Pérez y col., 2010; Han y col., 2012).

La presencia de las grietas en la superficie granular de los almidones acetilados podría deberse a la remoción de las zonas amorfas de la misma, ya que en ellas ocurre el proceso de acetilación propiamente dicho; Dependiendo del grado de remoción, como resultado de la modificación, es posible observar el rompimiento de los gránulos (Adebowale y col., 2006).

Según González y Pérez (2002), los poros que se observan en la superficie de los gránulos de almidones de arroz nativos y acetilados podrían originarse por la deformación plástica ocasionada por otros gránulos y/o constituyentes presentes en el almidón. En el caso que se trate de almidones modificados, como los almidones acetilados, la naturaleza del proceso de modificación involucrado puede influir igualmente en el desarrollo de estos poros.

La formación de agregados, la deformación y la superficie rugosa de los almidones acetilados podrían ser producto de la gelatinización superficial por efecto del hidróxido de sodio añadido para mantener las condiciones alcalinas durante la acetilación con anhídrido acético (Singh y col., 2004b).

3. Análisis fisicoquímicos

3.1. Absorción de agua, solubilidad y poder de hinchamiento

La absorción de agua, la solubilidad y el poder de hinchamiento del almidón son propiedades funcionales muy importantes, tal y como se consideró en la sección 1.5., las cuales están vinculadas estrechamente al fenómeno de gelatinización y que, a la vez, determinan otras propiedades funcionales, como las propiedades reológicas, que, en su conjunto, son características de cada almidón en particular y definen su utilización, con fines específicos, en diversas áreas de la industria de alimentos.

En la Figura 24 se aprecian los valores de absorción de agua (Figura 24A y Figura 24B), solubilidad (Figura 24C y Figura 24D) y poder de hinchamiento (Figura 24E y Figura 24F) de los almidones nativos y acetilados de arroz a distintas temperaturas (60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95°C).

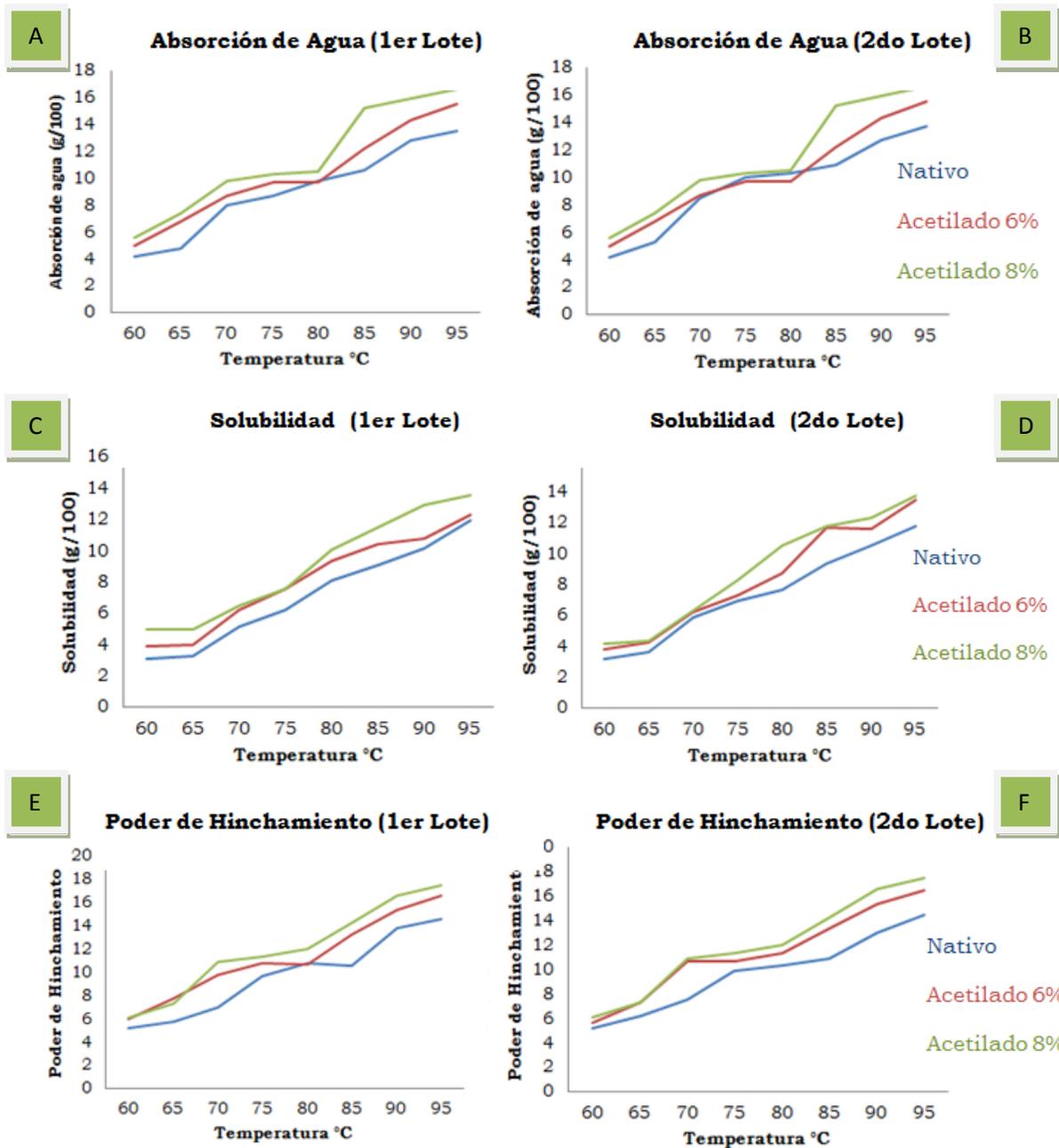


Figura 24. Absorción de agua, solubilidad y poder de hinchamiento de los almidones de arroz. A y B, absorción de agua primer y segundo lote, respectivamente. C y D, solubilidad primer y segundo lote, respectivamente. E y F, poder de hinchamiento primer y segundo lote, respectivamente

En la mencionada figura se puede observar que todos los almidones de arroz mostraron un incremento de los 3 parámetros al aumentar la temperatura; por esta razón, es que se considera a estos índices como temperatura-dependientes.

Cuando el almidón, bien sea nativo o modificado, se calienta en agua, se produce la hidratación de sus gránulos debido a la penetración de este solvente a las zonas amorfas (más accesibles); los puentes de hidrógeno que estabilizan las dobles hélices se rompen, debilitándose las fuerzas de unión intragranulares, lo que conlleva a una desorganización de la estructura del gránulo y, por ende, a su hinchamiento y aumento de volumen (Adebowale y Lawal, 2003; Lawal y Adebowale, 2005; Rincón y col., 2007; López y col., 2010; Mbougoung y col., 2012). Además se produce la solubilización de los componentes del almidón: la amilosa se lixivia y la amilopectina se hidrata (Adebowale y Lawal, 2003; Adebowale y col., 2005; Rincón y col., 2007; Mbougoung y col., 2012).

En la Figura 24 se aprecia también que el aumento de la absorción de agua, la solubilidad y el poder de hinchamiento de todos los almidones de arroz (nativos y acetilados) no ocurre a una tasa constante, sino que se observan zonas en las diferentes curvas donde la misma es variable dependiendo de la temperatura (o intervalos de temperatura). Estas zonas denotarían la presencia de distintos grados de ordenamiento intragranular, hecho que hace necesario que se le proporcione al sistema cantidades diferenciales de energía (calor) para lograr la desorganización a este nivel y así poder facilitar los procesos de absorción de agua, hinchamiento granular y solubilización molecular (Requena, 2003).

Las fuerzas de unión en el interior de los gránulos de almidón determinan el grado de hinchamiento alcanzado; gránulos altamente asociados (estructura

micelar extensa y altamente unida) presentan una mayor resistencia al hinchamiento, mientras que los almidones con una mayor proporción de áreas amorfas experimentan una hidratación más progresiva y un mayor hinchamiento (Adebowale y Lawal, 2003; Rincón y col., 2007).

Diversos autores como González y Pérez (2002), Requena (2003), Pereira (2004), Clemente (2005), Paredes (2005) y Taborda (2005), también notaron un incremento temperatura-dependiente y a tasas diferentes, según la temperatura (o intervalos de temperatura), de la absorción de agua, la solubilidad y el poder de hinchamiento de almidones nativos de arroz extraídos de cultivares nacionales, al igual que González y Pérez (2002), Requena (2003), Paredes (2005), Shon y Yoo (2006) y Singh y Singh (2005) en almidones acetilados de arroz.

La modificación con anhídrido acético de los almidones de arroz ocasionó un moderado incremento en los valores de estos 3 parámetros para todas las temperaturas, salvo algunas pocas excepciones (Figura 24).

La introducción de los grupos acetilo en los almidones de arroz pudo facilitar el acceso de agua a las zonas amorfas, donde predominantemente se ubican, por la desorganización (desestabilización, debilitamiento) de la estructura intragranular originada por dichos grupos, ya que impiden la formación de los puentes de hidrógeno intra e intermoleculares debido a su naturaleza voluminosa (impedimento estérico). Con lo anterior, se reducen las fuerzas asociativas y la integridad de las zonas amorfas que estabilizan la estructura granular y, en consecuencia, se produce el incremento de estos tres parámetros (absorción de agua, solubilidad y poder de hinchamiento) durante el calentamiento de los almidones de arroz acetilados (González y Pérez, 2002; Lawal, 2004; Singh y col., 2004a; Adebowale y col., 2005; Saartrat y col., 2005; Singh y Singh, 2005;

Gunaratne y Corke, 2007; Rincón y col. (2007); Mirmoghtadaie y col., 2009; López y col., 2010; Osundahunsi y Mueller, 2011; Han y col., 2012; Mbougoueng y col., 2012; Wani y col., 2012b).

Las modificaciones en la morfología de los gránulos de almidón de arroz, como consecuencia de la acetilación con anhídrido acético y que se apreciaron en las micrografías presentadas en la Figura 23, es decir, la formación de grietas, poros y agregados, pudieron favorecer el acceso del agua a las zonas amorfas y, por ende, el incremento en la absorción de agua y el hinchamiento granular y la salida del material intragranular de los almidones acetilados durante el calentamiento de las suspensiones de los almidones acetilados. López y col. (2010) señalan que se produce una erosión superficial en los gránulos de almidón por el proceso de acetilación y, por ello, se facilita la lixiviación de la amilosa.

Numerosos autores también reportan un incremento de la absorción de agua, la solubilidad y el poder de hinchamiento en almidones acetilados de diferentes fuentes botánicas **al compararlos con su contraparte nativa**: arroz (González y Pérez, 2002; Requena, 2003; Paredes, 2005; Singh y Singh, 2005; Shon y Yoo, 2006), avena (Mirmoghtadaie y col., 2009; Berski y col., 2011), batata (Anchundia, 2005; Lee y Yoo, 2009), canavalia (Lawal y Adebawale, 2005; Adebawale y col., 2006), maíz (Lawal, 2004; Han y col., 2012); maíz y papa (Singh y col., 2004a; Singh y col., 2004b), maíz, papa y trigo (Gunaratne y Corke, 2007), mijo (Afolabi y col., 2011) *Mucuna pruriens* (leguminosa) (Adebawale y Lawal, 2003), sorgo (Singh y col., 2011), *Voandzeia subterranean* (leguminosa) (Adebawale y col., 2002) y yuca (Osundahunsi y Mueller, 2011).

En la Figura 24 se aprecia que los valores de estos índices fueron, en general, ligeramente superiores en las muestras acetiladas al 8 % en comparación

con los almidones acetilados al 6 %. Lo anterior se atribuiría al mayor grado de modificación de las muestras acetiladas al 8 %, lo cual se evidenció a través del mayor porcentaje de grupos acetilo y el grado de sustitución que presentaron (Tabla 3). Al haber un mayor porcentaje de grupos acetilos incorporados a la estructura del almidón (zonas amorfas), tal como ocurrió en los almidones acetilados al 8 %, mayor fue el grado de desorganización molecular, lo que produjo una mayor absorción de agua, solubilidad y poder de hinchamiento de estos almidones, a través de los mecanismos que se consideraron anteriormente.

Varios autores también indican un incremento de la absorción de agua, la solubilidad y el poder de hinchamiento en almidones acetilados **al incrementar el grado de modificación (porcentaje de grupos acetilo)**: arroz (Requena, 2003; Shon y Yoo, 2006), avena (Mirmoghtadaie y col., 2009), batata (Lee y Yoo, 2009), caraota (Wani y col., 2012b), maíz (Lawal, 2004; Han y col., 2012); maíz y papa (Singh y col., 2004a; Singh y col., 2004b), sagú (Saartrat y col., 2005) y yuca (Osundahunsi y Mueller, 2011).

La tendencia observada en los 3 índices fue similar para los almidones nativos y acetilados de ambos lotes (Figura 25). Requena (2003) también reportó un comportamiento similar de los almidones nativos y acetilados de arroz procedentes de cultivares nacionales y de diferentes lotes de producción.

4. Análisis reológico

4.1. Perfil amilográfico

El perfil amilográfico de un almidón permite conocer y evaluar su comportamiento bajo condiciones previamente establecidas de calentamiento-enfriamiento y fuerzas de corte. Los parámetros obtenidos del mismo son de

utilidad para decidir su finalidad de uso y/o en qué tipo de formulación o producto se incorporará para lograr propiedades funcionales particulares.

En la Tabla 5 se observan los parámetros obtenidos del perfil amilográfico de los almidones de arroz evaluados en este estudio.

Tabla 5. Parámetros evaluados en los perfiles amilográficos de los almidones de arroz.

Parámetro	Primer Lote			Segundo lote	
A: Temperatura de “gelatinización” (°C)	I	76	C ^a	75	C ^a
	II	74	B ^a	74	B ^a
	III	73	A ^a	73	A ^a
B: Viscosidad Máxima (UB)	I	747	A ^a	749	A ^a
	II	757	A ^a	760	A ^a
	III	866	B ^a	854	B ^a
C: Viscosidad a 95°C (UB)	I	662	A ^a	664	A ^a
	II	670	A ^a	666	A ^a
	III	669	A ^a	656	A ^a
D: Viscosidad a 95°C por 5 min. (UB)	I	757	B ^a	760	B ^a
	II	759	B ^a	752	B ^a
	III	724	A ^a	729	A ^a
E: Viscosidad a 50°C (UB)	I	1510	C ^a	1502	C ^a
	II	1194	B ^a	1189	B ^a
	III	1143	A ^a	1150	A ^a
F: Viscosidad a 50°C por 1 min. (UB)	I	1589	B ^a	1587	B ^a
	II	1279	A ^a	1281	A ^a
	III	1254	A ^a	1249	A ^a
“Breakdown” (UB) (B-D)	I	-10	A ^a	-10	A ^a
	II	3	B ^a	8	B ^a
	III	141	C ^a	125	C ^a
“Setback” (UB) (E-B)	I	750	C ^b	747	C ^a
	II	441	B ^b	438	B ^a
	III	419	A ^b	414	A ^a

I: Nativo, II: Acetilado 6 %, III: Acetilado 8 %. Cada valor representa el promedio de dos determinaciones. Valores de un mismo parámetro entre filas o columnas seguidos de una letra diferente son estadísticamente diferentes a un nivel de significancia de 5 %; la letra mayúscula se refiere a la comparación entre muestras, mientras que el superíndice se refiere a la comparación entre lotes.

A. Temperatura de “gelatinización”

La temperatura de empaste es la temperatura donde se observa el primer punto de inflexión en la curva amilográfica. Su valor depende del método de determinación, la fuente botánica del almidón, el contenido de amilosa, el tamaño granular, las heterogeneidades de la población de gránulos, la estructura intragranular, la concentración de la suspensión de almidón y de si se trata de almidones nativos o modificados por métodos físicos, químicos y/o enzimáticos.

Cabe destacar que antes de alcanzar dicha temperatura, se ha iniciado el proceso de gelatinización del almidón como tal, ya que algunos gránulos, con menor asociación intragranular, comienzan a absorber agua, a través de sus zonas amorfas, y, por ende, a hincharse.

Asimismo, esta temperatura debe considerarse como un intervalo de valores más que un valor puntual, debido a las heterogeneidades presentes en la población de gránulos de almidón bajo estudio (y que se indicaron anteriormente), por lo que se requiere de diferentes niveles energéticos para lograr la desestabilización de la red micelar que mantiene la estructura interna de los mismos e iniciar la gelatinización propiamente dicha (González y Pérez, 2002).

La temperatura de empaste puede relacionarse con el grado de arreglo intragranular (cristalinidad) que presenta un almidón; a mayor valor de la temperatura de empaste, mayor arreglo intragranular (Osundahunsi y Mueller, 2011).

Las temperaturas de empaste de los almidones nativos fueron 76°C y 75°C para el primer y segundo lote, respectivamente; entre ellas no se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($P \geq 0,05$) (Tabla 5).

En almidones nativos de arroz procedentes de cultivares nacionales, se han reportado los siguientes valores para esta temperatura: 82,5°C (González y Pérez, 2002), 78,4°C-79,6°C (Requena 2003), 68,4°C-77,4°C (Pereira, 2004) y 75°C (Paredes, 2005).

Como ya se indicó, las variaciones que pueden visualizarse en la temperatura de empaste, aún en una misma especie botánica, pueden ser producto del tipo de muestra (cultivar), concentración de la suspensión, equipo utilizado para su determinación y particularidades de la población de gránulos presentes en el almidón (tamaño, forma, contenido de amilosa, arreglo intragranular, etc.).

Los almidones acetilados al 6 % y 8 % presentaron menores valores de temperatura de empaste ($P < 0,05$) que los almidones nativos (Tabla 5). La temperatura de empaste de los almidones acetilados a 6 % fue 74°C, valor que se mantuvo igual en ambos lotes; para los almidones acetilados a 8 %, el valor obtenido fue 73°C, tanto para el lote 1, como para el lote 2 (Tabla 5).

La disminución de la temperatura de empaste en los almidones acetilados se atribuye al debilitamiento de las fuerzas asociativas en las regiones amorfas de los gránulos por la introducción de los grupos acetilo, lo cual genera una desorganización en su estructura interna que favorece la ruptura anticipada de los puentes hidrógeno en dichas regiones. Lo anterior conduce al inicio de la gelatinización a una menor temperatura, ya que se requiere menos energía para romper los enlaces que mantenían a la región amorfa, con el consiguiente aumento de la absorción de agua y el poder de hinchamiento (Lawal, 2004; Mirmoghtadaie y col., 2009; Osundahunsi y Mueller, 2011; Han y col., 2012; Wani y col., 2012b).

La explicación anterior puede reforzarse con lo observado en los almidones acetilados de arroz con relación a su mayor absorción de agua y poder de hinchamiento, los cuales fueron ocasionados por la desestabilización del arreglo intragranular por la incorporación de los grupos acetilo (Tabla 3).

Los cambios observados en la morfología granular en los almidones acetilados (grietas, poros y agregados) (Figura 23) pudo favorecer también el inicio de la gelatinización a una temperatura inferior, en vista que se pudo facilitar aún más el acceso del agua a las zonas amorfas del gránulo, ya debilitadas por la desorganización ocasionada por los grupos acetilo presentes en el almidón debido a la modificación realizada.

Adebowale y col. (2006) indican que la disminución de la temperatura de empaste en los almidones acetilados se debe, probablemente, al daño mecánico que se produce en los gránulos por efecto de la acetilación.

Algunos autores han reportado la disminución de la temperatura de empaste en almidones acetilados de distintas fuentes botánicas: arroz (González y Pérez, 2002; Requena, 2003; Paredes, 2005; Singh y Singh, 2005), canavalia (Lawal y Adebowale, 2005), caraotas (Simsek y col., 2012; Wani y col., 2012b), fruto de pan (Rincón y col., 2007), maíz (Lawal, 2004), *Mucuna pruriens* (leguminosa) (Adebowale y Lawal, 2003), sagú (Saartrat y col., 2005), sorgo (Singh y col., 2011) y *Voandzeia subterranean* (leguminosa) (Adebowale y col., 2002).

Para los almidones acetilados se observa una diferencia significativa ($P < 0,05$) en este parámetro; las muestras acetiladas a 8 % presentaron menores valores de temperatura de empaste en comparación al almidón acetilado al 6 % (74°C y 73°C; Tabla 5).

Este descenso se podría atribuir a que al aumentar el nivel de acetilación, tal y como ocurrió en los almidones acetilados a 8% (Tabla 3), se produjo una mayor incorporación de grupos acetilo en las zonas amorfas de los gránulos de almidón de arroz, los cuales, por su naturaleza voluminosa contribuyeron a la desorganización de la estructura intragranular más rápidamente y, con ello, a que la gelatinización se iniciara a una temperatura aún menor a la obtenida en los almidones acetilados al 6 %, todo esto consecuencia de la mayor absorción de agua y poder de hinchamiento de estos almidones con mayor grado de sustitución (Figura 24). Aunado a lo anterior, se puede mencionar el hecho que los cambios en la microestructura granular (Figura 23).

De lo anterior se podría inferir que el orden decreciente de asociación molecular en los almidones de arroz es: nativo > acetilado 6 % > acetilado 8 %. Esto permitiría sugerir la utilización de estos almidones acetilados en formulaciones donde se necesite agentes espesantes que presenten un menor tiempo de cocción, ya que así se podría reducir los costos energéticos durante la elaboración de las mismas (Saartrat y col., 2005).

Lawal (2004), Saartrat y col. (2005), y Wani y col. (2012b) también reportaron una mayor reducción de la temperatura de empaste al aumentar el nivel de acetilación en almidones de maíz, sagú y leguminosa, respectivamente.

B. Viscosidad máxima

La viscosidad máxima, independientemente de la temperatura a la cual se alcance, indica el valor mayor de viscosidad que puede desarrollarse durante el calentamiento del almidón bajo condiciones específicas de proceso. El desarrollo de esta viscosidad máxima es el resultado del efecto conjunto de la presencia de los gránulos de almidón hinchados, los fragmentos de los gránulos, las cadenas

de almidón molecular y coloidalmente dispersas, la formación del complejo amilosa- lípido, la competencia entre la amilosa exudada y los gránulos remanentes por el agua libre, la resistencia de los gránulos hinchados a la dispersión por calor y a la fragmentación por las fuerzas de corte y la asociación débil a nivel micelar (González y Pérez, 2002).

Este parámetro es muy importante en tecnología de alimentos porque, en muchos casos, se debe someter a cocción el almidón hasta este punto para obtener un producto con las características reológicas requeridas para cumplir una función particular.

Los almidones nativos presentaron valores de viscosidad máxima de 747 UB y 749 UB, para el primer y segundo lote, no observándose diferencias significativas ($P \geq 0,05$) entre ellos (Tabla 5).

González y Pérez (2002), Requena (2003) y Pereira (2004) reportaron valores de viscosidad máxima de 340 UB, 262 UB y 571 UB – 1242 UB, respectivamente, en almidones nativos de arroz de cultivares nacionales.

Las muestras acetiladas al 6 % presentaron valores de viscosidad máxima de 757 UB (lote 1) y 760 UB (lote 2). Dichos valores no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($P \geq 0,05$) respecto al almidón nativo, ni tampoco entre lotes (Tabla 5).

Los almidones acetilados al 8 % presentaron viscosidades máximas de 866 UB y 854 UB para el primer y segundo lote, estos valores fueron mayores ($P < 0,05$) a los valores de los almidones nativos y los almidones acetilados al 6 % (Tabla 5).

Como se indicó anteriormente, unas de las razones que determinan la viscosidad máxima es el poder de hinchamiento de los gránulos de almidón; este

hecho podría explicar lo obtenido para los almidones acetilados al 8 %, es decir, su mayor valor de viscosidad máxima con respecto a los almidones nativos y los almidones acetilados al 6 %. Tal y como se evidenció en la Tabla 3, los almidones acetilados al 8 % presentaron un mayor grado de acetilación y porcentaje de grupos acetilo, lo que produjo una mayor desorganización intragranular por el mayor número de grupos acetilo incorporados y, con ello, una mayor absorción de agua y poder de hinchamiento (Figura 24), lo que originó valores más altos de viscosidad máxima de los almidones acetilados al 8 % (Tabla 5).

Además, al considerar los resultados obtenidos de la temperatura de empaste y la inferencia sobre el grado de asociación molecular, los almidones acetilados al 6 %, al presentar una mayor temperatura de empaste que los almidones acetilados al 8 % (Tabla 5), reflejaría un mayor arreglo intragranular y, por ello, una menor absorción de agua, poder de hinchamiento y solubilización de material (resultados observados en la Figura 24), lo que se tradujo en una menor viscosidad máxima de estos almidones con relación a los almidones acetilados al 8 % (Tabla 5).

Singh y Singh (2005) señalan que el aumento de viscosidad máxima en los almidones acetilados podría explicarse por el incremento del poder de hinchamiento y la solubilidad producto de la desorganización intragranular causada por los grupos acetilo incorporados en el almidón.

Diversos autores han indicado el aumento de la viscosidad máxima en almidones acetilados de distintas fuentes botánicas: arroz (González y Pérez, 2002; Requena, 2003; Singh y Singh, 2005), canavalia (Adebowale y col., 2006), caraotas (Wani y col., 2012b), fruto de pan (Rincón y col., 2007), maíz, papa y

trigo (Gunaratne y Corke, 2007), mijo (Afolabi y col., 2012) y *Mucuna pruriens* (leguminosa) (Adebowale y Lawal, 2003),

Wani col. (2012b) observó un incremento de la viscosidad máxima al aumentar el grado de acetilación de almidones de caraotas.

C. Viscosidad a 95°C

La viscosidad a 95°C de las suspensiones de almidón es un índice de la facilidad de cocción del mismo, si se compara con la viscosidad máxima (Requena, 2003).

El incremento de viscosidad que se visualiza durante el calentamiento de una suspensión de almidón estaría determinado por diversos factores, entre ellos, las características morfológicas y dimensiones de los gránulos de almidón, contenido de amilosa, orientación de sus cadenas y grado de asociación intramolecular, arreglo intragranular, grado de hinchamiento, dispersión y solubilización de material intragranular, presencia de almidón soluble y de la interacción de los gránulos hinchados entre sí.

La viscosidad a 95°C fue estadísticamente igual ($P \geq 0,05$) para todas las muestras, incluso entre los lotes. Los valores obtenidos para el almidón nativo de arroz fueron 662 UB y 664 UB (primer y segundo lote, respectivamente). Para los almidones acetilados al 6 %, los valores de viscosidad a 95°C fueron 670 UB y 666 UB y para el almidón acetilado al 8 % fueron 669 UB y 656 UB (Tabla 5).

González y Pérez (2002), Requena (2003), Pereira (2004) y Paredes (2005) reportaron valores de viscosidad a 90°C-95°C de 70, UB, 232 UB, 517 UB – 1220 UB y 238 RVU, respectivamente, en almidones nativos de arroz de cultivares nacionales.

Adebowale y Lawal (2003), González y Pérez (2002) y Rincón y col. (2007) reportaron un incremento de la viscosidad a 95°C en almidones acetilados de *Mucuna pruriens*, arroz y fruto de pan.

D. Viscosidad a 95°C por 5 minutos

La viscosidad a 95°C por 5 minutos de una suspensión de almidón es indicativa de la estabilidad del almidón durante el calentamiento en presencia de fuerzas de corte generadas en el recipiente del amilógrafo.

Se ha determinado que la viscosidad que se alcanza en este período depende de la extensión de la lixiviación de la amilosa, la formación del complejo lípido-amilosa, la fricción entre los gránulos hinchados, el hinchamiento granular y la competencia entre la amilosa lixiviada y los remanentes de los gránulos de almidón por el agua libre (Singh y Singh, 2005; Singh y col. 2011; Wani y col., 2012b).

Durante este período puede ocurrir que la viscosidad aumente, disminuya o se mantenga estable. Si se produce el primer caso, es decir, el hecho que la viscosidad aumente, se debe a que aún existen gránulos sin colapsar en la suspensión de almidón y/o continúan hinchándose; si disminuye la viscosidad es porque los gránulos son muy frágiles y no resisten a las fuerzas de corte existentes durante la cocción, y si se mantiene constante es porque los gránulos son altamente estables en este proceso de cocción con fuerzas de corte (González y Pérez, 2002).

Los valores de viscosidad a 95°C por 5 minutos aumentaron para todos los almidones de arroz al compararlos con sus valores respectivos de viscosidad al inicio del proceso de calentamiento a 95°C (Tabla 5), lo cual podría indicar lo señalado anteriormente, que aún hay gránulos hinchándose y liberando amilosa

y/o que los gránulos presentes aún no han colapsado (González y Pérez, 2002; Requena, 2003).

Los almidones nativos no presentaron diferencias significativas ($P \geq 0,05$) en lo que se refiere a los valores de esta viscosidad con relación a los almidones acetilados al 6 %; los valores obtenidos fueron 757 UB y 760 UB para los almidones nativos de los lotes 1 y 2 y 759 UB y 752 UB para los almidones acetilados al 6 %, correspondientes a los mismos lotes.

González y Pérez (2002), Requena (2003), Pereira (2004) y Paredes (2005) reportaron valores de viscosidad durante el calentamiento a 90°C-95°C por un período constante de 340 UB, 257 UB-262 UB, 567 UB – 1089 UB y 154 RVU, respectivamente, en almidones nativos de arroz de cultivares nacionales.

Los almidones acetilados al 8 % presentaron menores valores ($P < 0,05$) de este parámetro (724 UB y 729 UB para los lotes 1 y 2) con relación a los almidones nativos y almidones acetilados al 6 % (Tabla 5).

Lo anterior pudiera indicar que los almidones acetilados al 8 % presentarían un mayor número de gránulos colapsados en este período de calentamiento bajo efecto de las fuerzas de corte, como producto de la mayor desorganización a nivel intragranular, debido a la incorporación de un mayor número de grupos acetilo (Tabla 3) y a los cambios en su morfología granular (poros, grietas y agregados) por el mayor grado de modificación presentado por estos almidones (Figura 23), lo que resultó en la disminución de sus valores de la viscosidad a 95°C por 5 minutos.

Diversos autores han reportado una disminución de la viscosidad durante el calentamiento a 95°C por un período de tiempo definido en almidones acetilados de distintas fuentes botánicas: arroz (Paredes, 2005), canavalia (Lawal y

Adebowale, 2005), caraota (Simsek y col., 2012), fruto de pan (Rincón y col., 2007), maíz (Lawal, 2004), maíz, papa y trigo (Gunaratne y Corke, 2007), sorgo (Singh y col., 2011) y *Voandzeia subterranean* (leguminosa) (Adebowale y col., 2002).

Lawal (2004) reportó una reducción de la viscosidad durante el calentamiento a una temperatura constante de 95°C al incrementar el grado de acetilación en almidones de maíz.

E. Viscosidad a 50°C

La viscosidad a 50°C de una pasta de almidón es una medida del asentamiento o tendencia a retrogradar que se produce en la misma a causa del enfriamiento.

Todos los almidones de arroz presentaron un incremento de la viscosidad a 50°C con relación a los valores obtenidos durante el calentamiento a 95°C por 5 minutos (Tabla 5); una tendencia similar fue reportada por González y Pérez (2002), Requena (2003), Pereira (2004) y Paredes (2005) en almidones de arroz de cultivares venezolanos.

Este incremento de la viscosidad refleja la tendencia de varios componentes presentes en la suspensión calentada de almidón (gránulos hinchados, fragmentos de gránulos hinchados, moléculas coloidalmente dispersas) para asociarse o retrogradar mientras la temperatura de la pasta disminuye (Bello-Pérez y col., 2010, Rincón y col., 2007, Afolabi y col., 2012).

El aumento de la viscosidad del almidón durante el enfriamiento es producto del restablecimiento (reasociación) de los puentes de hidrógeno entre las moléculas, tanto de la amilosa (solubilizadas durante las fases de calentamiento

previas), como la amilopectina (este proceso ocurre a largo plazo) presentes en la suspensión.

La tendencia a retrogradar de los almidones varía de acuerdo a la fuente botánica del mismo y la misma depende del contenido de amilosa, su longitud y el estado de dispersión; a mayor contenido de amilosa, mayor tendencia a retrogradar (Rincón y col., 2007).

Los almidones nativos presentaron valores de viscosidad a 50°C de 1510 UB (lote 1) y 1502 UB (lote 2), los cuales no presentaron diferencias entre sí ($P \geq 0,05$) (Tabla 5).

González y Pérez (2002), Requena (2003), Pereira (2004) y Paredes (2005) reportan valores de 500 UB, 354 UB - 307 UB, 1018 UB - 1856 y 357 RVU en almidones nativos de arroz de cultivares nacionales.

Los almidones acetilados a 6 % y 8 % presentaron valores de viscosidad a 50°C inferiores a los valores de los almidones nativos ($P < 0,05$); los mismos fueron 1194 UB (lote 1) y 1189 (lote 2) para los almidones acetilados al 6 %, mientras que para los almidones acetilados al 8 %, los valores fueron 1143 UB (lote 1) y 1150 (lote 2). No se apreció una diferencia entre los valores de esta viscosidad para los almidones acetilados (6 % y 8 %) entre lotes (Tabla 5).

En cuanto a los almidones acetilados, se encontró una disminución de esta viscosidad ($P < 0,05$) en los almidones acetilados al 8 % con respecto a los almidones acetilados al 6 % (Tabla 5).

La reducción de la viscosidad de los almidones acetilados durante el enfriamiento se atribuiría al impedimento estérico que ejercen los grupos acetilo para que se produzca la reasociación de las moléculas de amilosa (se evitan las interacciones intermoleculares), efecto que se hace más pronunciado al haber un

mayor grado de acetilación. Es por ello, que la disminución de este parámetro fue ligeramente menor en los almidones acetilados al 8 %, en vista que presentaron un mayor porcentaje de grupos acetilo y grado de sustitución que los almidones acetilados al 6 % (Tabla 3).

Los grupos acetilo restringen la tendencia a retrogradar de los almidones durante el enfriamiento debido al impedimento estérico que ejercen para prevenir el alineamiento y la asociación de las moléculas de amilosa a través de los puentes de hidrógeno (González y Pérez, 2002; Adebawale y Lawal, 2003; Adebawale y col., 2005; Saartrat y col., 2005; Singh y Singh, 2005; Gunaratne y Corke, 2007; Bello-Pérez y col., 2010).

Numerosos autores han reportado una disminución de la viscosidad a 50° C en almidones acetilados de distintas fuentes botánicas: arroz (González y col., (2002), canavalia (Lawal y Adebawale, 2005), caraotas (Simsek y col., 2012), fruto de pan (Adebawale col., 2005), maíz (Lawal, 2004), *Mucuna pruriens* (leguminosa) (Adebawale y Lawal, 2003) y *Voandzeia subterranean* (leguminosa) (Adebawale y col., 2002).

De los resultados obtenidos (Tabla 5), se podría indicar que todos los almidones de arroz presentaron una tendencia a retrogradar, ya que su viscosidad a 50°C fue superior a la viscosidad después de calentar a 95°C por 5 minutos; sin embargo, esta tendencia fue inferior en las muestras acetiladas (6 % y 8 %), y dependió del grado de acetilación de las mismas.

Lawal (2004), Saartrat y col. (2005) y Wani y col. (2012b) obtuvieron una mayor disminución de la viscosidad a 50°C de almidones acetilados de maíz, sagú y caraotas al incrementar el grado de acetilación.

F. Viscosidad a 50°C por 1 minuto

Los valores de viscosidad después de calentar a 50°C durante un minuto de todos los almidones de arroz fueron superiores a los valores de viscosidad a 50°C, lo que indica que aún, durante este calentamiento, la viscosidad continuó aumentando por la reasociación de las moléculas dispersas y otros componentes presentes en la pasta de almidón. Resultados similares fueron reportados por González y Pérez (2002), Requena (2003) y Pereira (2004) y Paredes (2005) en almidones de arroz de cultivares venezolanos.

Para los almidones nativos, las viscosidades fueron 1589 UB (lote 1) y 1587 UB (lote 2), no encontrándose diferencias entre estos valores ($P \geq 0,05$) (Tabla 5).

González y Pérez (2002), Requena (2003) y Pereira (2004) reportan valores de 540 UB, 363 UB - 427 UB y 1064 UB - 1937 UB en almidones nativos de arroz de cultivares nacionales.

Los almidones acetilados al 6 % presentaron valores de 1279 UB (lote 1) y 1281 UB (lote 2), mientras que para los almidones acetilados al 8 %, los valores fueron 1254 UB (lote 1) y 1249 UB (lote 2); todos estos valores fueron inferiores ($P < 0,05$) a los valores correspondientes a los almidones nativos, mientras que entre ellos, no hubo diferencias significativas así como entre valores correspondientes para estos lotes ($P \geq 0,05$) (Tabla 5).

Los resultados evidencian que la acetilación con anhídrido acético mantuvo la disminución de la tendencia a la reasociación de las moléculas presentes, aún durante el calentamiento a 50°C por 1 minuto, a través de los mecanismos que se indicaron con anterioridad.

G. "Breakdown"

El "breakdown" es un parámetro que se ha establecido para medir la fragilidad de los gránulos de almidón durante el calentamiento a temperatura constante por un tiempo determinado y bajo la acción de fuerzas de corte (Rincón y col., 2007; Wani y col., 2012 b); el mismo se determina por la diferencia entre la viscosidad máxima (B) y la viscosidad a 95°C por 5 min (D) (sección 2.2.5.1.). De lo anterior se infiere que mientras mayor sea este valor ("breakdown", menor será la estabilidad del almidón frente a las fuerzas de corte en el amilógrafo, es decir mayor será la fragilidad de los gránulos de almidón presentes en la suspensión.

En cuanto al "breakdown" (fragilidad), este índice fue mayor en los almidones acetilados ($P < 0,05$) con respecto a los almidones nativos y el mismo incrementó ($P < 0,05$) en los almidones acetilados al aumentar el grado de modificación ($P < 0,05$), es decir, que los almidones acetilados al 8 % presentaron un mayor "breakdown" que los almidones acetilados al 6 %. No se observaron diferencias para los valores de los almidones acetilados entre ambos lotes ($P \geq 0,05$) (Tabla 5).

Para los almidones nativos, el valor de "breakdown" fue -10 UB, en los almidones acetilados al 6 % los valores fueron 3 UB (Lote 1) y 8 (Lote 2) y para los almidones acetilados al 8 %, fueron 141 UB (Lote 1) y 125 UB (Lote 2).

El hecho de obtener valores negativos de "breakdown" en los almidones nativos podría indicar que el hinchamiento granular aún no ha finalizado y/o que la estructura de red presente en la suspensión, la cual consta de una serie de componentes de la más diversa naturaleza (entidades coloidal y molecularmente dispersas, gránulos hinchados, material solubilizado, fragmentos de gránulos) es resistente a las fuerzas de corte presentes.

González y Pérez (2002), Requena (2003), Pereira (2004) y Paredes (2005) reportan valores de 0 UB, 5 UB, 4 UB – 491 UB y 84 RVU en almidones nativos de arroz de cultivares nacionales.

De acuerdo a los resultados obtenidos, los almidones acetilados presentaron una menor estabilidad frente a las fuerzas de corte, porque sus valores de “breakdown” fueron superiores a los valores de los almidones nativos, los cuales disminuyen aún más en las muestras con mayor grado de acetilación, es decir, que los almidones acetilados al 8 % presentaron una mayor fragilidad ($P < 0,05$) que los almidones acetilados al 6 % (Tabla 5). Lo anterior sería producto, tanto de su mayor desorganización granular por la mayor cantidad de grupos acetilo incorporados en el almidón, como por los cambios que produjeron a nivel superficial (poros, grietas y agregados que se apreciaron en la Figura 23) como consecuencia de la modificación, aspectos que, en conjunto, no permitirían a estos almidones acetilados al 8 % mantener su integridad durante el calentamiento bajo fuerzas de corte y, por ello, el aumento en sus valores de “breakdown”.

Rincón y col. (2007) indican que la menor estabilidad presentada por los almidones acetilados evidencia el efecto de la desorganización intragranular; los gránulos se destruyen más fácilmente por ser más susceptibles a las fuerzas térmicas y mecánicas aplicadas.

Diversos autores han reportado un incremento en el “breakdown” de almidones acetilados de varias fuentes botánicas: arroz (Paredes, 2005, Singh y Singh, 2005), canavalia (Lawal y Adebawale, 2005; Adebawale y col., 2006), sagú (Saartrat y col., 2005), fruto de pan (Rincón y col., 2007), maíz (Lawal y col., 2004), maíz, papa y trigo (Gunaratne y Corke, 2007), mijo (Afolabi y col., 2012),

sorgo (Singh y col., 2011) y *Voandzeia subterranean* (leguminosa) (Adebowale y col., 2002).

Lawal (2004) y Saartrat (2005) evidenciaron un aumento del “breakdown” al incrementar el porcentaje de anhídrido acético en almidones de maíz y sagú, respectivamente.

H. “Setback”

El asentamiento o “setback” mide la tendencia a la retrogradación del almidón (Adebowale y col., 2005), el cual se define como la diferencia entre la viscosidad a 50°C y la viscosidad máxima; mientras mayores sean los valores obtenidos para este parámetro, mayor es la tendencia a retrogradar del almidón (sección 2.2.5.1.)

Los almidones nativos presentaron valores de “setback” de 750 UB (Lote 1) y 747 (lote 2), los cuales fueron iguales entre sí ($P \geq 0,05$) (Tabla 5).

González y Pérez (2002), Requena (2003), Pereira (2004) y Paredes (2005) reportan valores de 160 UB, 97 UB -145 UB, 452 UB – 826 UB y 203 RVU en almidones nativos de arroz de cultivares nacionales.

Los almidones acetilados al 6 % mostraron valores de asentamiento de 441 UB para el primer lote y 438 UB para el segundo lote, respectivamente y en los almidones acetilados al 8 %, los valores de asentamiento fueron 419 UB (Lote 1) y 414 UB (Lote 2).

Asimismo, los resultados obtenidos indican que los almidones acetilados (6 % y 8 %) presentaron menores valores ($P < 0,05$) de “setback” que los almidones nativos y que al aumentar el porcentaje de grupos acetilo, incrementó el “setback” ($P < 0,05$) o tendencia a retrogradar del almidón de arroz (Tabla 5);

esta tendencia fue la misma que se observó para la viscosidad a 50°C de los almidones de arroz (Tabla 5).

La disminución del “setback” o tendencia a retrogradar de los almidones acetilados se atribuye al impedimento estérico que producen los grupos acetilo incorporados en las cadenas de almidón, los cuales imposibilitan la asociación de las cadenas de amilosa durante el enfriamiento y, por ende, no se produce el aumento de la viscosidad durante este período. Al incrementar el grado de acetilación, aumenta aún más este impedimento estérico por la mayor cantidad de grupos acetilos incorporados, tal y como ocurrió con los almidones acetilados al 8 % (Tabla 3) y, por ello, es que en estos almidones se obtuvo una menor tendencia a retrogradar (menor “setback”) que los almidones acetilados a 6 %.

Diversos autores han reportado una disminución del “setback” en almidones acetilados de distintas fuentes botánicas: arroz (González y Pérez, 2002; Paredes, 2005), canavalia (Lawal y Adebawale, 2005; Adebawale y col., 2006), caraotas (Simsek y col., 2012; Wani y col., 2012b), fruto de pan (Adebawale y col., 2005; Rincón y col. 2007), maíz (Lawal ,2004), mijo (Afolabi y col, 2012), *Mucuna pruriens* (leguminosa) (Adebawale y Lawal, 2003), sagú (Saartrat y col., 2005), *Voandzeia subterranean* (leguminosa) (Adebawale y col., 2002).

Asimismo, Lawal (2004), Saartrat y col. (2005) y Wani y col. (2012b) observaron la disminución del “setback” en almidones de maíz, sagú y caraotas al incrementar el grado de acetilación.

De todo lo anterior podría inferirse que la acetilación con anhídrido acético a los niveles utilizados en este estudio (6 % y 8 %), ocasionó una disminución de la tendencia a retrogradar del almidón de arroz, característica que limita su uso en la preparación de formulaciones que requieren de almacenamiento a bajas

temperaturas. Lo anterior permitiría que los almidones de arroz acetilados puedan incorporarse a las mismas sin afectar su calidad y, a la vez, le proporcionarían propiedades específicas dependiendo del tipo de producto, las cuales podrían mantenerse aún bajo ciertas condiciones de procesamiento y/o almacenamiento.

4.2. Viscosidad aparente

La Figura 25 presenta los valores de viscosidad aparente de los almidones de arroz.

En la misma se observa que, independientemente de la temperatura de medición (40°C y 30°C) y la muestra evaluada (almidones nativos y acetilados), los valores de viscosidad aparente de todos los almidones de arroz disminuyeron al aumentar la velocidad de rotación de la aguja número 4. Por esta razón, todos los almidones evaluados se comportaron como fluidos no newtonianos pseudoplásticos.

Un fluido no newtoniano es aquel fluido cuya viscosidad varía con la temperatura y la tensión cortante que se le aplica. Como resultado, un fluido no newtoniano no tiene un valor de viscosidad definido y constante y es por esta razón que en el caso de estos fluidos se habla de viscosidad aparente (Potter y Wiggert, 2002).

Un fluido pseudoplástico es un fluido que presenta viscosidades bajas a velocidades de corte altas y viscosidades altas a velocidades de corte bajas (Potter y Wiggert, 2002), o lo que es lo mismo, presenta una disminución de su viscosidad al incrementar la fuerza de corte.

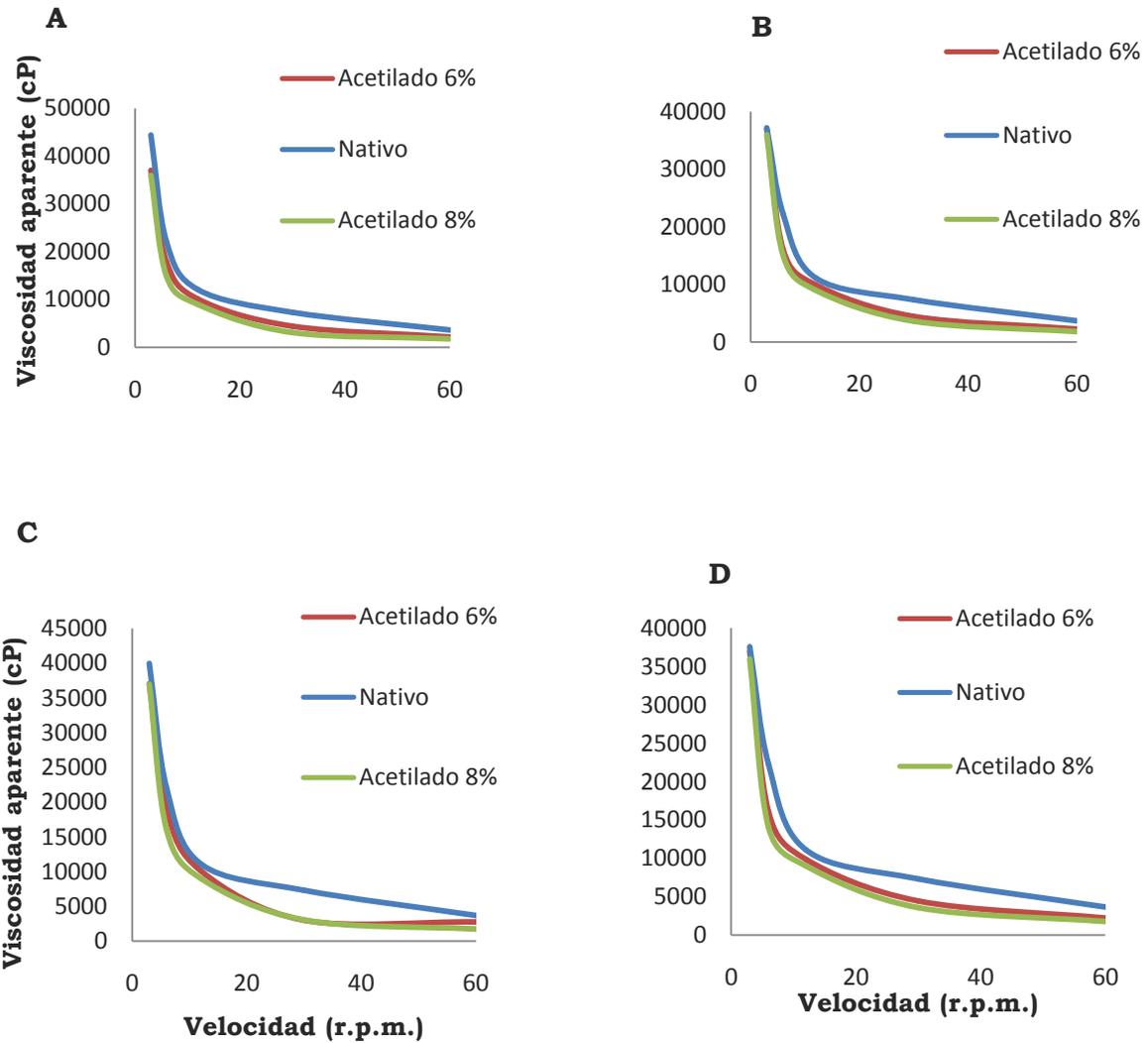


FIGURA 25. Viscosidad aparente de los almidones de arroz. A) viscosidad aparente a 40°C primer lote, B) Viscosidad aparente a 30°C primer lote. C) Viscosidad aparente a 40°C segundo lote. D) Viscosidad aparente a 30°C segundo lote.

González y Pérez (2002), Requena (2003) y Pereira (2005) reportaron un comportamiento de fluidos no newtonianos en almidones nativos de arroz; asimismo, se ha indicado la misma tendencia en almidones acetilados de arroz

(González y Pérez, 2002; Requena, 2003), batata (Anchundia, 2005) y maíz y plátano (Bello-Pérez y col., 2000a y 2002).

La reducción de los valores de viscosidad observados se explicaría por la degradación por fricción de las moléculas constituyentes del almidón, es decir, las moléculas de amilosa y amilopectina, que disminuyen su capacidad, de retención de agua (Sandoval y col., 2007).

Bello-Pérez y col. (2000b) indican que cuando aumenta la fuerza de corte, las partículas de almidón pueden reordenarse en dirección paralela a la fuerza cortante y las partículas grandes pueden romperse en partículas pequeñas. A este fenómeno se le llama "adelgazamiento de la pasta", porque la viscosidad disminuye al formarse estas partículas.

En la Figura 25 también puede apreciarse que los valores de viscosidad aparente de los almidones acetilados a 6 % y 8 %, para las diferentes velocidades de rotación de la aguja 4 y a las 2 temperaturas consideradas, es decir, 40°C y 30°C, fueron inferiores a los observados para los almidones nativos, con muy pocas excepciones. Asimismo, los valores de los almidones acetilados al 8 % fueron ligeramente inferiores a los obtenidos para los almidones acetilados al 6 %.

La reducción de los valores de viscosidad aparente de los almidones acetilados, con relación a los valores de los almidones nativos, podría explicarse porque los grupos acetilos incorporados durante la acetilación, impidieron la asociación (agregación) de la amilosa por efecto de tipo estérico y, por ello, se redujo la mencionada viscosidad.

Es importante destacar que este comportamiento presenta la misma tendencia observada para la viscosidad a 50°C y "setback", es decir, la

disminución de los valores de viscosidad en los almidones acetilados con respecto a los almidones nativos, y podría relacionarse con la menor tendencia a retrogradar de los almidones acetilados (secciones 4.1.E. y 4.1.H.) (Tabla 5), en vista que las mediciones de la viscosidad aparente se realizaron en suspensiones de almidón gelatinizadas y enfriadas a 40°C y 30°C.

Sería interesante considerar la posibilidad de evaluar en qué medida el grado de desintegración producido en los almidones acetilados durante el calentamiento previo en el amilógrafo bajo fuerzas de corte, el cual se realizó para preparar las suspensiones utilizadas, pudo influir en las tendencias observadas en los valores de viscosidad aparente.

Bello-Pérez y col. (2000a) y Bello-Pérez y col. (2002) obtuvieron una disminución de los valores de viscosidad aparente en almidones acetilados de maíz.

Al considerar la viscosidad aparente entre los almidones acetilados a 6 % y 8 %, puede apreciarse que sus valores fueron muy similares, observándose para algunos valores casos de superposición de las curvas (Figura 25).

Es importante destacar que la viscosidad aparente de los almidones de arroz disminuyó ligeramente al enfriar las suspensiones de 40°C a 30°C, aunque para algunos de ellos no se pudo observar una tendencia definida (Figura 25).

5. Sinéresis

La sinéresis consiste en la exudación de agua visible del gel de almidón, porque su rigidez incrementa como consecuencia de la retrogradación (Saartrat y col., 2005; Mirmoghtadaie y col., 2009; Han y col., 2012). Este proceso se acentúa con el tiempo de almacenamiento y se favorece con tratamientos extremos, como la congelación- descongelación del gel.

La sinéresis es un fenómeno que manifiesta la retrogradación del gel e involucra la reorganización de las moléculas del almidón. Este fenómeno refleja la relación entre agua y el gel de almidón durante la refrigeración. Por ello, la sinéresis es un factor importante a considerar en la formulación de productos almacenados a bajas temperaturas (Simsek y col., 2012).

El ensayo de sinéresis se realizó con los geles de almidón del primer lote (almidones nativos y almidones acetilados al 6 % y 8 %) durante 24, 36 y 60 horas de almacenamiento en refrigeración a 5°C.

Al culminar las primeras 24 horas de almacenamiento, se observó la presencia de sinéresis (agua exudada) en el gel del almidón nativo, así como una mayor fluidez y la formación de grumos en el mismo.

Por el contrario, para los geles de los almidones acetilados al 6 % y 8 %, no se evidenció sinéresis, desarrollo de fluidez, ni la aparición de grumos. Los geles de estos almidones se notaron, en apariencia, más firmes en comparación al gel del almidón nativo.

Es importante destacar que las fotografías correspondientes a este período de evaluación no se incluyeron.

A las 36 y 60 horas del inicio del ensayo, el gel del almidón nativo presentó más sinéresis, menor brillo, fluidez más marcada y apariencia grumosa, mientras que los geles de los almidones acetilados al 6 % y 8 % en ningún momento evidenciaron sinéresis, ni pérdida de brillo, ni disminución de su transparencia (no formación de grumos).

En la Figura 26 se observan las fotografías de los geles de los almidones de arroz del primer lote a las 60 horas de almacenamiento a 5°C, evidenciándose claramente la aparición del fenómeno de sinéresis (ver Figura 26A) para el gel del

almidón nativo y la ausencia del mismo en los geles almidones acetilados (ver Figura 27A y 27B). Es importante destacar que no se observó diferencia entre los geles de los almidones acetilados a 6 % y 8 %, en lo que se refiere a la apariencia, brillo y consistencia.

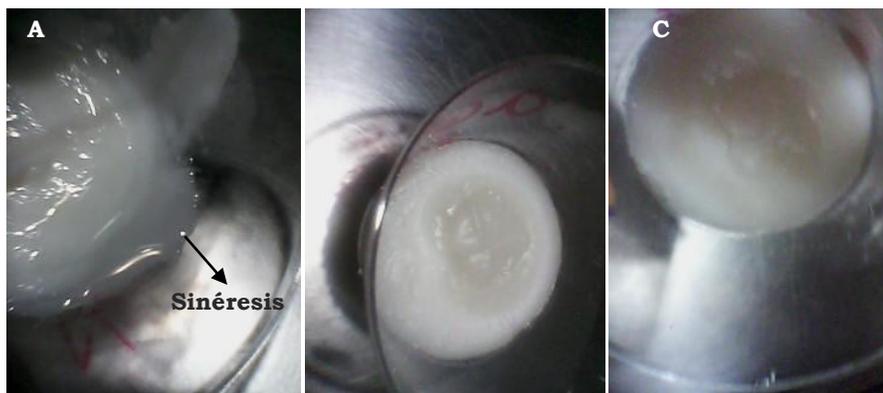


FIGURA 26. Fotografías de los geles de almidón de arroz a 60 horas almacenamiento a 5°C. A: Almidón nativo, B: Almidón acetilado al 6 % de anhídrido acético, C: Almidón acetilado 8% de anhídrido acético.

El incremento de la sinéresis en el gel del almidón nativo durante el desarrollo del ensayo, así como la formación de grumos y el aumento de su fluidez son el resultado de la retrogradación del almidón (incremento de las interacciones intra e intermoleculares y agregación y re-cristalización de la amilosa) durante su almacenamiento refrigerado (Mirmoghtadaie y col., 2009; Wani y col., 2012b).

El aumento de la sinéresis durante el almacenamiento se atribuye a la interacción entre la amilosa lixiviada y las cadenas de amilopectina, lo que conduce a la formación de zonas de unión. La agregación y cristalización de la amilosa ocurre en las primeras horas de almacenamiento, mientras que la agregación y la cristalización de la amilopectina se produce en etapas posteriores (Singh y Singh, 2005; Mirmoghtadaie y col., 2009).

Diversos autores han reportado el desarrollo de sinéresis en los geles de almidones de diversas fuentes botánicas durante su almacenamiento a bajas temperaturas: arroz (Pereira, 2004; Paredes, 2005, Singh y Singh, 2005), avena (Mirmoghtadaie y col., 2009), maíz (Han y col., 2012) y maíz y papa (Singh y Singh, 2004a).

Singh y Singh (2004a), Singh y Singh (2005) y Saartrat y col. (2005) observaron geles de textura grumosa en almidones nativos de arroz y sagú.

Como ya se indicó anteriormente, en los geles de los almidones acetilados al 6 % y 8 % no se apreció sinéresis, formación de grumos, ni la pérdida de firmeza. Esto se debió a la introducción de los grupos acetilo voluminosos en las moléculas de almidón, hecho que limitó la interacción de las cadenas de amilosa y amilopectina por impedimento estérico y que conllevó a que no se formaran los puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilos presentes, afectándose los procesos de reagregación y recristalización de las cadenas moleculares (amilosa-amilosa, amilosa-amilopectina y amilopectina-amilopectina) y, por ende, el desarrollo de sinéresis (y otras características asociadas) en los geles de estos almidones durante su almacenamiento refrigerado (Singh y col., 2004a; Saartrat y col., 2005; Singh y Singh, 2005; Mirmoghtadaie y col., 2009; Han y col., 2012, Wani y col., 2012b).

Es importante señalar que el comportamiento de los geles de los almidones acetilados (6 % y 8 % de anhídrido acético) durante su almacenamiento refrigerado, puede relacionarse con los resultados obtenidos para la viscosidad a 50°C y el “setback” (secciones 4.1.E. y 4.1.H.) (Tabla 5).

La presencia de los grupos acetilo en estos almidones impidieron la reasociación de las moléculas coloidalmente dispersas por efectos estéricos

durante el enfriamiento, es decir, minimizaron su tendencia a retrogradar y, por ello, no hubo la expulsión de agua del gel de los almidones acetilados (Figura 26).

Varios autores han reportado la disminución del desarrollo de sinéresis en los geles de almidones acetilados de diversas fuentes botánicas durante su almacenamiento a bajas temperaturas: arroz (Pereira, 2004; Paredes, 2005, Singh y Singh, 2005), avena (Mirmoghtadaie y col., 2009), maíz (Han y col., 2012), maíz y papa (Singh y Singh, 2004a) y sagú (Saartrat y col., 2005).

Los resultados obtenidos permitirían indicar que los almidones acetilados a 6 % y 8 % son más estables durante el almacenamiento refrigerado, ya que presentaron la capacidad de retener más agua (no desarrollaron sinéresis) y mantuvieron sus características (brillo, consistencia, transparencia).

Simsek y col. (2012) indican que los almidones acetilados mejoran la funcionalidad en los productos que requieren este tipo de almacenamiento.

6. Evaluación de la preferencia de las minitartaletas

El objetivo de esta sección fue evaluar la preferencia de un producto con los almidones acetilados obtenidos. Para ello se consideraron los resultados del "setback" (sección 2.2.5.1., Tabla 5) y del ensayo de sinéresis (sección 5.) y con base a los mismos, se concluyó que la modificación por acetilación realizada en este estudio sería ideal para productos refrigerados por 2 razones fundamentales: 1) menor tendencia a retrogradar de los almidones acetilados y 2) ausencia de sinéresis en sus geles durante el almacenamiento a bajas temperaturas.

Por las razones mencionadas anteriormente y tomando en consideración que se realizaría una evaluación sensorial del producto (prueba de comparación pareada por preferencia, sección 2.5.2.), se escogió, entre diversos productos refrigerados, a las minitartaletas con relleno elaborado con los almidones

acetilados obtenidos. Por un lado, el relleno de las minitartaletas es de refrigeración y la acetilación le conferiría al mismo una mayor estabilidad (hipótesis planteada al considerar los resultados de "setback" y sinéresis ya mencionados).

Asimismo, la selección del tipo de producto (minitartaleta) facilita la preparación e incluso la degustación del producto sin tantos utensilios, como cucharillas, vasos, etc., como podría necesitarse en otros tipos de productos refrigerados como pudines, natillas, cremas, etc. Además, no hay que fraccionar el producto para su servicio y su manejo es fácil, siempre y cuando se tomen las precauciones para ello.

Para el relleno de la minitartaleta se seleccionó el sabor a chocolate por su amplia y conocida aceptación en el público en general. Esto se realizó con la finalidad de atraer con mayor facilidad a los consumidores que participarían en el análisis sensorial previsto.

El siguiente paso fue seleccionar cuál(es) de los almidones acetilados se utilizaría(n) para preparar el relleno de las minitartaletas. Para facilitar la evaluación de la preferencia de las minitartaletas elaboradas, en vista que se trataba de un estudio en el que se tenía previsto que participaran 100 consumidores, se decidió elaborar el relleno con el almidón acetilado al 6 %. Esta selección se basó en su comportamiento durante el ensayo de sinéresis, el cual fue idéntico al del almidón acetilado al 8 % (sección 5.; Figura 27); es de hacer notar que con esta selección se obtuvo una ventaja adicional, la cual fue emplear el almidón con el menor porcentaje de anhídrido acético, lo que pudiera representar una reducción de costos de fabricación y, de paso, se estaría

logrando el mismo efecto desde el punto de vista de las propiedades funcionales del producto.

En cuanto a los resultados de la prueba de comparación pareada por preferencia realizada en las minitartaletas elaboradas con el almidón nativo y acetilado al 6 %, se tiene lo siguiente:

De los 100 consumidores participantes en la misma, 80 prefirieron la minitartaleta cuyo relleno fue elaborado con el almidón acetilado al 6 % y 20 prefirieron la minitartaleta con el relleno de almidón nativo; de acuerdo a la tabla de Roessler y col. (1978) (Anexo 2), para un $n = 100$ y nivel de significancia de 5 %, el número mínimo de respuestas concordantes para establecer preferencia es 61, por lo que la minitartaleta con el relleno elaborado con el almidón acetilado fue la más preferida a un nivel de significancia de 5%, ya que el valor de respuestas concordantes obtenido para este producto, es decir, 80, fue superior al valor tabular que fue 61.

Los comentarios más destacados y recurrentes sobre las minitartaletas de chocolate con relleno de almidón acetilado fueron las siguientes: “más sabrosa y más dulce”, “se le siente más el sabor a chocolate”, “más rica al paladar”, “sabor almendrado y menos amarga”, “más suave y de mejor consistencia”, “mejor apariencia y mayor brillo”.

Con base a los comentarios anteriores, podría indicarse que el almidón acetilado al 6 % le confirió una serie de atributos (mejor consistencia, textura, apariencia, y sabor) al relleno de las minitartaletas, los cuales fueron determinantes para su selección como la más preferida por el grupo de consumidores que las evaluaron.

La Figura 27 muestra las minitartaletas de chocolate presentadas a los consumidores participantes en este estudio. Se evidencia un mejor aspecto, consistencia y brillo en las minitartaletas elaboradas con el almidón acetilado, incluso el color (negro del cacao) era mucho más acentuado para las mismas en comparación a la minitartaleta elaborada con el almidón nativo de arroz.



FIGURA 27. Minitartaletas de almidón acetilado y nativo de arroz.

El mayor brillo, suavidad y consistencia del relleno de las minitartaletas con almidón acetilado al 6 % pudo deberse al mayor poder de hinchamiento y solubilidad que presentó el almidón acetilado, lo que generó una mayor viscosidad del relleno durante su cocción (sección 3.1; Figura 24 y sección 4.1.B; Tabla 5) y, con ello, una mejor apariencia y textura, además de la menor tendencia a retrogradar y de desarrollo de sinéresis de los mismos (sección 4.1.E. y 4.1.H.; Tabla 5 y sección 5), por lo cual se favorecería la suavidad, la apariencia y la palatabilidad de este relleno. El sabor más rico, dulce y menos amargo de las minitartaletas de chocolate con el almidón acetilado, se podría explicar por una mejor mezcla y solubilización de todos los ingredientes de la formulación durante el calentamiento, producto de la mayor hidratación y solubilización del almidón acetilado, tal y como se señaló con anterioridad.

Requena (2003) reportó los mejores atributos sensoriales (sabor, color, untabilidad, consistencia, consistencia refrigerada y consistencia congelada) en cremas pasteleras elaboradas con almidón de arroz acetilado al 8 %, al comparar con las cremas pasteleras que se prepararon con los almidones acetilados al 3 % y 6 %.

IX. CONCLUSIONES

- Se extrajo almidón de arroz partido como una fuente alternativa para la industria nacional, de alta pureza y a través de un proceso de extracción eficiente. En cuanto a sus propiedades físicas, fisicoquímicas y funcionales, las mismas fueron las características de este almidón, especialmente en lo que se refiere a su alta tendencia a retrogradar y aparición de sinéresis.

- En vista de lo anterior, la modificación por acetilación del almidón de arroz le proporcionó un valor agregado sin un cambio significativo en parámetros que se pueden asociar a sus atributos de calidad, como su composición química, pureza, color, tamaño y forma. Además de ello, los almidones obtenidos fueron de bajo grado de sustitución y, por ello, aptos para incorporarse en formulaciones alimenticias de acuerdo a la normativa vigente. Asimismo, presentan un mayor poder de hinchamiento, solubilidad y absorción de agua y una menor tendencia a la retrogradación y sinéresis.

- Los procedimientos de extracción y la acetilación del almidón fueron reproducibles, ya que los resultados de los distintos parámetros evaluados no mostró variabilidad entre lotes.

- Las propiedades físicas, químicas, fisicoquímicas y funcionales de los almidones acetilados estuvieron determinadas por su grado de sustitución y porcentaje de grupos acetilo.

- El hecho que los almidones acetilados obtenidos presenten menor temperatura de empaste, mayor viscosidad máxima, menor “setback” y sinéresis es importante para decidir su uso en formulaciones alimenticias con propiedades funcionales específicas.

- Se elaboró un producto tipo tartaleta con relleno de chocolate con el almidón acetilado al 6 %, el cual, por sus atributos de calidad, fue el más preferido por los participantes en el estudio de consumidores realizado.

X. Recomendaciones

- Se exhorta a realizar un estudio donde se extraiga el almidón de arroz de grano entero y se compare con el almidón proveniente de grano partido.

- Se recomienda acetilar el almidón de arroz a otros grados de sustitución para evaluar la influencia de la modificación en las propiedades físicas, químicas y funcionales de los almidones obtenidos.

- Se recomienda un estudio de estabilidad de los geles de almidones nativos y acetilados de arroz, que incluya análisis sensoriales y reológicos (perfil de textura y viscosidad) y estabilidad a los ciclos de congelación-descongelación,

- Se recomienda un estudio de estabilidad de los rellenos de las minitartaletas con almidones nativos y acetilados de arroz, que incluya análisis sensoriales, microbiológicos, reológicos (perfil de textura y viscosidad) y estabilidad a los ciclos de congelación-descongelación,

- En vista de los comentarios de los consumidores en cuanto al dulzor de las tartaletas con almidón acetilado, se recomienda realizar estudios donde se varíe la formulación del relleno y considere su impacto en la percepción del sabor y otros atributos sensoriales.

- Evaluar la digestibilidad “in vitro” e “in vivo” de los almidones nativos y acetilados de arroz.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AACC. 2004. Cereal laboratory methods of American Association of Cereal Chemists. St. Paul, Décima Edición, Minnesota, EE.UU.
2. Adebowale, K., Afolabi, T., Lawal, O. 2002. Isolation, chemical modification and physicochemical characterisation of Bambarra groundnut (*Voandzeia subterranean*) starch and flour. *Food Chem.* **78**: 305-311.
3. Adebowale, K. Lawal, O. 2003. Functional properties and retrogradation behavior of native and chemically modified starch of mucuna bean (*Mucuna pruriens*). *J. Sci. Food Agric.* **83**: 1541- 1546.
4. Adebowale, K., Olu-Owolabi, B., Olawumia, E., Lawal, O. 2005. Functional properties of native, physically and chemically modified breadfruit (*Artocarpus artilis*) starch. *Ind. Crop. Prod.* **21**: 343–351.
5. Adebowale, K., Afolabi, T., Olu-Owolabi, B. 2006. Functional, physicochemical and retrogradation properties of sword bean (*Canavalia gladiata*) acetylated and oxidized starches. *Carbohydr. Polym.* **65**: 93-101.
6. Afolabi, T., Olu-Owolabi, B., Adebowale, K., Lawal, O., Akintayo, C. 2011. Functional and tableting properties of acetylated and oxidised finger millet (*Eleusine coracana*) starch. *Starch* **64**: 326-337.
7. Anchundia, M., 2005. Obtención de almidón acetilado de batata (*Ipomoea batatas*): Caracterización y uso en la formulación de un producto alimenticio tipo pudín. Tesis de Licenciatura, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
8. Aristizábal, J., Sánchez. 2007. Guía técnica para la producción y análisis de almidón de yuca. Colecciones FAO, Primera Edición, Roma, Italia.

9. Armada, M., Corimayo, J., Jury, M., Margalef, M. 1994. Producción, caracterización y aplicaciones en alimentos de almidones modificados de maíz. *Inf. Tec.***5**:43-50.
10. Atwell, W., Hood, L., Lineback, D., Varriano, E. y Zobel, H. 1988. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal Foods World* **3**: 306-311.
11. Barrera, V., Brito, B., Caicedo, C., Córdova, J., Espin, S., Espinosa, P. 2004. Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. INIAP, Primera Edición, Quito, Ecuador.
12. Bello, J. 2000. Ciencia Bromatológica: Principios generales de los alimentos. Ediciones Díaz de Santos, Primera Edición, Madrid, España.
13. Bello-Pérez, L., Contreras-Ramos, S., Jiménez-Aparicio, A., Paredes-López, O. 2000a. Acetylation and characterization of banana (*Musa paradisiaca*) starch. *Acta Cient. Venez.* **51**: 143-149.
14. Bello- Pérez, L., Agama-Acevedo, E., Sayago- Ayerdi, S, Moreno- Damian, E. 2000b. Some structural, physicochemical and functional studies of banana starches isolated from two varieties growing in Guerrero, México. *Starch.* **52**: 68-73.
15. Bello- Pérez, L., Agama-Acevedo, E., Zamudio-Flores, P., Mendez- Montealvo, G. 2010. Effect of low and high acetylation degree in the morphological, physicochemical and structural characteristics of barley starch. *J. Food Sci. Technol.***43**: 1434- 1440.
16. Bennington, J. 2000. Diccionario enciclopédico del laboratorio clínico. Editorial Médica Panamericana, Primera Edición, Madrid, España.

17. Berski, W., Ptaszek, A., Ptaszek, P., Ziobro, R., Kowalski, G., Grzesik, M., Achremowicz, B. 2011. Pasting and rheological properties of oat starch and its derivatives. *Carbohydr. Polym.* **83**: 665-671.
18. Bratskaya, S., Schwarz, S., Petzold, G., Liebert, T., Heinze, T. 2006. Cationic starch of high degree of functionalization: Modification of cellulose fibers toward high filler technology in papermaking. *Ind. Eng. Chem. Res.* **45**: 7374-7379.
19. Caravaca, F., Castel, J., Guzmán., Delgado, M., y González, P. 2003. Bases de la Producción animal. Serie manuales universitarios, Primera Edición, Sevilla, España.
20. Clemente, G. 2005. Modificación de almidón de arroz (*Oryza sativa*) por pirodextrinización, entrecruzamiento e irradiación con microondas. Tesis de Maestría, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
21. Cubero, N., Monferrer, A., Villalta, J. 2002. Aditivos Alimentarios. Mundi-Prensa Libros, Primera Edición, Madrid, España.
22. COVENIN. 1999. Norma Venezolana de arroz blanco de grano largo. N° 1641. Caracas, Venezuela.
23. Fiszman, S., Salvador, A. 2005. Las medidas de algunas propiedades físicas de los alimentos y su correlación con las medidas sensoriales. Págs. 97-111 en: G. Hough y S. Fiszman, (eds), Estimación de la vida útil sensorial de alimentos. Programa CYTED, Primera Edición, Madrid, España.
24. González, Z. Pérez, E. 2002. Effect of acetylation on some properties of rice starch. *Starch* **54**: 148-154.
25. González, Z., Pérez, E. 2003. Evaluación fisicoquímica y funcional de almidones de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) pregelatinizados y calentados con microondas. *Acta Cient. Venez.* **54**: 127-137.

26. Greenish, H. 2006. Being and account of the more important crude drugs of vegetable and animal origin. J. & A. Churchill, Tercera edición, Londres, Inglaterra.
27. Gunaratne, A., Corke., H. 2007. Influence of prior acid treatment on acetylation of wheat, potato and maize starches. *Food Chem.***105**:917-925.
28. Han, F., Liu, M., Gong, H., Lü, S., Ni, B., Zhang, B. 2012. Synthesis, characterization and functional properties of low substituted acetylated corn starch. *International Journal of Biological Macromolecules.* **50**:1026- 1034
29. Heins, D., kulicke, W., Kauper, P., Thielking, H., 1998. Characterization of acetyl starch by means of MNR spectroscopy and SEC/MALLS in comparasion with hydroxyethyl starch. *Starch.* **50**: 431-437.
30. Hoover, R., Zhou, Y. 2003. In vitro and in vivo hydrolysis of legume starches by α - amylase and resistant starch formation in legumes. *Carbohydr. Polym.* (54) 401-417.
31. Huang, J., Schols H., Klaver, R., Jin, Z., Sulmann, E., Voragen, A. 2007. Characterization of differently sized granule fractions of yellow pea, cowpea and chickpea starches after modification with acetic anhydride and vinyl acetate. *Carbohydr. Polym.* **67**: 11-20.
32. Kruger, L. y Rutenberg, M. 1967. Production and uses of starch acetates in "Starch: Chemistry and technology". Whistler, R. y Paschall, E. Eds. Academic Press. Inc., Primera Edición, New York, EE.UU.
33. Lawal, O. 2004. Succinyl and acetyl starch derivatives of a hybrid maize: physicochemical characteristics and retrogradation properties monitored by differential scanning calorimetry. *Carbohydr. Res.* **339**: 2673- 2862.

34. Lawal, O., Adebawale, K. 2005. Physicochemical characteristics and thermal properties of chemically modified jack bean (*Canavalia ensiformis*) starch. *Carbohydr. Polym.* **60**: 331-341.
35. Lopez, O., Zaritzky, N., García, M. 2010. Physicochemical characterization of chemically modified corn starches related to rheological behavior retrogradation and film forming capacity. *J. Food Eng.* **100**: 160-168.
36. Mbougoung, P., Tenin, D., Scher, J., Tchiegang, C. 2009. Influence of acetylation on physicochemical, functional and thermal properties of potato and cassava starches. *Journal of food engineering.* 108: 320-326.
37. Meilgaard, M., Civille, G., Carr, B. 2007. Sensory evaluation techniques. CRC Press, Inc., Cuarta edición, Boca Ratón, E.U.A.
38. Miladinov, V., Hanna, M., 2000. Starch esterification by reactive extrusion. *Elsevier Sci.*, **11**: 51-57.
39. Mirmoghtadaie, L., Kadivar, M., Shahedi, M. 2009. Effects of cross- linking and acetylation on oat starch properties. *Food Chem.* **116**: 709- 713.
40. Mua, J., Jackson, D. 1997. Fine structure of corn amylase and amilopectin fractions with various molecular weights. *J. Agric. Food Chem.* **45**: 3843-3847.
41. Osundahunsi, O., Mueller, R. 2010. Functional and dynamic rheological properties of acetylated starches from two cultivars of cassava. *Starch.* **63**: 3-10.
42. Ottenhof, M. 2003. A multi- technique study of the retrogradation of concentrated starch systems. Ph.D. Thesis. División of food science. University of Nottingham, UK.
43. Paredes, J. 2005. Modificación del almidón de arroz por los métodos de acetilación y deshidratación por doble tambor y su aplicación en un yogurt firme

con fruta. Tesis de Postgrado, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

44. Patindol, J., Wang, Y., Jane, J. 2005. Structure- functionality changes in starch following rough rice storage. *Starch*. **5**: 197-207.

45. Perez, S., Bertoft, E. 2010. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. *Starch*. **62**: 389- 420.

46. Pereira, D. 2004. Caracterización de almidones provenientes de diferentes variedades de arroz. Tesis de Maestría, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

47. Potter, M., Wiggert, D. Mecánica de fluidos.2002. Editorial Thomson, tercera edición, México.

48. Ratnayake, W., Jackson, D. 2006. Gelatinisation and solubility of corn starch during heating in excess water. *J. Agric. Food Chem.* **54**: 3712-3716.

49. Requena, F. 2003. Efecto del grado de acetilación sobre las propiedades fisicoquímicas y reológicas del almidón de arroz (*Oryza sativa L.*). Tesis de Licenciatura, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

50. Rincón, A., Bou Rached, L., Aragoza, L., Padilla., F. 2007. Efecto de la acetilación y oxidación sobre algunas propiedades del almidón de semillas de Fruto de pan (*Artocarpus altilis*). *Arch Latinoamer Nutr.* **57**:287-294.

51. Rodríguez, P., González, G. 2001. Calorimetría diferencial de barrido y rayos X del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada. *Superf. Vac.* **13**: 61-65.

52. Roessler, E., Pangborn, R., Sidel, J., Stone, H. 1978. Expanded statistical tables for estimating significance in paired-preference, paired-difference, duo-trio and triangle tests. *J. Food Sci.* **43**: 940-943, 947.

53. Salama, A. 2005. Manual de Farmacognosia: análisis microscópico y fitoquímico, y usos de plantas medicinales. Publicaciones Universidad Nacional de Colombia, Primera Edición, Bogotá, Colombia.
54. Saartrat, S., Puttanlek, Ch., Rungsarclthong, V., Uttapap, D. Paste and gel properties of low substituted acetylated canna starches. 2005. *Carbohydrate polymers*. **61**: 211-221.
55. Sánchez-Rivera, M., García-Suárez, F., Velázquez, M., Gutiérrez-Meraz, F., Bello-Pérez, L. 2005. Partial characterization of banana starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. *Carbohydr. Polym.* **62**:50-56.
56. Sandoval, A; Farhat, I; Fernandez, A. 2007. Comportamiento reológico de harinas y almidones de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) durante un proceso de extrusión. *Rev. Fac. Quím. Farm.* **14**: 6-15.
57. Schoch, T. 1964. Fatty substances in starch. En: "Methods in Carbohydrate Chemistry", Whistler, R. L. Ed. Academic Press. Nueva York, EE.UU.
58. Sierra, I., Morante, S., Pérez, D.2007. Experimentación en química analítica. Editorial Dykinson, Primera Edición, Madrid, España.
59. Simsek, S., Ovando, M., Whitney, K., Bello, L. 2012. Effect of acetylation, oxidation and annealing on physicochemical properties of bean starch. *Food Chem.* **134**: 1796- 1803.
60. Singh, N., Chawla, D., Singh, J. 2003. Influence of acetic anhydride on physicochemical, morphological and thermal properties of corn and potato starch. *Food Chem.* **86**:601-608.
61. Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Singh, S., Singh, G. 2004a. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chem*, **81**:219-231.

62. Singh, J., Kaur, L., Singh, N. 2004b. Effect of acetylation on some properties of corn and potato starches. *Starch* **56**: 586-601.
63. Singh, N., Singh, N. 2005. Characteristics of acetylated starches prepared using starches separated from different rice cultivars. *J. Food Eng.* **70**: 117- 127.
64. Singh, J., Kaur, L., McCarthy, O. 2007. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications—A review. *Food Hydroc.* **21**:1-22.
65. Singh, H., Chang, Y.-H., Singh, N., Singh, N. 2011. Influence of prior acid treatment on physicochemical and structural properties of acetylated sorghum starch. *Starch* **63**: 291-301.
66. Smith R. 1967. Characterization and analysis of starch. In: *Starch: Chemistry and Technology* Vol. II. Ed. Whistler RL, Paschall EF Academic Press, Nueva York, UU.EE.
67. Tabora, J. 2005. Evaluación del uso del almidón de arroz nativo (*Oryza sativa*) de variedad comercial como mimético de grasa en un producto tipo "Helado cremoso". Tesis de postgrado, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
68. Thomas, D., Atwell, W. 1999. *Starches: Critical guides for the food industry*. Eagan Press Handbook series, Primera edición, Minnesota, EE.UU.
69. Wani, A., Singh, P., Shah, M., Schweiggert-Weisz, U., Gul, K., Wani, I. 2012 a. Rice starch diversity: effects on structural, morphological, thermal, and physicochemical properties—A review. *Compr. Rev. Food Sci. F.* **11**: 417-436.
70. Wani, I., Dalbir, S., Gill, B. 2012 b. Physicochemical properties of acetylated starches from some Indian Kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *International J. Food Sci. Technol.* 1-7.

70. Whistler, R., BeMiller, J. 1999. Carbohydrate chemistry for food scientist. Eagan press, Primera Edición, Minnesota, EE.UU.
71. Wurzburg, O. 1964. Acetylation en “Methods in Carbohydrate Chemistry”, Whistler, R.L., Editor. Academic Press, Nueva York, UU.EE.
72. Wurzburg, O. 1995. Modified Starches. En: Alistair, M. Food Polysaccharides and Their Applications. Editorial Board, New York.
73. Xie, F., Yu, L., Liu, H., Chen, L. 2006. Starch modification using reactive extrusion. *Starch*. **58**: 131-139.
74. Xu, Y., Miladinov, V., Hanna, M. 2004. Starch acetate- maleate ester synthesis and characterization. *Cereal Chem.* **82**: 336-34

XII. ANEXOS

Anexo 1. Cálculo de la cantidad de anhídrido acético utilizada para modificar el almidón de arroz.

A. Cálculo de la cantidad (mL) de anhídrido acético para el almidón acetilado al 6 % de este reactivo.

6 % de anhídrido acético equivale a 6 g de anhídrido acético por 100 g de almidón.

Para una muestra de almidón nativo de arroz de 162 g se tiene lo siguiente:

$$162 \text{ g de almidón} \times \frac{6 \text{ g de anhídrido acético}}{100 \text{ g de almidón}} = 9,72 \text{ g de anhídrido acético}$$

Luego, con la pureza del reactivo, que en este caso fue 99,4 % se calculan los mililitros de anhídrido acético:

$$9,72 \text{ g de anhídrido acético} \times \frac{99,4 \text{ g de anhídrido acético}}{100 \text{ g de solución}} = 9,77 \text{ mL de anhídrido acético}$$

B. Cálculo de cantidad (mL) de anhídrido acético para almidón acetilado al 8 % de este reactivo.

8 % de anhídrido acético equivale a 8 g de anhídrido acético por 100g de almidón.

Para una muestra de almidón nativo de arroz de 162 g se tiene lo siguiente:

$$162 \text{ g de almidón} \times \frac{8 \text{ g de anhídrido acético}}{100 \text{ mL de almidón}} = 12,96 \text{ g de anhídrido acético}$$

Luego, con la pureza del reactivo, que en este caso fue de 99,4 %, se tienen los mililitros de anhídrido acético:

$$12,96 \text{ g de anhídrido acético} \times \frac{99,4 \text{ g de anhídrido acético}}{100 \text{ mL de solución}} = 13 \text{ mL de anhídrido acético}$$

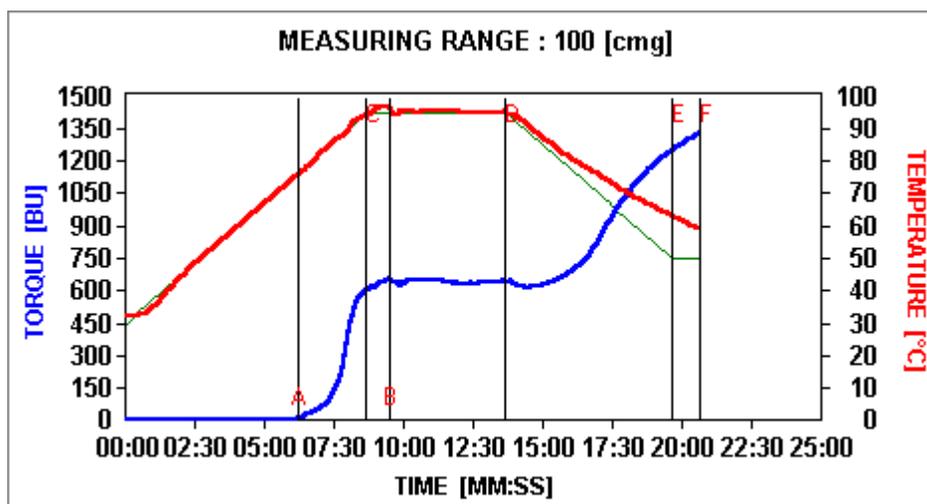
Anexo 2. Tabla del número mínimo de respuestas concordantes necesarias para establecer significancia a varios niveles de probabilidad para la prueba de comparación pareada por preferencia (Roessler y col., 1978).

Table 3—Minimum numbers of spacing judgments necessary to establish significance at various probability levels for the paired-preference test (two-tailed, $p = \frac{1}{2}$)^a

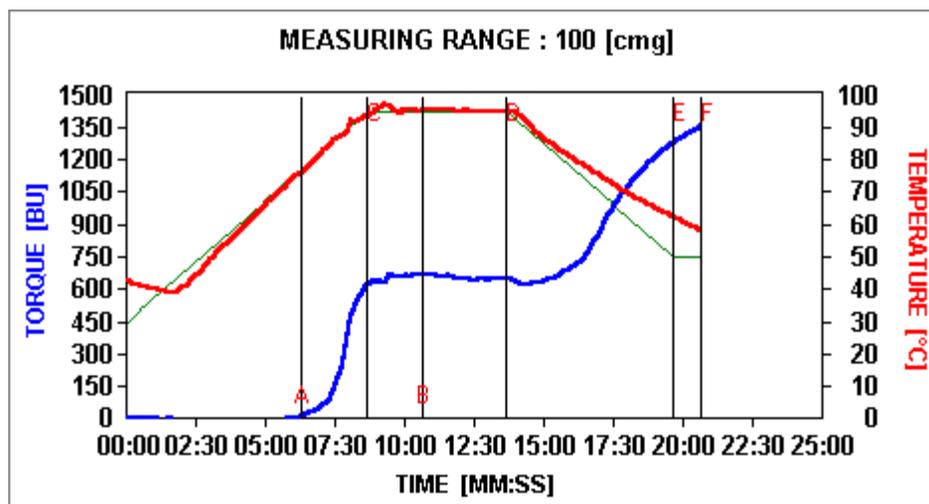
No. of trials (n)	Probability levels						
	0.05	0.04	0.03	0.02	0.01	0.005	0.001
7	7	7	7	7			
8	8	8	8	8	8		
9	8	8	9	9	9	9	
10	9	9	9	10	10	10	
11	10	10	10	10	11	11	11
12	10	10	11	11	11	12	12
13	11	11	11	12	12	12	13
14	12	12	12	12	13	13	14
15	12	12	13	13	13	14	14
16	13	13	13	14	14	14	15
17	13	14	14	14	15	15	16
18	14	14	15	15	15	16	17
19	15	15	15	15	16	16	17
20	15	16	16	16	17	17	18
21	16	16	16	17	17	18	19
22	17	17	17	17	18	18	19
23	17	17	18	18	19	19	20
24	18	18	18	19	19	20	21
25	18	19	19	19	20	20	21
26	19	19	19	20	20	21	22
27	20	20	20	20	21	22	23
28	20	20	21	21	22	22	23
29	21	21	21	22	22	23	24
30	21	22	22	22	23	24	25
31	22	22	22	23	24	24	25
32	23	23	23	23	24	25	26
33	23	23	24	24	25	25	27
34	24	24	24	25	25	26	27
35	24	25	25	25	26	27	28
36	25	25	25	26	27	27	29
37	25	26	26	26	27	28	29
38	26	26	27	27	28	29	30
39	27	27	27	28	28	29	31
40	27	27	28	28	29	30	31
41	28	28	28	29	30	30	32
42	28	29	29	29	30	31	32
43	29	29	30	30	31	32	33
44	29	30	30	30	31	32	34
45	30	30	31	31	32	33	34
46	31	31	31	32	33	33	35
47	31	31	32	32	33	34	36
48	32	32	32	33	34	35	36
49	32	33	33	34	34	35	37
50	33	33	34	34	35	36	37
60	39	39	39	40	41	42	44
70	44	45	45	46	47	48	50
80	50	50	51	51	52	53	56
90	55	56	56	57	58	59	61
100	61	61	62	63	64	65	67

^a Values (X) not appearing in table may be derived from:
 $X = (z \sqrt{n} + n + 1)/2$. See text.

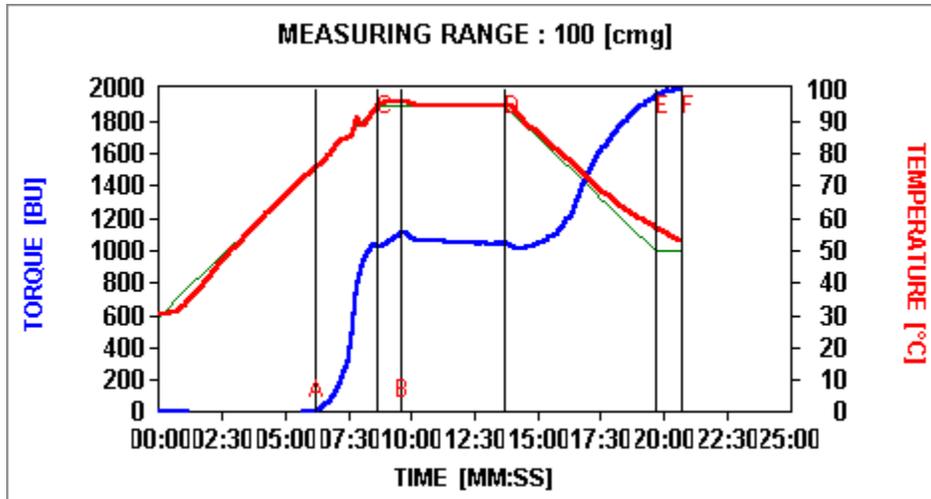
Anexo 3. Amilogramas de los almidones de arroz.



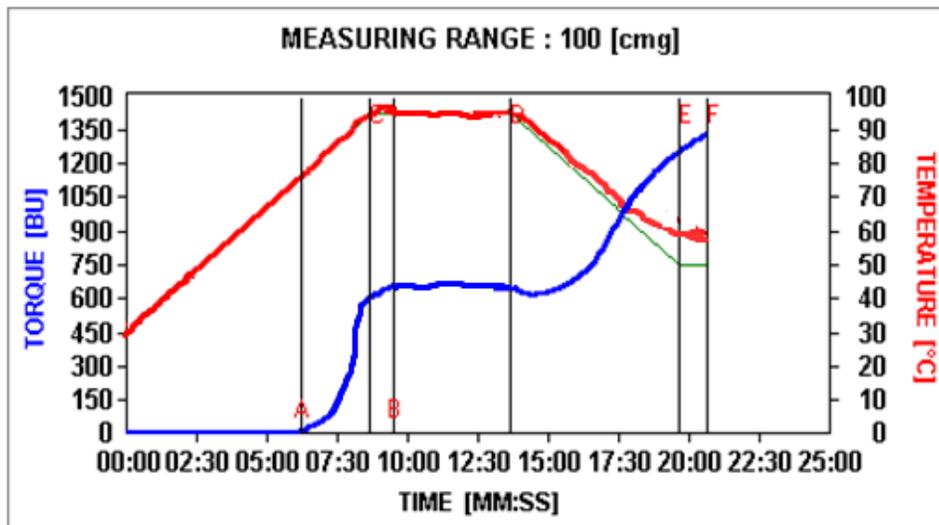
Anexo 3.1. Amilograma del almidón de arroz nativo del primer lote (Réplica 1).



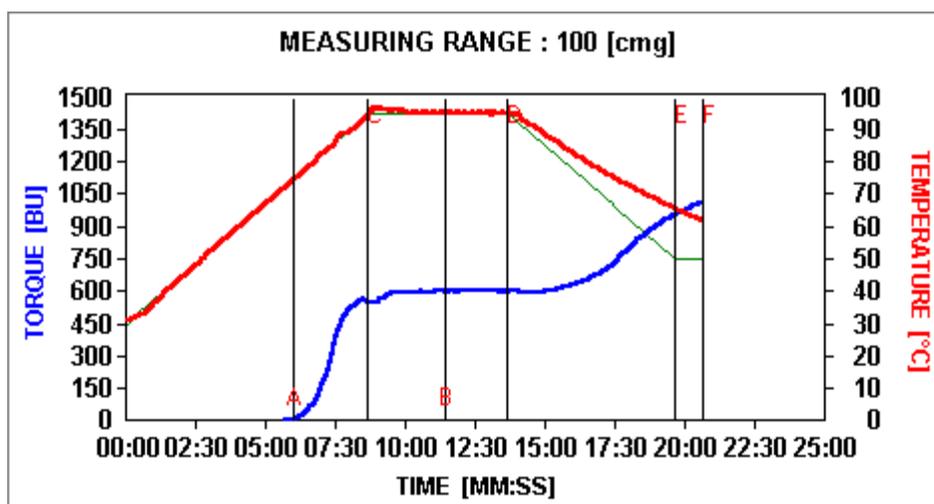
Anexo 3.2. Amilograma del almidón de arroz nativo del primer lote (Réplica 2).



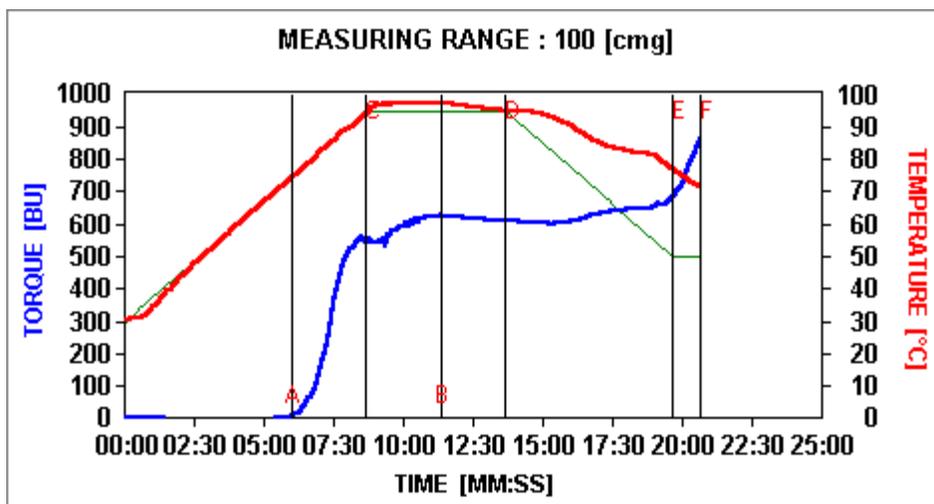
Anexo 3.3. Amilograma del almidón de arroz nativo del segundo lote (Réplica 1).



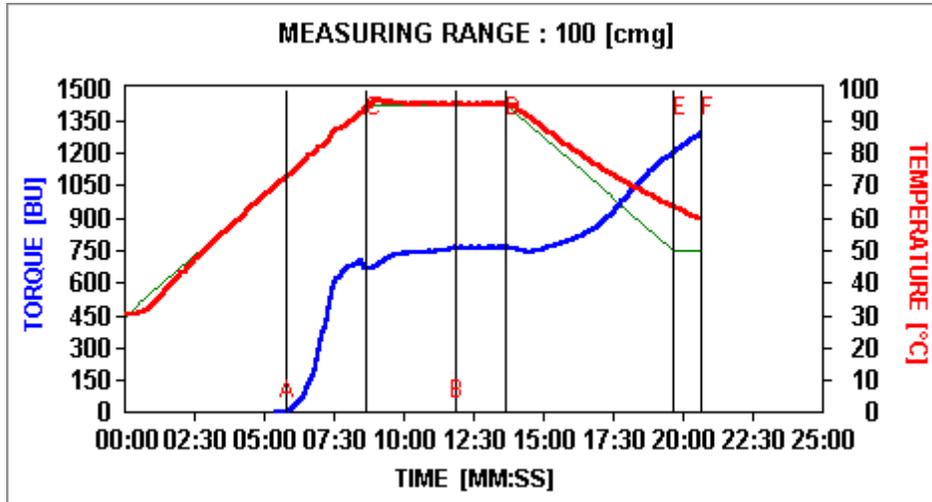
Anexo 3.4. Amilograma del almidón de arroz nativo del segundo lote (Réplica 2).



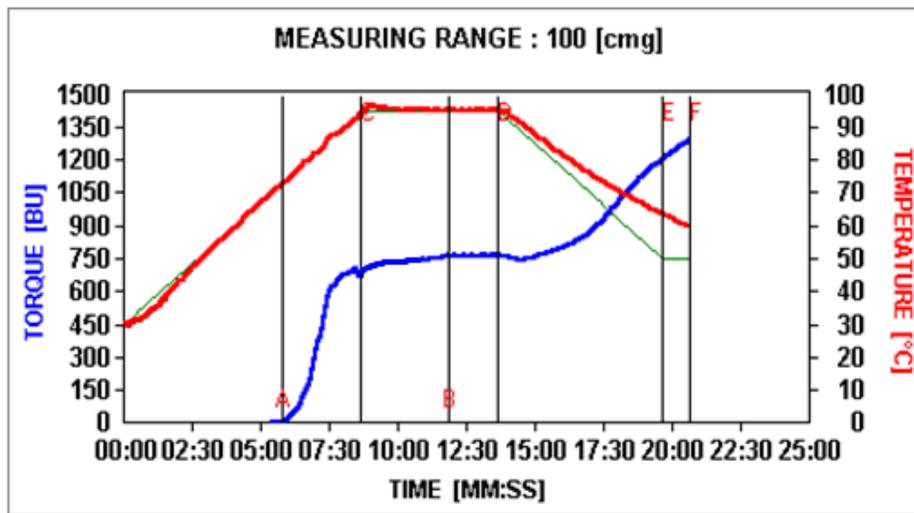
Anexo 3.5. Amilograma del almidón de arroz acetilado al 6 % del primer lote (Réplica 1).



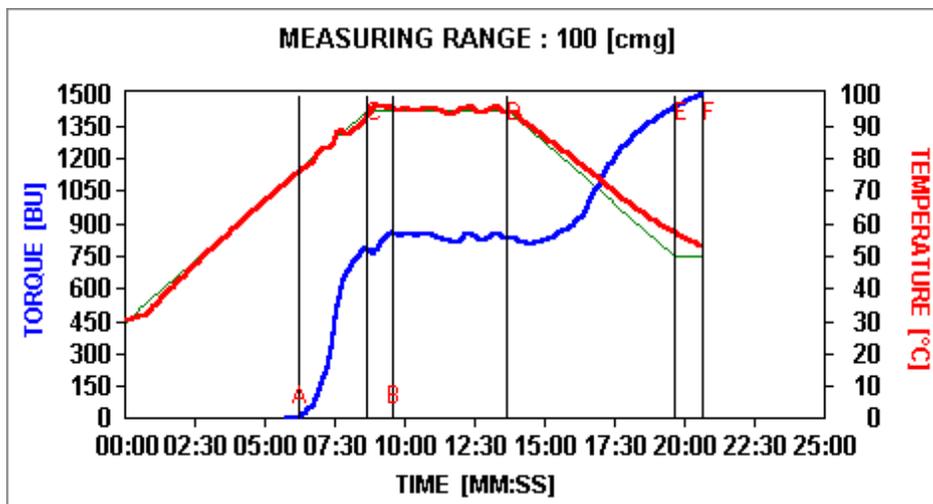
Anexo 3.6 Amilograma del almidón de arroz acetilado al 6 % del primer lote (Réplica 2).



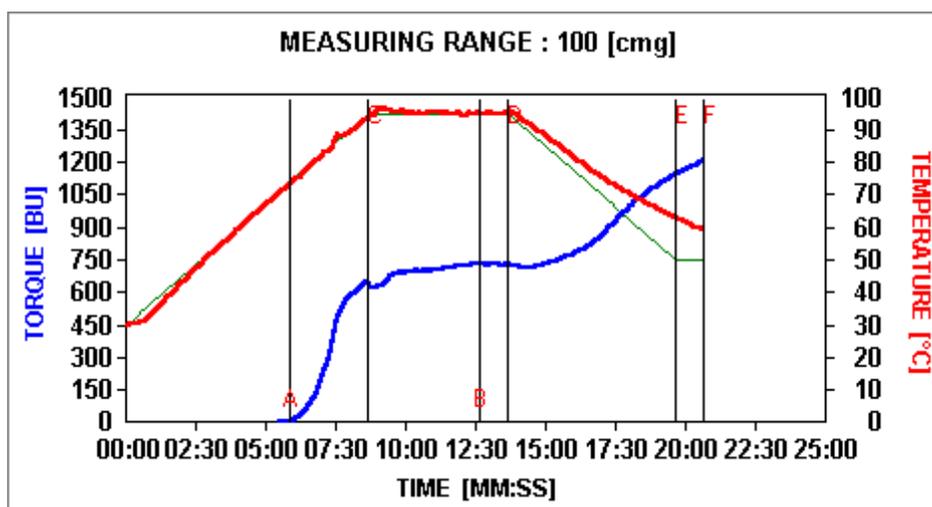
Anexo 3.7. Amilograma del almidón de arroz acetilado al 6 % del segundo lote (Réplica 1).



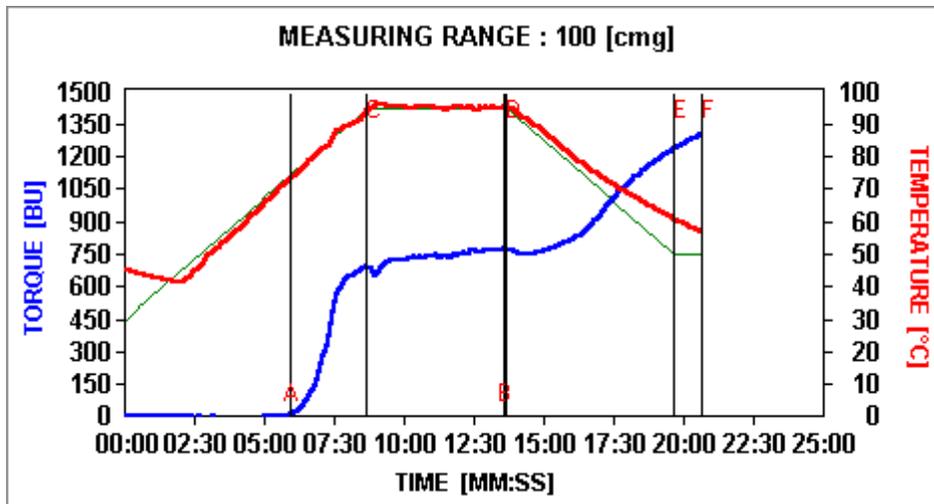
Anexo 3.8. Amilograma del almidón de arroz acetilado al 6 % del segundo lote (Réplica 2).



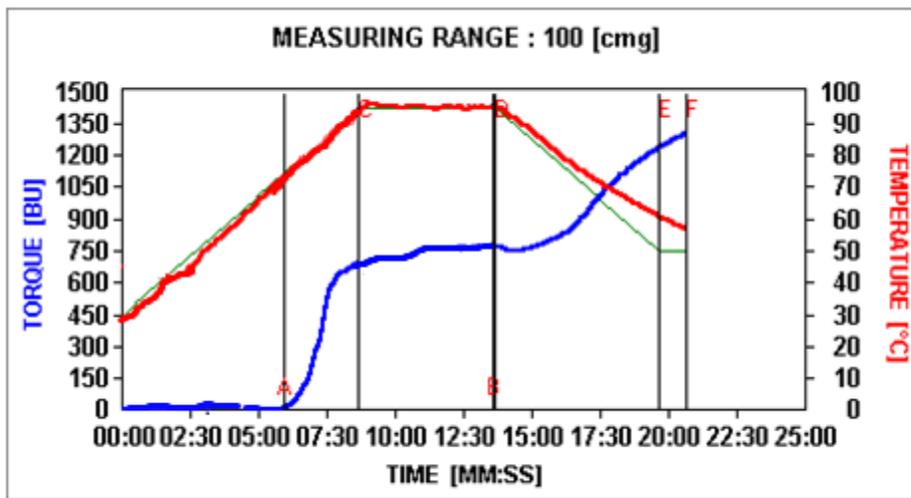
Anexo 3.9. Amilograma del almidón de arroz acetilado al 8 % del primer lote (Réplica 1).



Anexo 3.10. Amilograma del almidón de arroz acetilado al 8 % del primer lote (Réplica 2).



Anexo 3.11. Amilograma del almidón de arroz acetilado al 8 % del segundo lote (Réplica 1).



Anexo 3.12. Amilograma del almidón de arroz acetilado al 8 % del segundo lote (Réplica 2).