



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

**Digestibilidad *in vitro* y aprovechamiento por el gorgojo de arroz
(*Sitophilus oryzae* L.) de almidones de apio (*Arracacia
xanthorrhiza* B.) y de mapuey (*Dioscorea trifida* L.)**

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Presentado ante la Ilustre Universidad Central de Venezuela, por el bachiller **Roosevelt José Balza Alayón** como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Biología.

Tutor: Dr. Alexander Laurentin

CARACAS, VENEZUELA

Mayo – 2018

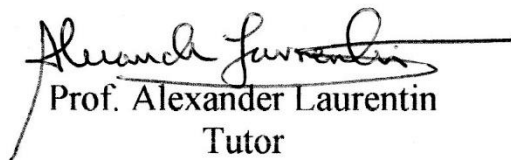
**DEL EXAMEN PÚBLICO Y SOLEMNE DEL TRABAJO ESPECIAL
DE GRADO DEL (LA) Br. Roosevelt José Balza Alayón**

Quienes suscribimos, miembros del jurado evaluador designado por el Consejo de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela para examinar el Trabajo Especial de Grado del (la) Br. Roosevelt José Balza Alayón, C.I: 20.802.364, titulado "**Digestibilidad *in vitro* y aprovechamiento por el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.) de almidones de apio (*Arracacia xanthorrhiza* B.) y de mapuey (*Dioscorea trifida* L.)**", para optar al título de Licenciado(a) en Biología, considerando que el trabajo cumple con los requisitos exigidos en los reglamentos respectivos lo consideramos **APROBADO**.

Para dar fe de ello se levanta la presente acta en la ciudad de Caracas, a los veintidós días del mes de mayo del año dos mil dieciocho, dejando constar que el profesor Alexander Laurentin actuó como Coordinador del jurado examinador.


Prof. Romel Guzmán
Jurado


Prof. Zurima González
Jurado


Prof. Alexander Laurentin
Tutor

DEDICATORIA

A mis padres:

Por siempre escucharme y darme sus sabios consejos de vida, los amo.

A mi novia:

Por siempre escucharme y luego aconsejarme de una forma que solo ella podría hacerlo.

A mi tutor:

Por ser una persona sincera conmigo y hacerme llamados de atención que eran necesarios
para encaminarme de forma más clara en la vida.

*“La verdadera ignorancia no es la ausencia de conocimientos, sino el hecho de negarse a
adquirirlos”*

Karl Popper

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la oportunidad de estar presente en este mundo y gozar de vida y salud.

A mis padres Antonio y Teresa:
Por todas sus enseñanzas, apoyo y amor incondicional.

A mi novia Daniela Al'Nair:
Por ser mi persona y una compañera de vida excepcional, junto a ella todo es posible en esta y en cualquier otra vida... si la hay, te amo.

A mi tutor el Dr. Alexander Laurentin:
Por su confianza, consejos, compromiso y ayudarme tanto en mi crecimiento personal y profesional, sin esperar nada a cambio más que mi seriedad y responsabilidad.

A mis jurados Romel y Zurima:
Sus opiniones, observaciones y comentarios serán siempre apreciados.

A mis tíos Nilda y Guillermo:
Quienes a pesar estar lejos siempre me han brindado su apoyo y cariño incondicional.

A mi excelente compañero de laboratorio José Sánchez:
Por su cooperación y compañerismo sincero en el trabajo de laboratorio.

A mi compañera de laboratorio Esthefany:
Por su apoyo y compañía en el laboratorio.

A la profesora Maira Oropeza por su confianza y atención.

A la profesora Carolina por su ayuda.

A todos los miembros de la comunidad IBE y mis compañeros de la universidad.

A la Corporación para el Desarrollo Científico y Tecnológico (CODECYT S.A):
Quienes depositaron su confianza en mí ofreciéndome un contrato y la oportunidad de trabajar junto a ellos en el proyecto LOCTI No. 2013000618.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1. El almidón	1
1.1 Composición química del almidón	1
1.2 Clasificación nutricional del almidón	3
1.3 Biodisponibilidad del almidón	7
1.4 Digestión y fermentación del almidón	8
2. Aspectos generales del apio	10
3. Aspectos generales del mapuey	11
4. Utilización del gorgojo de arroz en bioensayos en estudios nutricionales	15
II. ANTECEDENTES	17
1. Almidón de apio (<i>A. xanthorrhiza</i>)	17
2. Almidón de mapuey (<i>D. trifida</i>)	20
3. El gorgojo del arroz como modelo biológico en estudios nutricionales	22
III. OBJETIVOS	24
1. Objetivo General	24
2. Objetivos Específicos	24
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	25
1. Aislamiento del almidón de apio	26
2. Composición química de los almidones	27
2.1 Humedad	27
2.2 Proteína cruda	27
2.3 Ceniza	28
2.4 Almidón total	28
3. Digestibilidad <i>in vitro</i>	29
3.1 Almidón disponible	29
3.2 Tasa de α -amilólisis <i>in vitro</i>	29
3.3 Almidón resistente total	30
4. Digestibilidad <i>in vivo</i>	31
4.1 Mantenimiento de la población de insectos en el laboratorio	31
4.2 Preparación de las dietas experimentales	32
4.3 Preparación de los cultivos para el bioensayo	32
4.4 Selección de los individuos para el bioensayo	32
4.5 Bioensayo del gorgojo de arroz	33
4.6 Estimación de la supervivencia y la variación de peso de los insectos	34
4.7 Estimación de la actividad similar a α -amilasa	34
4.8 Estimación de la excreción de ácido úrico	35
5. Análisis estadístico	36
6. Financiamiento	36
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
1. Composición química de los almidones de apio y de mapuey	37
2. Digestibilidad <i>in vitro</i> de los almidones de apio y de mapuey	40
2.1 Almidón disponible	40
2.2 Tasa de α -amilólisis <i>in vitro</i>	41
2.3 Almidón resistente total	47
3. Digestibilidad <i>in vivo</i> de los almidones de apio y de mapuey	49

3.1	Supervivencia y variación de peso del gorgojo de arroz en la condición de ayuno, condición alimentada y la referencia	50
3.2	Supervivencia del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio y de mapuey	54
3.3	Variación de peso del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio y de mapuey	58
3.4	Actividad similar a α -amilasa del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio y de mapuey	62
3.5	Excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio y de mapuey	67
4.	Consideraciones finales	73
VI.	CONCLUSIONES	75
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación nutricional del almidón.	4
Tabla 2.	Información sobre la colecta de raíces y tubérculos utilizados para aislar el almidón	25
Tabla 3.	Composición química de los almidones de apio y de mapuey.....	38
Tabla 4.	Contenido de almidón disponible en los almidones de apio y de mapuey	40
Tabla 5.	Velocidad inicial y magnitud final de la tasa de α -amilólisis <i>in vitro</i> de los almidones de apio y de mapuey	45
Tabla 6.	Contenido de almidón resistente total de los almidones de apio y de mapuey	47
Tabla 7.	Peso promedio inicial, final y variación de peso de los insectos durante el bioensayo.....	60
Tabla 8.	Actividad similar a α -amilasa del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio y de mapuey.....	63
Tabla 9.	Excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio	68
Tabla 10.	Excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de mapuey	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura de la amilosa y de la amilopectina.	2
Figura 2.	Organización de la amilopectina dentro de un gránulo de almidón.	3
Figura 3.	Apariencia externa e interna (sección transversal) de tubérculos de <i>Dioscorea trifida</i> :	13
Figura 4.	Cinética de hidrólisis <i>in vitro</i> de los almidones crudos de apio y mapuey.....	43
Figura 5.	Cinética de hidrólisis <i>in vitro</i> de los almidones gelatinizados de apio y de mapuey.....	44
Figura 6.	Supervivencia del gorgojo de arroz en la condición de ayuno, condición alimentada y la referencia.	51
Figura 7.	Variación de peso del gorgojo de arroz en la condición de ayuno, condición alimentada y en la referencia	51
Figura 8.	Supervivencia del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio y de mapuey	55
Figura 9.	Variación de peso del gorgojo de arroz alimentado con almidones de apio y de mapuey.....	59

RESUMEN

El apio (*Arracacia xanthorrhiza* B.) y el mapuey (*Dioscorea trifida* L.) son cultivos ricos en almidón. En el presente estudio se caracterizó nutricionalmente el almidón crudo presente en tres variedades de apio (comercial, cacho de buey amarillo y quiroreño) y en tres variedades de mapuey (blanco, morado liso y morado rugoso); evaluando la digestibilidad *in vitro* (almidón disponible, tasa de α -amilólisis y almidón resistente total) y la digestibilidad *in vivo* mediante el bioensayo del gorgojo de arroz, *Sitophilus oryzae* L. (supervivencia al día 8, variación de peso al día 8, actividad similar a α -amilasa y excreción de ácido úrico). Se encontró que los almidones de apio y de mapuey presentan un porcentaje de almidón disponible mayor que 90% (b.s.), la tasa de α -amilólisis en apio fue alta (6 – 12% a los 60 minutos) y muy baja (1 – 3%) en mapuey. El tenor de almidón resistente total en apio fue alto (13 – 18%; b.s.) y muy alto en mapuey (40 – 44%). En los almidones de apio, el biomarcador actividad similar a α -amilasa correlacionó ($p < 0,05$) con la velocidad inicial y la magnitud final de hidrólisis, mientras que, el biomarcador excreción de ácido úrico correlacionó con el almidón disponible ($p < 0,05$). En los almidones de mapuey, los biomarcadores variación de peso al día 8, actividad similar a α -amilasa y excreción de ácido úrico correlacionaron ($p < 0,05$) con el almidón resistente total. Según los biomarcadores evaluados, los almidones de apio y de mapuey son de alta y de baja digestibilidad, respectivamente. El apio quiroreño parece ser más digerible que el cacho de buey amarillo y el comercial. Por su parte, el mapuey morado (liso y rugoso) es menos digerible que el mapuey blanco.

Palabras clave: raíz, tubérculo, almidón, almidón resistente, biodisponibilidad, bioensayo, insecto, biomarcador, supervivencia, variación de peso, actividad α -amilolítica, ácido úrico.

I. INTRODUCCIÓN

1. El almidón

El almidón es un polímero natural que aparece en todos los organismos vegetales. Es el componente principal de la mayor parte de productos alimenticios y piensos derivados de vegetales, así como de numerosos materiales industriales crudos. El almidón es un polisacárido compuesto de cadenas de residuos de glucosa enlazados por unión glucosídica (Leszczyński, 2004). En los organismos vegetales, aparece como gránulos que proveen un medio económico de almacenamiento de carbohidratos de una forma insoluble y fuertemente empaquetada, pero aún accesible a las enzimas metabólicas de la planta (Imberty y col., 1991).

1.1 Composición química del almidón

Químicamente los almidones son polisacáridos, compuestos de un número de moléculas de glucosa unidas por enlaces de tipo $\alpha(1\rightarrow4)$ y de tipo $\alpha(1\rightarrow6)$. El almidón se constituye de dos polisacáridos principales, amilosa y amilopectina (**Figura 1**). Ambos se basan en uniones $\alpha(1\rightarrow4)$ de moléculas de D-Glucosa, pero mientras que la amilosa es esencialmente lineal (Parker y Ring, 2001), presenta en promedio unos 500 monómeros de glucosa por cadena y tiene un peso molecular de $10^5 - 10^6$ g/mol (Takeda y col., 1989); la amilopectina, que también posee una elevada masa molecular ($10^7 - 10^9$ g/mol), está muy ramificada. Los puntos de ramificación (ubicados cada 24 a 30 residuos) son enlaces $\alpha(1\rightarrow6)$ (Sajilata y col., 2006). La amilosa y la amilopectina pueden disponerse en una estructura semicristalina que forma la matriz del gránulo, compuesto de láminas amorfas y cristalinas alternadas, las cuales son conocidas como anillos de crecimiento (**Figura 2**).

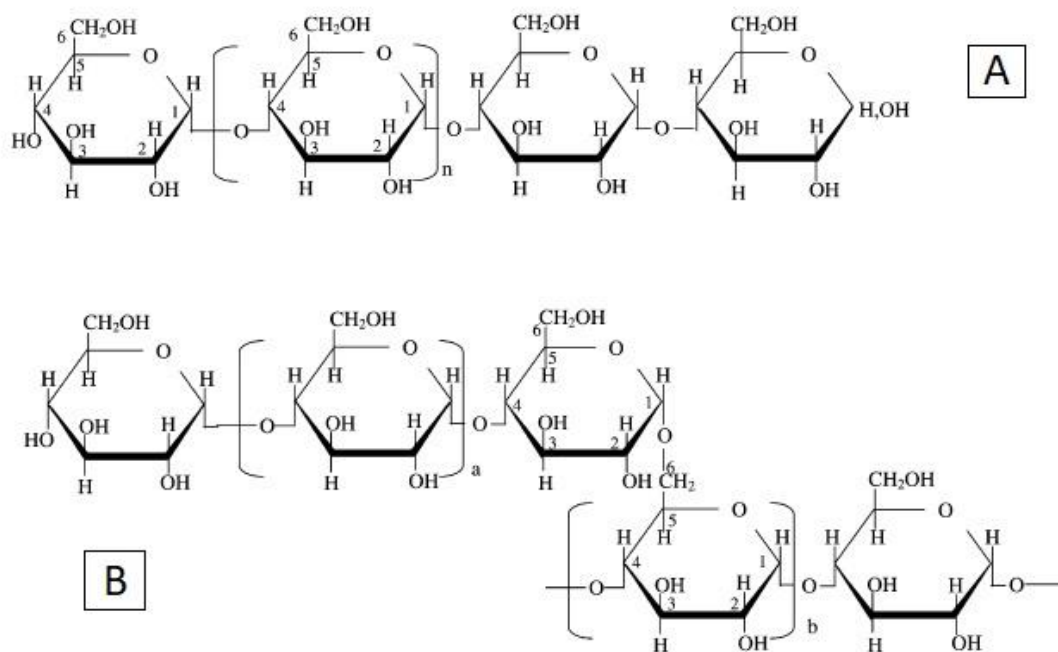


Figura 1. Estructura de la amilosa y de la amilopectina.

A: Amilosa ($\alpha 1 \rightarrow 4$ -glucano); $n = 1000$ cadenas en promedio. La molécula lineal puede poseer ocasionalmente algunas cadenas moderadamente largas, unidas por enlaces $\alpha 1 \rightarrow 6$.

B: Amilopectina: puntos de ramificación $\alpha 1 \rightarrow 6$. Para cadenas exteriores: $a = 12$ a 23 cadenas en promedio. Para cadenas interiores: $b = 20$ a 30 cadenas en promedio. Ambas cadenas a y b varían de acuerdo al origen botánico. Adaptado de Tester y col. (2004).

Los patrones de difracción de rayos X se han utilizado para revelar las características de la estructura cristalina de los gránulos de almidón (Zobel, 1988). El almidón está clasificado en tres tipos de patrones de difracción: el patrón de difracción A, representado por aquellas moléculas con el más bajo contenido de amilosa y el más alto de amilopectina. El patrón de difracción B, está caracterizado por poseer el más alto contenido de amilosa y el más bajo de amilopectina (Riley y col., 2006), mientras que el patrón de difracción C presenta características comunes a los patrones A y B, lo que sugiere la coexistencia de ambas estructuras en un mismo gránulo, o bien, en gránulos independientes (Sarko y Wu, 1978; Tester y col., 2004).

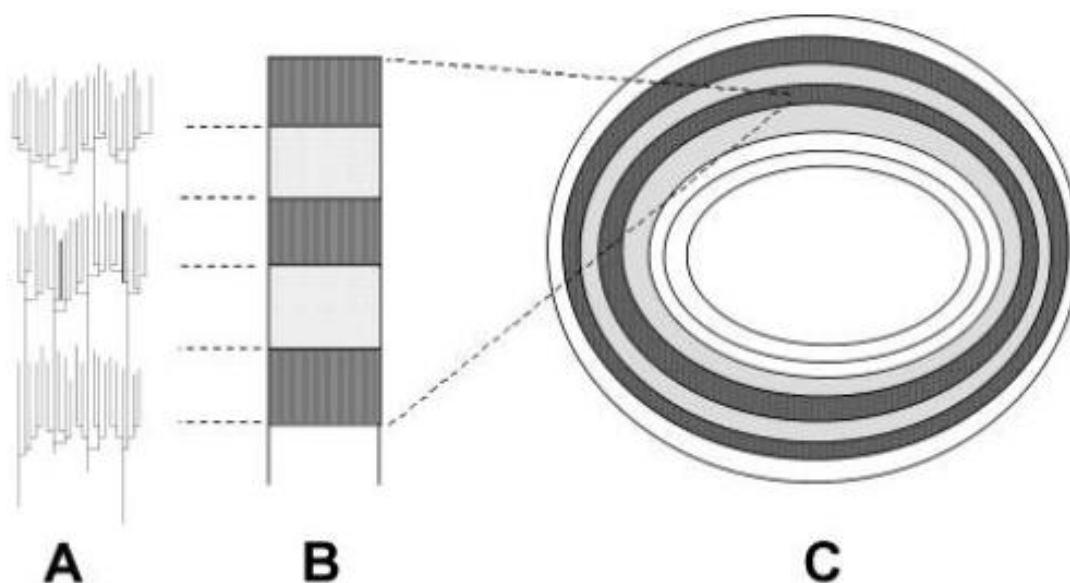


Figura 2. Organización de la amilopectina dentro de un gránulo de almidón.

Las cadenas más cortas de la molécula de amilopectina se agrupan a intervalos de 9 nm a lo largo del eje de las moléculas (A). Dentro de un grupo, las cadenas adyacentes forman hélices dobles. Estas se empaquetan juntas para formar láminas cristalinas, que alternan con láminas amorfas donde se localizan los puntos de ramificación (B). Dentro del gránulo, zonas de láminas amorfas y cristalinas alternadas se alternan a su vez con zonas amorfas, formando “anillos de crecimiento”, de varias centenas de nanómetros de ancho (C). Tomado de Smith (2001).

1.2 Clasificación nutricional del almidón

A raíz de los estudios *in vitro* de la digestibilidad enzimática se propuso la primera clasificación nutricional de los almidones, basados en la velocidad con que un alimento libera glucosa en condiciones experimentales (Englyst y Cummings, 1985). Los almidones alimenticios pueden clasificarse de acuerdo a cómo son metabolizados por el intestino delgado humano en aquellos que son de digestión rápida, de digestión lenta y resistente a la digestión (Englyst y col., 1992). Los tipos de almidones son los presentados en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Clasificación nutricional del almidón.

Tipo de almidón	Susceptibilidad a la digestión	Alimentos que lo contienen
De digestión rápida	Rápida y completamente digerido y absorbido en el intestino delgado.	Alimentos amiláceos sometidos a cocción.
De digestión lenta	Completamente digerido en el intestino delgado, pero de manera significativamente más lenta.	Cereales y otros alimentos amiláceos crudos; pastas.
Resistente:		
- Tipo 1: Almidón físicamente inaccesible	No digerible	Granos y semillas parcialmente molidas; pasta.
- Tipo 2: Gránulos intrínsecamente resistentes		Alimentos amiláceos crudos y almidones ricos en amilosa.
- Tipo 3: Almidón retrogradado		Alimentos amiláceos (papa, legumbres y arroz) enfriados previa cocción, pan envejecido.
- Tipo 4: Almidón con enlaces no amiláceos		Almidones modificados mediante tratamientos químicos y algunos tratamientos físicos drásticos.
- Tipo 5: Complejos amilosa-lípidos		Almidones que contienen complejos amilosa lípidos resistentes a la digestión.

Adaptado de Englyst y col. (1992); Laurentin y Edwards (2013)

El almidón de digestión rápida corresponde a la fracción del almidón que es completamente digerido y absorbido en el intestino delgado, el cual estimula una rápida respuesta glucémica y baja sensación de saciedad (Chung y col., 2009). Mientras que, el almidón de digestión lenta representa la fracción del almidón que también es completamente digerido y absorbido en el intestino delgado, pero de manera significativamente más lenta. Este induce una respuesta

glucémica lenta y sostenida, que estabiliza los niveles de glucosa en sangre y produce una alta sensación de saciedad (Granito, 2013).

No todo el almidón consumido es digerido, sino que existe una fracción resistente a la hidrólisis por las enzimas del tracto digestivo; su tránsito continúa por el intestino delgado llegando hasta el intestino grueso, esta fracción se denomina almidón resistente, el cual se puede definir como la suma del almidón y productos de la degradación del mismo que no pueden ser digeridos y absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos (Landon y col., 2012). Constituye un amplio y diverso rango de materiales y existen diferentes tipos (**Tabla 1**; Nugent, 2005).

Almidón físicamente inaccesible

El almidón resistente tipo 1 es físicamente inaccesible y está protegido de la acción de la α -amilasa. Esta inaccesibilidad es debida a la presencia de paredes celulares de las plantas, que encierran a los gránulos de almidón, por ejemplo, en semillas de leguminosas y granos parcialmente molidos y enteros. También puede encontrarse en alimentos amiláceos densamente empaquetados como la pasta. La disrupción de la estructura del alimento y, hasta cierto punto, la masticación, afectan este tipo de almidón resistente (Laurentin y Edwards, 2013).

Gránulos intrínsecamente resistentes

El almidón resistente tipo 2 está constituido por gránulos crudos con resistencia intrínseca a la actividad de las enzimas amilolíticas, debido a su alto contenido de amilosa (Jiang y Jane, 2013) o a la estructura cristalina del gránulo de almidón, especialmente estructuras tipo B (Leszczyński, 2004; Jiang y Jane, 2013).

Almidón retrogradado

El almidón resistente tipo 3 se forma durante el procesamiento habitual de la comida por cocción y posterior enfriamiento, es el más abundante de los almidones resistentes presentes en los alimentos (Laurentin y Edwards, 2013).

Almidón con enlaces no amiláceos

El almidón resistente tipo 4 incluye almidones nativos que han sido sometidos a uno o más tratamientos químicos (como derivatización y entrecruzamiento) o físicos drásticos (como extrusión y pirodextrinización) que promueven reordenamientos moleculares, degradación del polímero o la adición de grupos químicos (Laurentin y Edwards, 2013). En este tipo de almidón la digestibilidad es reducida por la presencia de grupos funcionales adicionales que impiden el acceso de las enzimas con actividad amilolítica o por enlaces glucosídicos atípicos en conformación β , tales como (1 $\rightarrow$ 2) y (1 $\rightarrow$ 3), que no son reconocidos por este tipo de enzimas (Maningat y Seib, 2013).

Complejos amilosa lípidos

El almidón resistente tipo 5 se produce cuando los ácidos grasos de cadena mediana y larga (de 12 a 18 carbonos) son retenidos dentro de la estructura helicoidal de la amilosa (Hasjim y col., 2013). Los complejos amilosa lípidos se forman de manera natural durante la biosíntesis del almidón, pero también pueden producirse durante la cocción y tienen una menor digestibilidad que el almidón cocido (Holm y col., 1983). El maíz con alto contenido de amilosa (amilomaíz) es una de las principales fuentes de este tipo de almidón (Hasjim y col., 2013). No ocurre la formación de complejos amilopectina lípidos, dado que la estructura altamente ramificada de la molécula de amilopectina crea un impedimento estérico (Hasjim y col., 2013).

1.3 Biodisponibilidad del almidón

La biodisponibilidad puede ser definida como la proporción en que un nutriente es absorbido, utilizado y almacenado en el organismo (Bender, 1989; Southgate, 1989). Durante su tránsito a través del tracto gastrointestinal, los macronutrientes son transformados, digeridos y absorbidos, por consiguiente, la biodisponibilidad está determinada de manera importante por un parámetro cuantitativo, la digestibilidad. Esta última puede ser considerada como uno de los dos parámetros más importantes que definen la biodisponibilidad de los carbohidratos, mientras que el otro es la tasa a la cual transcurre la digestión del almidón, que viene a ser la componente cinética de la biodisponibilidad, también conocida como tasa de α -amilólisis (Southgate, 1989).

El almidón en condiciones nativas presenta una gran variabilidad en su susceptibilidad a la amilólisis, lo que evidencia que la composición y estructura del gránulo de almidón determinan de manera fundamental su susceptibilidad al ataque por las enzimas (Holm y col., 1985). El contenido de amilosa juega un papel importante en la digestibilidad de los alimentos, debido a que algunos estudios señalan que los almidones con bajo contenido de amilosa son digeridos más fácilmente que aquellos con alto contenido de la misma (Riley y col., 2006).

Las propiedades fisicoquímicas como la gelatinización y la retrogradación del gránulo de almidón modifican su biodisponibilidad, alterando principalmente la capacidad de las enzimas digestivas de ejercer su acción sobre el gránulo (Colonna y col., 1992). Cuando un almidón crudo es suspendido en agua y se calienta gradualmente (hasta aproximadamente 55 °C), los gránulos se hinchan y absorben la mitad o más de su peso en agua. Esta hinchazón se hace irreversible si se continúa el calentamiento hasta los 60 u 80 °C, aproximadamente,

temperatura en la que los gránulos pierden la cristalinidad y la pared celular reblandece y se rompe. Este proceso, conocido como gelatinización, hace al almidón más digerible ya que favorece el ataque de las enzimas digestivas sobre el gránulo (French, 1973; Mahan y Escott-Stump, 2008). La retrogradación del almidón es el retorno del estado gelatinizado o disuelto del almidón, a la forma agregada o insoluble (French, 1973). La retrogradación es un proceso que ocurre en gránulos de almidón gelatinizados cuando se disminuye la temperatura. Dada la inestabilidad del gránulo de almidón gelatinizado, las moléculas de amilosa y amilopectina se vuelven a asociar lentamente mediante puentes de hidrógeno, lo cual lleva a un aumento en la cristalinidad del gránulo y disminuye la biodisponibilidad (Colonna y col., 1992). Los factores intrínsecos pueden ser medidos de forma reproducible, pero no son necesariamente buenos predictores de la biodisponibilidad y de la tasa de hidrólisis del almidón entre diferentes individuos. Esto se debe a que la ingesta expone los alimentos a factores extrínsecos que pueden también retardar o acelerar la digestión: el grado de masticación, la concentración de la enzima α -amilasa en el intestino delgado y el tiempo de tránsito del alimento entre la cavidad bucal y el íleon terminal (Colonna y col., 1992).

1.4 Digestión y fermentación del almidón

Previo a su utilización metabólica el almidón debe someterse a un proceso de digestión y absorción en el organismo animal. El primer paso en la digestión de los carbohidratos está asociado a la masticación de los alimentos. En la boca, los alimentos se mezclan con la α -amilasa salival, que comienza inmediatamente a degradar el almidón; la hidrólisis se retrasa o se detiene en el estómago, al cambiar el pH, y vuelve a iniciarse en el duodeno por acción de la α -amilasa secretada por el páncreas. La acción acumulativa de ambas amilasas producen una mezcla de maltosa, maltotriosa, maltotetraosa y algo de glucosa a partir de la amilosa y la

amilopectina; además se producen las llamadas dextrinas límite que consisten de 3 a 5 unidades de glucosa con enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$ y una unidad de glucosa unida por un enlace $\alpha(1\rightarrow6)$, a partir de la amilopectina. Las enzimas del borde de cepillo en la mucosa intestinal completan luego la digestión de los restos del almidón. Los polisacáridos que no se digieren totalmente en el intestino delgado, son fermentados, al menos parcialmente, por la microbiota del colon (Southgate, 1989). La fermentación del almidón resistente por la microbiota del colon genera ácidos grasos de cadena corta, los cuales se han asociado a propiedades fisiológicas beneficiosas para la salud (Cheng y Lai., 2000; Laurentin y Edwards, 2013; O'Keefe y col., 2015).

Los principales ácidos grasos de cadena corta producidos por esta microbiota son: acetato, propionato y butirato (Laurentin y Edwards, 2013). Entre las propiedades fisiológicas atribuidas a ellos, destacan las siguientes:

- **Acetato:** Provee energía a músculos y otros tejidos periféricos, y puede ser sustrato para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga en el hígado (Laurentin y Edwards, 2013).
- **Propionato:** Puede ser sustrato para la producción de glucosa, vía gluconeogénesis, en el hígado. Se ha asociado a la reducción del colesterol. Estimula la sensación de saciedad (Laurentin y Edwards, 2013).
- **Butirato:** Sirve como combustible en los colonocitos, induce la proliferación de colonocitos sanos, induce apoptosis en colonocitos diferenciados hacia ciertas líneas cancerígenas y ha mostrado propiedades antiinflamatorias en cultivos celulares (Laurentin y Edwards, 2013). Además, se ha evidenciado en humanos una influencia sustancial del butirato en la salud de la mucosa intestinal, a través de la generación de

cambios en las bacterias intestinales ubicadas en la mucosa, sus niveles de fermentación y regulando su actividad metabólica, esto resulta en el mantenimiento y la defensa de la mucosa intestinal, lo cual se ha asociado a una reducción del riesgo de cáncer de colon (O'Keefe y col., 2015).

2. Aspectos generales del apio

El apio (*Arracacia xanthorrhiza* B.) es una planta de la familia Apiáceae, de raíces reservantes y comestibles, originaria de la región andina de Sudamérica; de allí se ha extendido a otras regiones del continente americano y del mundo, convirtiéndose en un alimento importante especialmente para poblaciones de países en vías de desarrollo. Es cultivado principalmente en Perú, Colombia, Ecuador, Bolivia, Chile, Venezuela y Brasil, escasamente en Centroamérica y las islas del Caribe (Hermann, 1997). La planta crece desde 800 hasta 2.800 msnm (Hermann, 1997), donde pueden encontrarse diferentes condiciones ambientales; sin embargo, se cultiva principalmente a altitudes de aproximadamente 1.600 msnm con precipitación anual de 800 a 1.600 mm (Noriega, 2001). Tiene una larga temporada de crecimiento (10 a 12 meses) y sus raíces tienen una vida útil muy corta de 7 días. El apio presenta raíces tuberosas, con formas ovoides, cónicas y fusiformes; de color blanco, amarillo y mezclado (blanco o amarillo con púrpura). Su tamaño, puede variar de 8 a 20 cm de longitud y de 3 a 8 cm de diámetro. La planta puede producir de 3 a 10 o más raíces útiles (Mujica, 1990).

Venezuela ha sido un productor de tubérculos ricos en almidón. Los tubérculos radicales del apio poseen entre 75 y 77% de almidón (García y Pacheco-Delahaye, 2008), lo que representa un importante aporte de energía en las dietas de los seres vivos. Este almidón presenta gránulos que observados mediante microscopía electrónica de barrido muestran una mezcla de las formas esférica y oval truncada, con diámetros entre 4 y 26 μm (Pérez y col., 1999; Rocha

y col., 2011). El mismo posee características típicas de un patrón de tipo B (Santacruz, 2005; Quiroga, 2009), con bajos niveles de amilosa y características químicas importantes en la nutrición (Adarve y Mejía, 2012). Espín y col. (2004) mencionan que el almidón de apio posee 80% de amilopectina y 20% de amilosa aparente. El almidón de apio posee una temperatura de gelatinización de 60 °C; más baja que la de almidones de cereales (Mélo y col., 2003).

En Venezuela se ha promovido el consumo de raíces y tubérculos en forma fresca o procesada, por la importancia de las propiedades funcionales, los aportes nutricionales y beneficios a la salud (García y Pacheco-Delahaye, 2008). La Hoja de Balance de Alimentos del año 2014 reportó una producción de apio en Venezuela de 49.087 toneladas con pérdidas del 0,1%, lo que dejó una disponibilidad para el consumo humano de 44.178 toneladas (equivalente a una disponibilidad neta de 3,5 g/persona/día). Entretanto, en el año 2015, se cultivaron cerca de 4.172 hectáreas de apio, produciéndose unas 58.386 toneladas provenientes principalmente de los estados andinos (FEDEAGRO, 2015). De los cultivares existentes: morados, blancos y amarillos; en Venezuela se consumen típicamente los amarillos (Noriega, 2001). Es una raíz considerada importante en la alimentación por la fácil digestión de sus almidones y por ser rica en calcio, fósforo, hierro, niacina, vitamina A, piridoxina (vitamina B6), riboflavina (vitamina B2), ácido ascórbico (vitamina C), proteínas, fibras y carbohidratos; características que le otorgan un potencial alimentario y económico (Alarcón y Dufouor, 1998).

3. Aspectos generales del mapuey

El mapuey es una planta monocotiledónea perteneciente a la familia Dioscoreaceae (la cual tiene alrededor de 600 especies distribuidas en zonas tropicales), género *Dioscorea* L. (el cual tiene de 15 a 20 especies comestibles). El género *Dioscorea* es extenso, estando usualmente localizado en las regiones lluviosas de los trópicos (Montaldo, 1977). Tuvo una amplia

dispersión, evolucionando por separado en Asia, África y América (Bousalem y col., 2006). El nombre científico del mapuey es *Dioscorea trifida* L. y se caracteriza por presentar estolones que se ensanchan formando tubérculos ricos en almidón, de hasta 70 cm de longitud (León, 2000), particularmente, se considera que el centro de origen de *D. trifida* fue en América Tropical, posiblemente en Venezuela y las Antillas Menores (Montaldo, 1977), o bien en la región Guyana de Suramérica (Pérez y col., 2011). En Venezuela, su nombre común es mapuey, un vocablo Chaima y cumanagota (Montaldo, 1977), siendo un tubérculo que ha estado presente como parte de la dieta de las poblaciones indígenas originarias (De Melo, 2006), representando un recurso alimentario de alta calidad, siendo un alimento básico de las poblaciones indígenas venezolanas de la costa caribeña y de las regiones amazónicas (Pérez y col., 2011), figurando como el sustento actual de dichas poblaciones (García y col., 2012).

Existen variedades de color blanco, amarillo o morado; todas ellas poseen tubérculos con una forma extendida similar, más ancho y obtuso hacia un extremo. Las variedades blancas se caracterizan por una corteza de color marrón claro y una porción comestible blanca (Pérez y col., 2011). Las variedades amarillas tienen una corteza de color marrón y una porción comestible de color amarillo. Entretanto, las variedades moradas presentan una corteza de color marrón oscuro, exhibiendo una porción comestible de color púrpura que puede variar su intensidad según el morfotipo; por ejemplo, las variedades morado liso y morado rugoso poseen una porción comestible de color púrpura intenso y morado púrpura, respectivamente (**Figura 3**; Pérez y col., 2011). En las variedades moradas, los pigmentos antocianos son los responsables del color púrpura. Estos compuestos han sido reportados como 3,5-peoninadiglucósido, 3-malvidina, 3,5-diglucósido y ácido ferúlico-3,5-diglucósido (Carreño-Díaz y Grau, 1977).

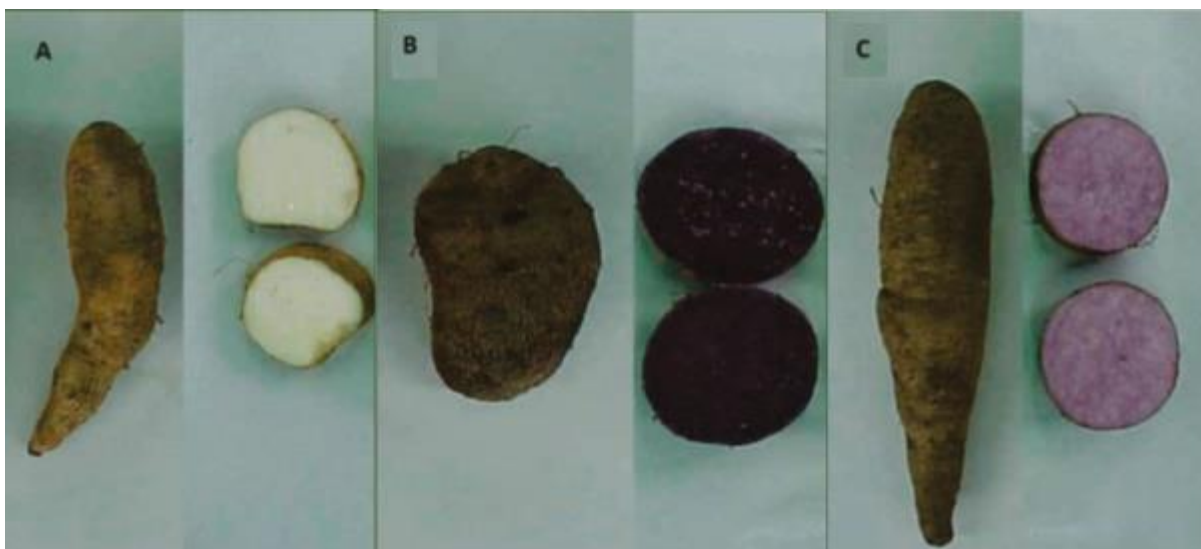


Figura 3. Apariencia externa e interna (sección transversal) de tubérculos de *Dioscorea trifida*:
 (A) Mapuey blanco (B) Mapuey morado liso (C) Mapuey morado rugoso. Modificado de Pérez y col. (2011)

Venezuela es uno de los principales productores de mapuey y su área de cultivo está supeditada a la región oriental del país. El uso principal que se le ha dado es el consumo directo como hortaliza cocida para la alimentación humana. Es quizás por la poca importancia que se le ha dado a este cultivo, que el mismo ha sido objeto de muy pocas investigaciones; el conocimiento existente del almidón de mapuey es muy reducido (Bou y col., 2006). Sin embargo, estudios señalan que los tubérculos de mapuey contienen aproximadamente 60% de almidón (Pérez y col., 2011), una cantidad importante para ser tomado en cuenta como fuente de energía para el consumo humano. Este almidón observado mediante microscopía electrónica de barrido, exhibe gránulos de forma irregular (ovalados y alargados), con extremos truncados y superficies lisas; encontrándose gránulos de almidón con un diámetro promedio de 23,5 μm en el mapuey morado, los cuales son más pequeños en comparación con los del mapuey blanco que presentan un diámetro promedio de 27,5 μm (Bou y col., 2006). Este almidón presenta un patrón de difracción tipo B (Pérez y col., 2013), encontrándose un

contenido de amilosa aparente de 35% y 41% en el almidón nativo de mapuey morado y mapuey blanco, respectivamente (Bou y col., 2013). El almidón de mapuey posee una temperatura de gelatinización de 75 °C, la cual es más baja en comparación con otras especies del género *Dioscorea* (Espitia y col., 2016).

Según datos recientes proporcionados por FEDEAGRO (2015), en Venezuela fueron cosechadas 1.548 hectáreas, un área muy baja en comparación con rubros de gran importancia comercial como por ejemplo la yuca (36.897 hectáreas) y la papa (33.478 hectáreas). Esto probablemente esté relacionado con los datos de rendimiento observados en campo para el mapuey (8.486 kg por hectárea), valor que es inferior a los reportados para yuca (12.346 kg por hectárea) y papa (17.998 kg por hectárea).

En la región tropical las plantas de mapuey se cultivan de forma artesanal, siendo su comercialización rudimentaria. Los tubérculos se caracterizan por tener un alto contenido de humedad, presentando actividad metabólica después de la cosecha. Esto ha traído como consecuencia pérdidas post-cosechas de hasta un 30% (Pérez y col., 2011).

Por otra parte, Venezuela y otros países que utilizan el almidón, requieren ampliar y diversificar la utilización de los recursos alimenticios locales. Una manera de lograrlo es produciendo y explotando productos provenientes de fuentes no convencionales como el mapuey, el cual tiene un alto potencial alimentario, es de fácil cultivo y producción económica (Bou y col., 2006). A partir de este tubérculo es posible obtener harinas y almidones, que además de brindar una alternativa eficiente de preservación, a fin de disminuir pérdidas post-cosecha, mantener una reserva y un sistema de comercialización estable durante todas las épocas del año (Pérez y col., 2011), podrían ser utilizados como sustitutos parciales o totales en la elaboración de productos alimenticios, representando esto una opción para su uso a nivel

comercial, ya sea en forma directa o como ingrediente en la formulación de alimentos (Bou y col., 2006).

4. Utilización del gorgojo de arroz en bioensayos en estudios nutricionales

El gorgojo de arroz, *Sitophilus oryzae* L., (Coleóptera: Curculionidae) se puede encontrar en zonas cálidas húmedas, tropicales y subtropicales. Este insecto posee una cabeza proyectada en forma de trompa y antenas acodadas en forma de maza. El protórax está cubierto de depresiones circulares. El adulto mide de 2,5 a 3,5 mm y es de color café a negro, en los élitros presenta cuatro manchas de color amarillo (Velásquez y Trivelli, 1983). Su desarrollo es holometábolo. Los carbohidratos son nutrientes esenciales que suplen la energía requerida por las larvas y los adultos de la mayoría de los insectos, de ellos depende su crecimiento y mantenimiento óptimo (Dadd, 1985).

El tracto digestivo de los insectos puede ser dividido en tres regiones principales basadas en sus orígenes embrionarios y sus funciones fisiológicas: intestino anterior, medio y posterior (Klowden, 2013). La mayor parte de la digestión ocurre en el intestino medio, en donde se encuentran disponibles una amplia variedad de enzimas, entre ellas las α -amilasas. La naturaleza de las enzimas secretadas y el grado de especialización del tracto digestivo está relacionado al tipo de dieta particular que un insecto puede asimilar (Kaur y col., 2014).

S. oryzae posee un sistema α -amilasa muy activo el cual consiste de dos isoenzimas con pesos moleculares, pH óptimo, perfiles aminoacídicos y mecanismos de acción similares; sin embargo, difieren significativamente en sus constantes cinéticas para la hidrólisis del almidón y en su sensibilidad a distintos inhibidores de la α -amilasa presentes en altas concentraciones en el trigo (Baker, 1987). El gorgojo de arroz, *S. oryzae* (L.), tiene niveles de α -amilasa significativamente más altos que el gorgojo de grano, *S. granarius* (L.), o el gorgojo de maíz

S. zeamais Motschulsky (Baker y Woo, 1985). Los altos niveles de α -amilasa en *S. oryzae* han sido postulados como una ventaja adaptativa para estas especies cuando se alimentan de cereales con presencia de inhibidores naturales (Baker y Woo, 1985).

El uso de insectos como modelos en ensayos nutricionales proporciona una alternativa a la utilización de animales vertebrados. Estos ensayos tienen como principales ventajas su corta duración y bajo costo (López, 1999). Resulta interesante que, aunque entre los grupos de la escala zoológica pueden existir diferencias cualitativas y cuantitativas en sus requerimientos nutricionales, los nutrientes básicos son los mismos y las reacciones metabólicas esenciales que permiten su utilización se han conservado (Carmona y col., 1998). Desde esta perspectiva, son amplias las similitudes entre los insectos y los animales superiores, incluidos los seres humanos (López, 1999), por ejemplo, la digestión de los alimentos se realiza extracelularmente en el tracto digestivo, hacia donde se secretan proteasas, amilasas y lipasas siendo los mecanismos de acción de estas enzimas comparables, pudiendo hablarse de mecanismos de acción similares a la tripsina, quimotripsina y α -amilasa (Carmona y col., 1998). Sin embargo, existen algunas diferencias metabólicas relevantes, los insectos no son capaces de generar colesterol y, por lo tanto, dependen exclusivamente del esteroide alimentario. Otra diferencia importante es la utilización de la trehalosa en lugar de la glucosa como fuente de energía circulante, lo cual favorece la transferencia pasiva de la glucosa de la dieta desde el tracto alimentario a la hemolinfa del insecto (Klowden, 2007).

II. ANTECEDENTES

1. Almidón de apio (*A. xanthorrhiza*)

Liendo y col. (2011) reportaron un bajo rendimiento de 6,12% al realizar la extracción del almidón de apio, sugiriendo que las diferencias en el rendimiento de extracción pueden deberse a la variedad, época y factores ambientales, en respaldo a esta información Espín y col. (2004) explican que el rendimiento está determinado por el contenido intrínseco de almidón en cada especie, el tamaño del tubérculo o raíz y el tamaño del gránulo de almidón. Por su parte, Alayo (2015) al realizar el aislamiento del almidón de apio, variedad amarilla, obtuvo un rendimiento de 11%.

Romero y col. (2014) reportaron 4,7% de humedad presente en el almidón de apio, variedad amarilla, de igual forma, Alayo (2015) en un estudio de las propiedades fisicoquímicas del almidón de apio, variedad amarilla, encontró una humedad muy cercana al 5% en este almidón. Mientras tanto, Lovera y col. (2017) al evaluar la composición química de diferentes tubérculos y raíces obtuvieron una humedad de $(7,5 \pm 0,3\%)$ en el almidón de apio.

Pérez y col. (1999) al evaluar la composición química del almidón de apio encontraron 0,05% de proteína cruda en base seca. Por su parte, Lovera y col. (2017) reportaron un contenido de proteína cruda en base seca similar al reportado por los autores anteriores $(0,08 \pm 0,03\%)$. En ambos trabajos se resalta el hecho de que el bajo porcentaje de proteína encontrado en el almidón sugiere una alta pureza de los mismos y por ende un eficiente proceso de extracción del mismo. Las determinaciones fueron realizadas usando el método de micro-Kjeldahl.

La cuantificación del contenido de almidón total proporciona información importante para conocer la pureza de un almidón aislado, valores por encima del 90% indican alta eficiencia en el proceso de aislamiento (Rojas-del Muro y col., 2017). Pérez y col. (1999) obtuvieron un

contenido de almidón total de 98% en base seca, el cual fue calculado como el contenido de materia seca menos la suma del porcentaje de proteína cruda, grasa, fibra cruda, azúcar total y cenizas. Asimismo, Lovera y col. (2017) reportaron $(90,72 \pm 3,22\%)$ de almidón total presente en el almidón de apio.

Gao y col. (2014) señalan que la cantidad de amilosa presente en el gránulo afecta significativamente las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón. Asimismo, explican que el contenido de amilosa puede variar dentro de la misma variedad botánica debido a las diferencias en su origen geográfico y condiciones de cultivo. Pérez y col. (1999), encontraron 38,5% de amilosa aparente y 61,5% de amilopectina, presente en el almidón de apio. Entretanto, Tovar y col. (2002) indicaron 21,2% de amilosa aparente en el almidón de apio, mientras que, Alayo (2015) estimó 15% de amilosa aparente y 84% de amilopectina en el almidón de apio, variedad amarilla.

En un estudio de la caracterización fisicoquímica, nutricional y funcional de raíces y tubérculos andinos, Villacrés y col. (1998) obtuvieron 86% de almidón disponible en el almidón de apio, haciendo uso del método descrito por Holm y col. (1986). Tovar y col. (1999) estimaron 96% de almidón disponible en el almidón de apio en condiciones nativas, empleando el método descrito por Holm y col. (1986). Utilizando la misma metodología, Lovera y col. (2017) evaluaron la digestibilidad de almidones aislados de diferentes tubérculos y raíces, obteniendo $(91,2 \pm 1,4\%)$ en base seca de almidón disponible presente en el almidón de apio.

Villacrés y col. (1998) determinaron la tasa de hidrólisis del almidón de apio crudo y gelatinizado, utilizando el método descrito por Holm y col. (1985), los azúcares reductores fueron analizados mediante la metodología propuesta por Hostettler y col. (1951), obteniendo

una hidrólisis de 9,64% para el almidón crudo y 67% para el almidón gelatinizado, ambas estimaciones a los 60 minutos de incubación con α -amilasa a 37 °C.

García y col. (2007) con el objetivo de añadir valor agregado a la harina de apio, diseñaron un alimento tipo sopa considerando las recetas culinarias de esta raíz. Para ello, se aplicó una metodología que permitió la obtención de la harina horneada y la caracterización de su composición fisicoquímica, funcional y de digestibilidad *in vitro*. La prueba de digestibilidad *in vitro* llevada a cabo según la metodología descrita por Holm y col. (1986) presentó una alta digestibilidad del almidón por la acción de la α -amilasa pancreática en las muestras gelatinizadas (79,20%), con respecto a las muestras no gelatinizadas (32,10%; a los 60 minutos de incubación).

Rocha y col. (2008a) evaluaron la hidrólisis enzimática del almidón de apio variedades Amarela de Carandaí y Amarela de Senador Amara, utilizando α -amilasa bacteriana y amiloglucosidasa fúngica, según Franco y Ciacco (1992), y determinándose la cantidad de azúcares reductores según Somogyi (1945). La hidrólisis durante las 48 horas de incubación fue similar en ambas variedades, siendo la velocidad de hidrólisis más acentuada en las primeras 12 h de incubación, seguida de una disminución de la tasa de hidrólisis hasta el tiempo final del ensayo. Estos autores concluyen que la mayor velocidad inicial pudo ser consecuencia de la rápida acción inicial de la enzima α -amilasa en las zonas amorfas de los gránulos, produciendo maltosa y maltotriosa, mientras que la reducción de la tasa de hidrólisis en las horas siguientes, sería función de la acción de las enzimas sobre los oligosacáridos de menor peso molecular para producir glucosa y maltosa como productos finales.

Fuentes-Zaragoza y col. (2011) mencionan que el interés científico hacia el almidón resistente ha aumentado significativamente en las últimas décadas debido a su capacidad para producir

alto niveles de ácidos grasos de cadena corta en el colon, entre ellos destaca el butirato que ha sido asociado a diversos efectos que aportan beneficios a la salud humana. Tovar y col. (1999) reportaron un contenido de almidón resistente tipo 3 en base seca de 3,3% en el almidón de apio. Más recientemente, Lovera y col. (2017) en un trabajo de digestibilidad de almidones crudos, aislados de diversos tubérculos y raíces, reportaron $17,5 \pm 0,5\%$ de almidón resistente total en el almidón de apio; señalando que debido a su alto contenido de almidón resistente (de acuerdo a la clasificación de Goñi y col., 1996) se le atribuye interés desde el punto de vista nutricional a esta fuente amilácea.

Lovera y col. (2017) estudiaron la digestibilidad *in vivo* del almidón de apio utilizando el gorgojo de arroz (*S. oryzae*) como modelo biológico. Estos autores reportaron una actividad similar a α -amilasa de $141 \pm 27 \mu\text{mol/s}\cdot\text{L}$ y una excreción de ácido úrico de $985 \pm 114 \text{ mg/kg}$ en los insectos alimentados con el almidón de apio. Los autores señalaron que estos dos biomarcadores pueden predecir la biodisponibilidad del almidón de varias raíces y tubérculos. No obstante, para el almidón de apio la biodisponibilidad no fue clara, ya que el biomarcador excreción de ácido úrico, sugiere que el almidón de apio es más digerible que la referencia (almidón de maíz), pero según el biomarcador actividad similar a α -amilasa este almidón fue igual de digerible que la referencia.

2. Almidón de mapuey (*D. trifida*)

Smith (2010) con la finalidad de caracterizar de forma fisicoquímica y evaluar la calidad e inocuidad microbiológica de cuatro variedades de almidones de mapuey provenientes del estado Amazonas y el estado Sucre (Venezuela), encontró valores de humedad para mapuey morado rugoso (10,84%), mapuey morado liso (11,57%), mapuey blanco Amazonas (11,58%) y mapuey blanco comercial (8,33%) menores al 12%. Pérez y col. (2011) en un estudio de las

propiedades fisicoquímicas, funcionales y macromoleculares de almidones de mapuey de genotipos provenientes del Amazonas venezolano, encontraron valores de humedad de $9,40 \pm 0,15\%$ para el mapuey blanco, $8,29 \pm 0,13\%$ para mapuey morado liso y $9,16 \pm 0,14\%$ para mapuey morado rugoso. Recientemente, Lovera y col. (2017) reportó para el almidón de mapuey blanco una humedad de $13,1 \pm 0,1\%$.

Bou y col. (2006) encontraron en almidones de mapuey blanco y morado que el contenido de proteína presentó diferencias significativas (morado: 0,06% y blanco: 0,36%). Luego, Pérez y col. (2011) obtuvieron un contenido de proteína cruda en los almidones de mapuey blanco y de mapuey morado rugoso de 0,09% y 0,14% en el almidón de mapuey morado liso. En un estudio de las propiedades funcionales y fisicoquímicas de almidón de mapuey, Gutiérrez y col. (2014) reportaron un porcentaje de proteína cruda de $0,38 \pm 0,03\%$ para el almidón de mapuey morado liso. Mientras que, Lovera y col. (2017) reportaron un contenido de proteína cruda de $0,18 \pm 0,03\%$ para el almidón de mapuey blanco. En todos los trabajos acerca de la determinación de proteínas en almidón de mapuey fue utilizado el método micro-Kjeldahl.

Pérez y col. (2011) reportaron un muy bajo contenido de amilosa, estimado por calorimetría diferencial de barrido, en los almidones de tres variedades de mapuey: variedad blanca, $2,71 \pm 0,20\%$; variedad morado liso, $1,51 \pm 0,22\%$; y variedad morado rugoso, $2,02 \pm 0,07\%$.

En un trabajo sobre las propiedades funcionales del almidón de varias especies de *Dioscorea*, Espitia y col. (2016) reportaron $93,0 \pm 1,52\%$ de almidón total en el almidón nativo de mapuey. Mientras tanto, Lovera y col. (2017) con respecto a la composición química del almidón de mapuey blanco, señalaron un contenido de almidón total de $92,21 \pm 4,33\%$.

Lovera y col. (2017) estudiaron la digestibilidad *in vitro* del almidón de mapuey blanco; reportando un tenor de almidón disponible de $94,0 \pm 1,7\%$, utilizando el método de Holm y col. (1986), y un contenido de almidón resistente total de $55,8 \pm 3,7\%$, *muy alto* según la clasificación propuesta por Goñi y col. (1996). Además, haciendo uso del gorgojo de arroz (*S. oryzae*) como modelo biológico, reportaron que el almidón de mapuey blanco promueve una alta actividad amilolítica, tres veces mayor a la obtenida con la referencia (almidón de maíz; $p < 0,05$), y una alta excreción de ácido úrico, cuatro veces mayor que la referencia ($p < 0,05$). Finalmente, los autores reportaron una correlación fuerte entre la actividad similar a α -amilasa ($r = 0,820$; $p < 0,05$; $n = 15$) y la excreción de ácido úrico ($r = 0,836$; $p < 0,05$; $n = 15$) con el contenido de almidón resistente total. Lovera y colaboradores concluyen que, los resultados *in vitro* e *in vivo* sugieren una baja biodisponibilidad del almidón de mapuey blanco en comparación con el almidón referencia usado por ellos; atribuyendo este resultado al muy alto contenido de almidón resistente total presente en el mismo.

3. El gorgojo del arroz como modelo biológico en estudios nutricionales

Durante más de dos décadas, se ha utilizado con éxito al gorgojo de arroz, *Sitophilus oryzae* L. (Coleóptera: Curculionidae), como modelo tanto en toxicología nutricional como para la evaluación del valor nutritivo de diversos componentes de la dieta (Carmona y col., 1993; Carmona y Gómez-Sotillo, 1997; Carmona y col., 1998; Carmona y Casotto, 2001; Laurentin y col., 2008, Gamero y col., 2010). Desde el punto de vista de la seguridad alimentaria de Venezuela, el desarrollo y validación de un bioensayo rápido y económico como el del gorgojo de arroz, no solo puede contribuir al desarrollo de estudios nutricionales clásicos, sino que también puede ser empleado en el área de mejoramiento vegetal, particularmente de raíces y tubérculos, como una herramienta para evaluar la calidad nutricional del producto mejorado

(Laurentin y col., 2008). Szwarcbort (1980) señala que las α -amilasas presentes en el gorgojo de arroz exhiben actividades catalíticas comparables con la de la α -amilasa pancreática porcina, enzima comúnmente utilizada en los estudios de digestibilidad *in vitro* de los alimentos amiláceos. Este modelo animal, por ende, ha sido muy atractivo para la identificación de biomarcadores que permitan evaluar la calidad nutricional de estos alimentos. De hecho, González-Quilen (2013), Laurentin y col. (2014), Lovera y col. (2017) y Sánchez (2018) señalan que tanto la excreción de ácido úrico como la actividad similar a α -amilasa parecieran mostrar la suficiente sensibilidad para discriminar la digestibilidad entre las dietas ensayadas, y por lo tanto se proponen como biomarcadores de la digestibilidad en las dietas de los alimentos amiláceos.

Si bien existe una gran variedad de estudios de las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los almidones de apio y de mapuey, es oportuno destacar que existen pocos estudios acerca de la digestibilidad *in vitro* e *in vivo* de estos almidones. Por lo tanto, sobre la base de las investigaciones previas y teniendo en cuenta la importancia atribuida al almidón en la alimentación y la salud humana, en el presente estudio se propuso evaluar la digestibilidad *in vitro* e *in vivo* del almidón de tres variedades de raíces de apio y de tres variedades de tubérculos de mapuey, con la finalidad de obtener información acerca de la calidad nutricional de cada uno de ellos. De esta manera se podrá evaluar la posible utilización de estas raíces y tubérculos para el consumo humano en nuestro país.

III. OBJETIVOS

1. Objetivo General

- Comparar los parámetros que caracterizan la digestibilidad *in vitro* del almidón de apio (*Arracacia xanthorrhiza* B.), variedades comercial, cacho de buey amarillo y quiroreño, y del almidón de mapuey (*Dioscorea trifida* L.), variedades blanco, morado liso y morado rugoso, con los indicadores de la biodisponibilidad *in vivo* utilizando el bioensayo del gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.).

2. Objetivos Específicos

- 2.1 Estimar el contenido de almidón disponible y de almidón resistente total de los almidones aislados de las variedades de apio y de mapuey.
- 2.2 Evaluar la tasa de α -amilólisis *in vitro* de los almidones aislados de las variedades de apio y de mapuey.
- 2.3 Estimar la supervivencia, la variación de peso, la actividad similar a α -amilasa y la excreción de ácido úrico en el gorgojo de arroz alimentado con almidones de las variedades de apio y de mapuey, como principales marcadores de la disponibilidad *in vivo* del nutriente.
- 2.4 Correlacionar las respuestas biológicas observadas *in vivo* con los indicadores de biodisponibilidad evaluados *in vitro*.

IV.MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Los almidones caracterizados se aislaron a partir de tres variedades de apio (*Arracacia xanthorrhiza* B.) y de tres variedades de mapuey (*Dioscorea trifida* L.): apio comercial, apio cacho de buey amarillo, apio quiroreño, mapuey blanco, mapuey morado liso y mapuey morado rugoso¹ (Tabla 2).

Tabla 2. Información sobre la colecta de raíces y tubérculos utilizados para aislar el almidón

Variedad	Estado	Sector	Agricultor	Altitud (m.s.n.m.)
Apio comercial	Distrito Capital	Quinta Crespo	Desconocido	No aplica
Apio cacho de buey amarillo	Mérida	Lomas del Suspiro	Alexis García Márquez	2.500
Apio quiroreño	Mérida	Lomas del Suspiro	Alexis García Márquez	2.500
Mapuey blanco	Amazonas	Comunidad Piaroa	Desconocido	No se registró
Mapuey morado liso	Amazonas	Comunidad Piaroa	Desconocido	No se registró
Mapuey morado rugoso	Amazonas	Comunidad Piaroa	Desconocido	No se registró

La colecta de las raíces de los apio cacho de buey amarillo y quiroreño fue realizada por el doctor Alexander Laurentin en El Molino (Pueblo del Sur), municipio Chacón, estado Mérida, el 18 de febrero de 2017. El resto de los almidones fueron gentilmente donados por el banco de almidones del Laboratorio de Granos, Raíces y Tubérculos “Dr.^a Mercedes Baragaño de Mosqueda” del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. De estos almidones, el de apio comercial fue adquirido en

¹ En inglés, la variedad mapuey blanco se denomina *white cush-cush* yam. La variedad mapuey morado liso se conoce como *dark purple cush-cush* yam; mientras que, la variedad mapuey morado rugoso se denomina *light purple cush-cush* yam.

el mercado de Quinta Crespo de la ciudad de Caracas en el año 2009 (Romel Guzmán, comunicación personal) y los tubérculos de mapuey fueron colectados en una comunidad Piaroa, ciudad de Puerto Ayacucho estado Amazonas (**Tabla 2**; Jiménez y Pérez, 2009).

Para el mantenimiento y montaje del bioensayo del gorgojo de arroz se usaron arvejas verdes partidas compradas en un mercado local (Caracas, Venezuela) y el almidón de maíz (Maizina Americana® Alfonzo Rivas & CIA, Turmero, Venezuela), respectivamente.

Métodos

1. Aislamiento del almidón de apio

Los almidones de las variedades de apio cacho de buey amarillo y quiroreño fueron aislados a partir de las raíces en la Planta Piloto del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, según el método propuesto por Pérez y col. (1993). Para ello, se seleccionaron las raíces de apio, se lavaron, pelaron y trocearon. Seguidamente las raíces se sometieron a una reducción de tamaño con el empleo de un ayudante de cocina marca Metvisa (usando el disco para rayar). El apio reducido se mezcló con una porción de agua (aproximadamente 3 a 5 veces el peso del material) y se homogeneizó en una licuadora industrial Metvisa modelo LQ4 30129 de 10 L de capacidad. Para obtener la lechada, el homogeneizado obtenido se filtró a través de una muselina (se realizó este paso dos veces). La lechada se centrifugó a 1.500 rpm (centrífuga Damon CRU-500, EE. UU.) por 15 minutos, hasta observar la desaparición de la capa oscura en la parte superior del almidón. Finalmente, el almidón se secó en un deshidratador de bandeja marca Mitchell modelo 645159, a 45 °C por 24 h. El almidón seco se homogeneizó en un procesador de alimentos marca Oster y se tamizó en un tamiz de 60 mesh marca BICASA que, de acuerdo a la escala de tamices estándar Tyler, corresponde a un tamaño de partícula de 246 μm .

2. Composición química de los almidones

2.1 Humedad

El contenido de humedad fue analizado por gravimetría, método 44-15.02 (AACC International, 2003). Para ello, una alícuota de 2 g de cada almidón se pesó en un bote de aluminio previamente tarado (por triplicado); los botes se colocaron en una estufa a 130 °C y al cabo de 2 h se retiraron hacia un desecador para atemperar y pesar las muestras deshidratadas.

2.2 Proteína cruda

Se determinó el contenido de proteína cruda presente en los almidones por el método de micro-Kjeldahl, método 46-13.01 (AACC International, 2003). Para ello, se pesaron cerca de 100 mg de cada almidón (por triplicado) en un trozo de papel de filtro sin cenizas, N.º 202, luego se añadió una punta de espátula de la mezcla catalizadora (sulfato cúprico-sulfato de potasio; 1:10) y 3 mL de ácido sulfúrico concentrado dentro de un tubo de digestión. Los tubos fueron incubados en un digestor marca Tecator modelo 1016, durante 4 h a 350 °C. Posteriormente, se transfirió cuantitativamente la solución resultante de la digestión al reservorio del condensador de la unidad de destilación rápida marca LABCONCO®, se colocaron 10 mL de hidróxido de sodio al 50% en el mismo reservorio y se dejó mezclar con la muestra. En un vaso de precipitados con 5 mL de ácido bórico al 4% y 3 gotas de la mezcla indicadora (rojo fenol 0,1% – azul de metileno 0,1%; preparados en alcohol etílico 96% y mezclados en proporción 2:1) se recogieron 40 mL de la solución destilada. Finalmente, se tituló el contenido del vaso de precipitados con HCl 0,01 N hasta que se obtuvo el viraje del indicador usado, el cual se observó de color gris o rosado tenue.

2.3 Ceniza

El contenido de ceniza fue determinado por gravimetría, método 08-17 (AACC International, 2003). Para ello, una alícuota de 1 g de cada almidón se pesó en un crisol por triplicado, el cual se colocó sobre una plancha a 200 °C hasta que carbonizara la muestra. Luego se colocaron los crisoles en una mufla a 500 °C aproximadamente por 4 h, hasta obtener un color gris o blanco. Finalmente, los crisoles se retiraron de la mufla hacia un desecador para atemperar y pesar las muestras.

2.4 Almidón total

Para evaluar el almidón total, una alícuota del almidón crudo (300 mg en base seca) fue dispersada con 20 mL de KOH (2 mol/L) por 30 minutos, se le ajustó el pH entre 6,5 – 7 unidades antes de la incubación con 0,1 mL de Termamyl® 120L (Novo Biolabs, Dinamarca) durante 20 minutos a ebullición y se tomó una alícuota de 0,5 mL, la cual fue incubada con 1 mL de solución 0,5 g/L (11,25 unidades) de amiloglucosidasa de *Rhizopus* sp. (A-7255: Sigma Chemical Co., St. Louis, EE. UU.) a 40 °C por 1 h con agitación constante (Tovar y col., 1990). La glucosa liberada se cuantificó con un estuche comercial de glucosa oxidasa/perixodasa (Invelab® 89250, Caracas, Venezuela), los tubos se incubaron a 37 °C durante 10 minutos y se determinó la absorbancia a 510 nm. Luego para calcular la cantidad de glucosa en cada tubo de acuerdo a la absorbancia obtenida, se utilizó una curva de calibración elaborada con un estándar de glucosa 1 g/L: $y = 0,0315x - 0,004$ ($R^2 = 0,999$; $n = 6$). Se usó un factor de conversión de glucosa al glucano de 0,9 y la variable fue expresada como porcentaje de almidón total en base seca.

3. Digestibilidad *in vitro*

La digestibilidad de las muestras de almidón de apio y de mapuey fue caracterizada *in vitro* mediante la estimación de los parámetros: almidón disponible, tasa de α -amilólisis y almidón resistente total. Estos análisis se realizaron con los almidones crudos y por triplicado, excepto en la tasa de α -amilólisis, donde los almidones gelatinizados se analizaron por duplicado.

3.1 Almidón disponible

El almidón disponible fue evaluado siguiendo el protocolo multienzimático de Holm y col. (1986). El almidón disponible representa la fracción digerible una vez que el almidón fue gelatinizado. Una suspensión de almidón crudo (300 mg en base seca) en 20 mL de agua y con pH ajustado entre 6,5 – 7 unidades, fue incubada con 0,1 mL de Termamyl® 120L (Novo Biolabs, Dinamarca) durante 20 minutos a ebullición y se tomó una alícuota de 0,5 mL, la cual fue incubada con 1 mL de solución 0,5 g/L (11,25 unidades) de amiloglucosidasa de *Rhizopus* sp. (A-7255: Sigma Chemical Co., St. Louis, EE. UU.) a 40 °C por 1 h con agitación constante. La glucosa liberada se cuantificó con un estuche comercial de glucosa oxidasa/perixodasa (Invelab® 89250, Caracas, Venezuela), los tubos se incubaron a 37 °C durante 10 minutos y se determinó la absorbancia a 510 nm. Para calcular la cantidad de glucosa en cada tubo, se utilizó la misma curva de calibración del apartado 2.4; usando un factor de conversión de glucosa al glucano de 0,9. Esta variable fue expresada como porcentaje de almidón disponible en base seca.

3.2 Tasa de α -amilólisis *in vitro*

La tasa de digestibilidad *in vitro* fue evaluada por el método de Holm y col. (1985) que estima la velocidad a la cual es degradado el almidón a carbohidratos simples, los cuales fueron cuantificados como equivalentes de maltosa. Para cada muestra, la cinética de hidrólisis se

estimó tanto en el almidón crudo como en el almidón gelatinizado. Se pesó un par de alícuotas correspondientes a 500 mg de almidón disponible, luego se dispersó en 50 mL de buffer fosfato Na,K 44 mmol/L, pH 6,9. El almidón a gelatinizar se introdujo en un baño de María en ebullición durante 20 min. Luego se incubó la suspensión en un baño de María a 37 °C. En el caso del almidón crudo se dispersó la muestra y se llevó igualmente al baño de María a 37 °C. Luego de atemperar, la reacción se inició añadiendo 1 mL de la solución de α -amilasa pancreática porcina (A-3176, Sigma Chemical Co., St. Louis, EE. UU.) a 1,85 g/L (42,55 unidades) en buffer fosfato, pH 6,9. Se tomaron alícuotas de 0,2 mL de cada hidrolizado a los 0, 5, 15, 30 y 60 minutos de reacción y se detuvo la acción amilolítica transfiriéndolas a una mezcla de 0,8 mL de agua y 1 mL del reactivo del ácido dinitrosalicílico (10 g/L de ácido 3,5-dinitrosalicílico [Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EE. UU.] disuelto en tartrato de Na,K a 300 g/L en NaOH 16 g/L). Los azúcares reductores liberados por la acción enzimática fueron estimados según el método descrito por Hostettler y col. (1951) que se basa en la reducción del ácido dinitrosalicílico mediante el calor por la acción de los azúcares reductores presentes en la solución alcalina, lo cual da como resultado una solución de color amarillo-anaranjado que fue medida colorimétricamente a 530 nm. Para estimar el contenido de azúcares reductores, se utilizó una curva de calibración elaborada con una solución estándar de maltosa a 10 g/L: $y = 0,401x - 0,012$ ($R^2 = 0,999$; $n = 6$). Se empleó un factor de conversión de maltosa al glucano de 0,95 y los valores fueron expresados como el porcentaje del almidón disponible hidrolizado.

3.3 Almidón resistente total

El almidón resistente total fue evaluado usando el método propuesto por Goñi y col. (1996) que estima parte de las fracciones del almidón resistente tipo 1 más el almidón resistente tipo 2

más el almidón resistente tipo 3 (Tovar, 2001) y el almidón resistente tipo 5. En pocas palabras, una suspensión del almidón crudo (100 mg en base seca) fue incubada consecutivamente con 0,2 mL de pepsina (P-7000: Sigma Chemical Co., St. Louis, EE.UU.) 100 g/L (10,78 unidades) a 40 °C por 1 h con agitación constante, y 1 mL de α -amilasa pancreática porcina (A 3176: Sigma Chemical Co., St. Louis, EE. UU.) 40 g/L (920 unidades) a 37 °C por 16 h con agitación constante. Esta suspensión se centrifugó a 3.000 x g por 15 min. El pellet fue dispersado con 3 mL de KOH (4 mol/L), neutralizado con 5,5 mL de HCL (2 mol/L) y su pH ajustado a 4,75 unidades, para ser finalmente incubado con 1 mL de amiloglucosidasa de *Rhizopus* sp. (A-7255: Sigma Chemical Co., St. Louis, EE. UU.) 4,8 g/L (108 unidades) a 40 °C durante 1 h con agitación constante. La determinación de glucosa se realizó tal como se ha indicado en el apartado 3.1 de la presente sección. Para calcular la cantidad de glucosa en cada tubo, se utilizó una curva de calibración elaborada con un estándar de glucosa 1 g/L: $y = 0,0325x - 0,002$ ($R^2 = 1$; $n = 2$). El factor de conversión de glucosa al glucano fue 0,9 y la variable fue expresada como porcentaje de almidón resistente total en base seca.

4. Digestibilidad *in vivo*

La digestibilidad *in vivo* de los almidones fue estimada usando el gorgojo del arroz *Sitophilus oryzae* L. (Coleóptera: Curculionidae). Cuatro biomarcadores fueron evaluados: supervivencia al día 8, variación de peso al día 8, actividad similar a α -amilasa y excreción de ácido úrico.

4.1 Mantenimiento de la población de insectos en el laboratorio

La población del gorgojo de arroz se mantiene en el laboratorio en frascos de vidrio tapados con una doble malla, almacenados en oscuridad, a temperatura y humedad ambiental. La arveja verde partida se utiliza como dieta de mantenimiento. Para el repique de la población se

vacía un frasco de un cultivo anterior con menos de 10 semanas de antigüedad sobre un colador de plástico con malla ancha dispuesto sobre un recipiente apropiado. Con un pincel ancho, se remueven circularmente los restos de la dieta a fin de que los insectos se depositen en el recipiente. En un frasco de vidrio limpio, se depositan 100 g de arveja verde partida y una población de 50 o 100 gorgojos de arroz. Usualmente se preparan cuatro frascos por repique.

4.2 Preparación de las dietas experimentales

Las dietas de almidón se suministraron en forma de semillas artificiales de manera que los insectos pudieran alimentarse. Fueron preparadas mezclando 7 g de almidón crudo con suficiente agua destilada hasta obtener una lechada con una consistencia semisólida (Martín, 2010). Gotas de esta suspensión se colocaron en un papel encerado y se dejaron secar en una estufa a 37 °C durante 24 horas.

4.3 Preparación de los cultivos para el bioensayo

Para cultivar los insectos que se utilizan en el bioensayo, 200 individuos fueron colocados en un frasco de vidrio con 200 g de arveja verde partida (un insecto por cada gramo de alimento). Se utilizaron ocho frascos para cada bioensayo, los cuales fueron cubiertos con una doble malla y mantenidos en oscuridad a temperatura y humedad ambiental. Después de dos semanas, los padres fueron descartados. La generación F1, que emergió de tres a cuatro semanas más tarde, se utilizó para la selección de los individuos a utilizar en el bioensayo.

4.4 Selección de los individuos para el bioensayo

La selección de los individuos (adultos jóvenes) se realizó el día anterior al inicio del bioensayo (día -1), buscando obtener grupos de insectos con características físicas y edad

similares. Los individuos más pequeños a simple vista (más jóvenes, usualmente de color rojizo) y los individuos más grandes (más longevos, usualmente de color marrón oscuro) fueron descartados. Posteriormente, se formaron grupos de 30 individuos por réplica de color marrón claro con tamaños similares entre sí y un peso promedio por individuo de $1,7 \pm 0,1$ mg. De esta forma se obtuvieron poblaciones relativamente homogéneas de insectos con edad y masa corporal semejantes. Estos grupos fueron mantenidos en ayuno durante toda la noche.

4.5 Bioensayo del gorgojo de arroz

Para dar inicio al desarrollo del bioensayo (día 0), cada grupo de 30 insectos fue transferido a un vial de vidrio con 2 g de la dieta experimental correspondiente. Adicionalmente, se utilizaron controles de calidad y una dieta de referencia para llevar a cabo cada bioensayo. Los controles de calidad se utilizaron para evaluar la respuesta de los insectos en dos condiciones fisiológicas extremas: una con restricción total del alimento (condición de ayuno) y otra en la cual los insectos fueron alimentados con la dieta de mantenimiento: arveja verde partida (condición alimentada). La referencia utilizada fue el almidón de maíz (un almidón de alta digestibilidad) suministrado bajo la forma de semillas artificiales y que se utilizó para comparar la digestibilidad *in vivo* de las dietas experimentales.

Cada dieta fue evaluada por triplicado. La duración del bioensayo fue de ocho días. Interdiariamente se registró el peso y el número de individuos sobrevivientes en cada vial, descartando los insectos muertos. Al cumplirse el tiempo final del bioensayo (día 8), los insectos sobrevivientes fueron almacenados en viales de plásticos (a -20 °C) para realizar el ensayo de actividad similar a α -amilasa, al día siguiente. Los viales de vidrio con las excretas y los restos de la dieta se mantuvieron congelados (a -20 °C) para la estimación de la excreción de ácido úrico.

4.6 Estimación de la supervivencia y la variación de peso de los insectos

Los biomarcadores supervivencia y variación de peso fueron calculados usando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Supervivencia (\%)} = \frac{\# \text{ de individuos sobrevivientes al día "n"}}{\# \text{ de individuos al día 0}} \times 100$$

$$\text{Variación de peso (\%)} = \frac{\text{peso promedio al día "n"} - \text{peso promedio al día 0}}{\text{peso promedio al día 0}} \times 100$$

El peso promedio fue calculado por individuo vivo.

4.7 Estimación de la actividad similar a α -amilasa

La actividad similar a α -amilasa de los grupos de insectos alimentados con los almidones de apio y mapuey, se estimó mediante el método descrito por González-Quilen (2013) y Lovera y colaboradores (2017), de la siguiente forma: los insectos congelados previamente se homogeneizaron en un homogeneizador Potter-Elvehjem (10 golpes a 750 rpm durante 80 s) con buffer acetato de sodio (50 mmol/L, pH 5 a 4 °C; relación buffer:insecto de 0,067 mL por insecto) y el extracto fue centrifugado a 16.000 x g durante 5 min. Se incubó durante 3 min a 45 °C una alícuota de 40 μ L del sobrenadante en 1 mL del mismo buffer, conteniendo 2,5% de almidón soluble de papa (Fisher Scientific Inc, New Jersey, EE. UU.). La reacción enzimática se detuvo mediante la adición de 1 mL del reactivo del ácido dinitrosalicílico y los azúcares reductores fueron estimados por el método de Hostettler y col. (1951). Para calcular el contenido de azúcares reductores, se utilizó una curva de calibración elaborada con una solución estándar de maltosa a 10 g/L: $y = 0,394x - 0,008$ ($R^2 = 0,999$; $n = 2$). La actividad similar a α -amilasa fue expresada como micromoles de equivalentes de maltosa liberados por segundo por litro del sobrenadante.

4.8 Estimación de la excreción de ácido úrico

La excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz se estimó mediante el método propuesto por González-Quilen y Laurentin (2012) y Lovera y colaboradores (2017) de la siguiente manera: para extraer el ácido úrico excretado por el gorgojo de arroz, los restos de cada dieta se homogeneizaron en un mortero y una alícuota de 500 mg se devolvió al vial. Luego, el contenido del vial se mezcló durante 1 min con 2 mL de agua hirviendo. La suspensión se centrifugó a $16.000 \times g$ durante 5 min. El ácido úrico en el sobrenadante se cuantificó usando el ensayo uricasa/peroxidasa (Invelab® 89015, Caracas, Venezuela) y fue reportado como los miligramos de ácido úrico excretado durante los ocho días del bioensayo, por el peso de los insectos sobrevivientes (en kilogramos) al día 8.

Cuando las dietas de las variedades de apio fueron analizadas según el método descrito, se formó un gel de consistencia firme que no permitió tomar la alícuota necesaria para realizar el ensayo colorimétrico. Esto posiblemente se deba a una combinación de propiedades fisicoquímicas de este almidón: una alta capacidad de absorción de agua y una alta solubilidad, debida a fuerzas asociativas débiles entre los gránulos que promueven un aumento de la fuerza micelar para ligarse al agua; favoreciendo consecuentemente su solubilidad y la formación de un gel con una consistencia firme y estable (García y col., 2007; Liendo y col., 2011). De igual forma, se ha reportado un bajo grado de sinéresis y bajo nivel de retrogradación en este almidón (Tovar, 2002; Santacruz, 2005). Un bajo valor de sinéresis es indicativo de una lenta retrogradación de los geles de almidón debido a las fuertes interacciones entre la amilosa/amilopectina dispersa y las moléculas de agua (Liu y col., 2014). Estas propiedades atribuidas al almidón de apio representan una influencia favorable en la estabilidad de los geles formados (Jayakody y col., 2005).

Debido a esto, para extraer el ácido úrico excretado por el gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio, los restos de cada dieta se homogeneizaron en un mortero y una alícuota de 500 mg se devolvió al vial. La extracción del ácido úrico se llevó a cabo sustituyendo el agua hirviendo por 2 mL de una solución de carbonato de litio 5 g/L a temperatura ambiente (Bhattacharya y col., 1969; Souquett y Laurentin, comunicación personal). De esta manera, al realizar la extracción del ácido úrico a temperatura ambiente, se evitó el problema de la gelatinización del almidón de apio y por lo tanto la formación del gel. Para el resto del procedimiento, se siguieron los pasos descritos por González-Quilen y Laurentin (2012) y Lovera y colaboradores (2017).

5. Análisis estadístico

Los cálculos y las regresiones lineales (coeficiente de determinación) de las curvas patrón se realizaron con Microsoft Office Excel[®] 2010 de Microsoft Corporation (Redmon, WA, EE. UU.). Los análisis de varianza de una vía y las correlaciones simples (coeficiente de Pearson) se realizaron con Minitab[®] 16 de Minitab Inc. (State College, Pensilvania, EE. UU.). Se utilizó $\alpha = 0,05$ como nivel de significancia.

6. Financiamiento

Esta investigación fue realizada con el apoyo del proyecto “Producción de semilla mejorada y certificada de ajo (*Allium sativum*), apio criollo (*Arracacia xanthorrhiza*), fresa (*Fragaria ananassa*), cacao (*Theobroma cacao*), café (*Coffea arabica*) y zanahoria (*Daucus carota*)”; otorgado por la Corporación para el Desarrollo Científico y Tecnológico (CODECYT S.A) del Ministerio del Poder Popular para la Educación Superior, Ciencia y Tecnología en noviembre de 2016, el cual fue financiado por el proyecto LOCTI No. 2013000618.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo, se caracterizó la digestibilidad de los almidones de tres variedades (comercial, cacho de buey amarillo y quiroreño) de apio (*Arracacia xanthorrhiza* B.) y de tres variedades (blanco, morado liso y morado rugoso) de mapuey (*Dioscorea trifida* L.). Para ello, se llevaron a cabo los estudios *in vitro* e *in vivo* descritos en la sección anterior.

1. Composición química de los almidones de apio y de mapuey

La composición química de los almidones de apio y de mapuey se muestra en la **Tabla 3**. El porcentaje de humedad de los almidones de apio estuvo entre 8 – 16%. Pérez y col. (1999) obtuvieron una humedad de 14% para la variedad apio comercial, similar a lo obtenido en este trabajo. De igual forma, Lovera y col. (2017) reportaron un valor de 13% para la misma variedad. Mientras que, Rodríguez y col. (2005) estimaron 10% de humedad en el almidón de apio comercial, menor a lo obtenido en este estudio, al igual que Romero y col. (2014) que reportaron un valor de 4,7% en una variedad amarilla de este almidón.

Los almidones de mapuey exhibieron una humedad entre 14 – 16% (**Tabla 3**), estos valores fueron en general mayores en comparación con lo reportado por otros autores. Bou y col. (2006) estimaron una humedad de 9% para el mapuey blanco. Lovera y col. (2017) reportaron un valor de $13,1 \pm 0,1\%$ en la misma variedad. Smith (2010) reportó una humedad de 11,58% para el mapuey blanco, 11,57% para el mapuey morado liso y 10,84% para el mapuey morado rugoso. Asimismo, Pérez y col. (2012) y Bou y col. (2006) obtuvieron 12% de humedad para el almidón de mapuey blanco y mapuey morado, respectivamente. Mientras que, Gutiérrez y col. (2014) reportaron una humedad de 15% para el almidón de mapuey morado liso, resultado que coincide con lo estimado en este estudio. La humedad de los almidones es dependiente de

la humedad relativa de la atmósfera en la cual se almacenan y la humedad de equilibrio de los mismos depende del tipo de almidón (Bello, 2010).

Tabla 3. Composición química de los almidones de apio y de mapuey

Variedad	Humedad (%)*	Proteína cruda (%)**	Almidón total (%)**
Apio comercial	15,7 ± 0,1 ^a	0,32 ± 0,00 ^{0b}	88,2 ± 0,8 ^d
Apio cacho de buey amarillo	9,5 ± 0,3 ^c	0,20 ± 0,00 ^{1d}	91,6 ± 0,6 ^b
Apio quiroreño	8,3 ± 0,1 ^d	0,20 ± 0,00 ^{1e}	90,2 ± 1,6 ^{b,c}
Mapuey blanco	14,7 ± 0,1 ^b	0,32 ± 0,00 ^{0c}	84,5 ± 0,5 ^e
Mapuey morado liso	15,9 ± 0,1 ^a	0,32 ± 0,00 ^{1b}	93,6 ± 0,9 ^a
Mapuey morado rugoso	14,7 ± 0,1 ^b	0,42 ± 0,00 ^{1a}	88,5 ± 1,1 ^{c,d}

Los valores son el promedio ± la desviación estándar (n = 3). Dentro de cada columna, los valores con letras iguales como superíndice no difieren significativamente (p > 0,05; ANOVA, prueba LSD de Fisher).

*base húmeda; ** base seca.

En los almidones de apio se obtuvieron valores de proteína cruda entre 0,20% y 0,32%, para las tres variedades analizadas. Melito (1998) reportó un contenido de proteína cruda de 0,05% en el almidón de apio criollo amarillo. Igualmente, Pérez y col. (1999) obtuvieron 0,05% de proteína cruda en el almidón de apio. Rocha y col. (2010) reportaron 0,12% para este almidón y Lovera y col. (2017) obtuvieron 0,08% en el almidón de apio comercial. Estos resultados son más bajos que lo obtenido en el presente estudio (**Tabla 3**) sin embargo, Flores (2017) reportó un valor de 0,35% para el almidón de apio, similar a lo obtenido en este trabajo.

Por su parte, el contenido de proteína cruda en los almidones de mapuey estuvo entre 0,32% y 0,42% (**Tabla 3**) y coincide con el valor obtenido por Bou y col. (2006) para la variedad blanca (0,36%); no obstante, estos autores obtuvieron un valor de 0,06% para una variedad comercial de mapuey morado. Lovera y col. (2017) reportaron 0,18 ± 0,03% de proteína cruda en la variedad mapuey blanco. Tapia y col. (2012) obtuvieron un valor de 0,09% para una variedad comercial de mapuey morado; mientras que, Gutiérrez y col. (2014) reportaron un

porcentaje de proteína cruda de 0,38% para la variedad morado liso, que coincide con lo encontrado en este estudio.

El porcentaje de almidón total en las variedades de almidones de apio estudiadas estuvo entre 88 – 92%, siendo el valor más bajo el estimado para el apio comercial. Los valores obtenidos para las variedades de apio fueron más bajos que lo estimado por Tovar y col. (1999) y por Liendo y col. (2011) quienes reportaron para el almidón de apio comercial 98% y 95%, respectivamente. Asimismo, Pérez y col. (1999) obtuvieron un contenido de almidón total de 98% en el almidón de apio comercial. Entretanto, Lovera y col. (2017) reportaron $90,72 \pm 3,22\%$ de almidón total presente en el almidón de apio utilizando almidón proveniente de raíces compradas en un mercado local, lo que coincide con lo obtenido para los almidones de las variedades comercial, cacho de buey amarillo y quiroreño (**Tabla 3**); todos ellos con un contenido cercano o superior a 90% de almidón total, lo que sugiere una alta pureza.

En los almidones de mapuey el contenido más alto de almidón total lo presentó la variedad mapuey morado liso, seguido del almidón de mapuey morado rugoso y el almidón de mapuey blanco (84 – 94%; **Tabla 3**). Espitia y col. (2016) obtuvieron $93,0 \pm 1,52\%$ de almidón total en el almidón de mapuey. Asimismo, Lovera y col. (2017) obtuvieron $92,21 \pm 4,33\%$ de almidón total presente en el almidón de mapuey blanco. Ambos resultados fueron similares a lo obtenido para la variedad morado liso; sin embargo, las variedades blanco y morado rugoso mostraron contenidos de almidón total por debajo del 90%, lo que sugiere la existencia de impurezas en ellos. Sánchez (2018) reportó un contenido de almidón total entre 88 y 96% para almidones de cinco variedades de papa nativa (Mérida, Venezuela). En general, los almidones aislados de apio y de mapuey presentaron una alta pureza, estimada a través del contenido de almidón total presente en cada uno. Este nivel de pureza se corresponde con lo reportado para

otras fuentes tales como trigo y arroz (García-Alonso y col., 1999) y para almidones extraídos de raíces y tubérculos (Tapia y col., 2012).

2. Digestibilidad *in vitro* de los almidones de apio y de mapuey

2.1 Almidón disponible

En la **Tabla 4** se muestra el contenido de almidón disponible de las fuentes amiláceas estudiadas. El porcentaje de almidón disponible fue superior a 90%, en todos los almidones de apio y de mapuey. Las variedades apio cacho de buey amarillo y apio quiroreño no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$) con respecto al apio comercial. El contenido de almidón disponible para las tres variedades de apio, fue más alto que el valor de 86% reportado por Villacrés y col. (1998). Asimismo, fue mayor que lo reportado Lovera y col. (2017), quienes registraron un $91,2 \pm 1,4\%$ de almidón disponible presente en el almidón de apio comercial. Por su parte, Galeno (2006) y Tovar y col. (1999) reportaron en el almidón de apio contenidos de almidón disponible de 94 y 96%, respectivamente, ambos resultados similares a lo obtenido en este estudio.

Tabla 4. Contenido de almidón disponible en los almidones de apio y de mapuey

Variedad	Almidón disponible (%)
Apio comercial	$95,2 \pm 2,4^{a,b}$
Apio cacho de buey amarillo	$95,4 \pm 0,1^{a,b}$
Apio quiroreño	$94,0 \pm 1,0^b$
Mapuey blanco	$90,5 \pm 1,3^c$
Mapuey morado liso	$96,4 \pm 1,0^a$
Mapuey morado rugoso	$93,5 \pm 0,5^b$

Los valores son el promedio $\pm$ la desviación estándar sobre la base seca ($n = 3$). Los valores con letras iguales como superíndice no difieren significativamente ($p > 0,05$; ANOVA, prueba LSD de Fisher). Como control de calidad para el ensayo de almidón disponible se utilizó el almidón de papa comercial *Potatis mjöl* (Lyckeby Starch AB, Kristianstad, Suecia), el valor obtenido fue $94,9 \pm 0,70\%$; $n = 12$.

Mientras tanto para mapuey, el menor contenido de almidón disponible lo exhibió la variedad mapuey blanco ($p < 0,05$) en comparación con las variedades morado liso y morado rugoso. Lovera y col. (2017) en un estudio de la digestibilidad de almidones, reportaron $94,0 \pm 1,7\%$ de almidón disponible en el almidón de mapuey blanco, resultado que fue más alto que lo obtenido para esta variedad en el presente trabajo (**Tabla 4**). Por su parte, Moreno (2016) reportó valores más bajos (80 – 89%) de almidón disponible para seis clones de ñame (*Dioscorea alata*) en comparación con lo encontrado en las variedades de mapuey. Tapia y col. (2012) señalan que el almidón de mapuey es considerado de naturaleza cerosa o waxy, por presentar un alto contenido de amilopectina (96,2 – 98,6%), lo que explicaría parcialmente el menor contenido de almidón disponible en estos almidones, sin embargo, en la variedad mapuey morado liso se obtuvo un valor alto de almidón disponible.

2.2 Tasa de α -amilólisis *in vitro*

Las curvas de α -amilólisis *in vitro* estimadas para los almidones crudos se muestran en la **Figura 4** y para los almidones gelatinizados en la **Figura 5**. El estudio de la cinética de hidrólisis se basó en el análisis de la velocidad inicial (que es la proporción del almidón hidrolizado en los primeros 15 minutos del ensayo) y la magnitud final (que es la proporción total de almidón hidrolizado durante los 60 minutos del ensayo) de la α -amilólisis del almidón (**Tabla 5**).

En los almidones crudos de apio (**Figura 4A–C**), la variedad quiroreño presentó una velocidad inicial y una magnitud final mayor a la obtenida para las variedades cacho de buey amarillo y comercial ($p < 0,05$). Ambas variedades presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto la variedad comercial (**Tabla 5**). Villacrés y col. (1998) determinaron la tasa de hidrólisis del almidón crudo de apio, obteniendo 9,64% de magnitud final. Asimismo, Lovera

(2015) en un estudio de la hidrólisis enzimática del almidón crudo de apio, reportó una velocidad inicial de 4,53% y una magnitud final de 10,5%. En otros estudios de la digestibilidad, García y col. (2007) y Rocha y col. (2008) señalan que el almidón crudo de apio presenta alta digestibilidad por la acción de la α -amilasa pancreática y α -amilasa bacteriana. Martín (2010) analizó el almidón crudo de maíz regular y encontró una magnitud final de 9,6% y Lovera (2015) reportó una magnitud final de hidrólisis de 9,7% para el almidón crudo de yuca. Estos valores reportados en otras fuentes de almidón son similares a los obtenidos en este estudio para los almidones de apio y apoyan el alto grado de hidrólisis obtenido con estos almidones (**Tabla 5**).

Por su parte, los almidones de mapuey blanco, morado liso y morado rugoso, evaluados en su estado crudo (**Figura 4D–F**), presentaron una velocidad inicial y una magnitud final de hidrólisis muy baja: 0,24 – 0,83% y 1,2 – 2,7%, respectivamente (**Tabla 5**). Esto les acredita una baja digestibilidad a los tres almidones crudos de mapuey. Este resultado se apoya en lo obtenido por Lovera (2015) quien reportó una velocidad inicial de 1,67% y una magnitud final de 3,01%, para el almidón de mapuey blanco ($n = 2$); señalando al mismo como un almidón de baja digestibilidad en su estado crudo. Asimismo, esta autora encontró valores bajos de velocidad inicial (1,18% y 1,28%) y de magnitud final de hidrólisis (2,91% y 2,62%) en almidones crudos de papa y de ocumo chino, respectivamente; similar a lo observado con los almidones de mapuey en el presente estudio. Mientras tanto, González-Quilen (2013) señaló que los almidones crudos de bananos presentan velocidades iniciales (0 – 1,5%) y magnitudes finales de hidrólisis (0,2 – 2,8%) muy bajas. En almidones de seis clones de ñame, Moreno (2016) reportó velocidades iniciales (0,2 – 1,1%) y magnitudes finales de hidrólisis (0,5 – 2,1%) muy bajas, similares a las obtenidas para los almidones crudos de mapuey.

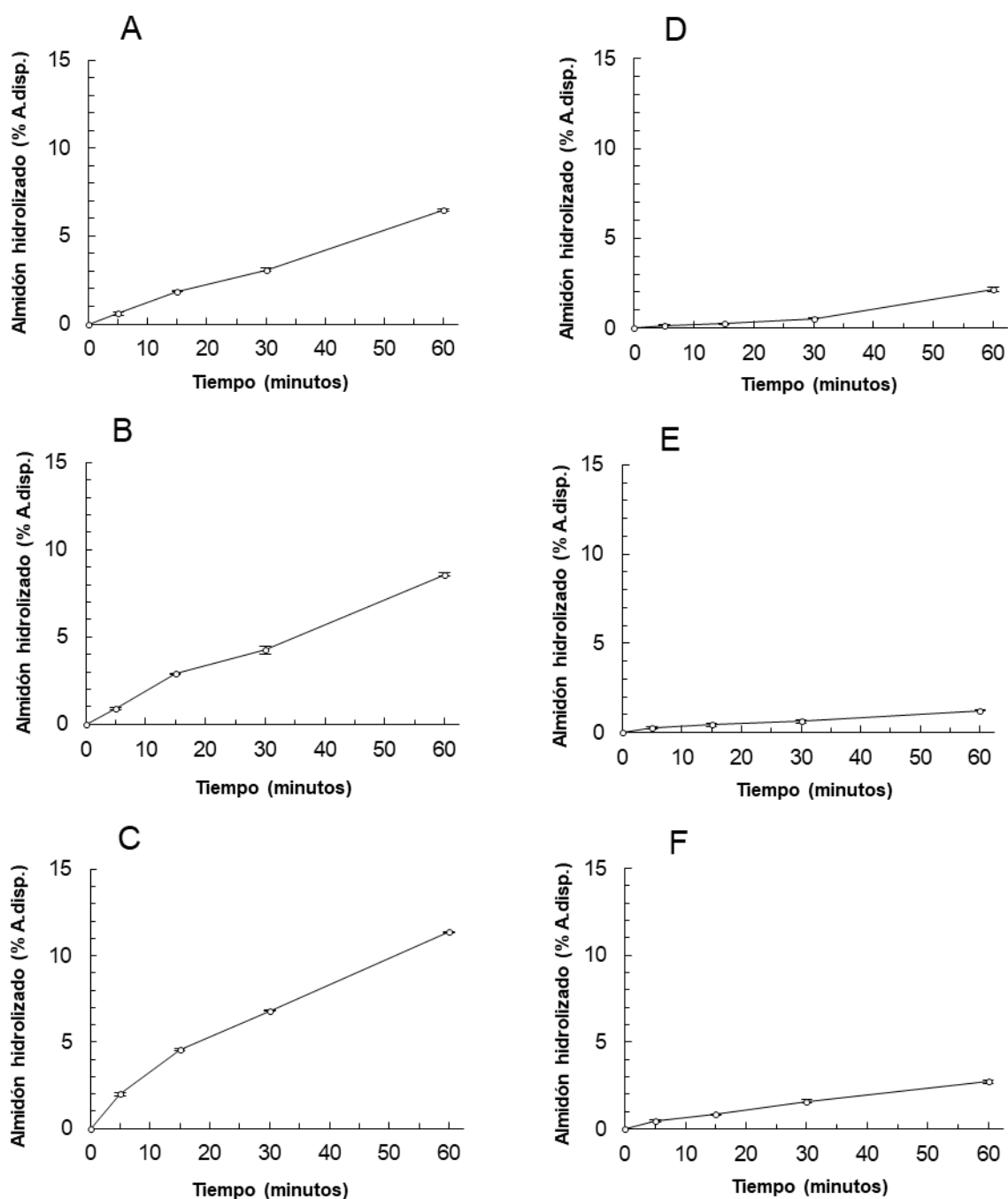


Figura 4. Cinética de hidrólisis *in vitro* de los almidones crudos de apio y mapuey

Cada punto representa el porcentaje de almidón hidrolizado sobre la base de almidón disponible de los almidones crudos. A: apio comercial, B: apio cacho de buey amarillo, C: apio quiroreño, D: mapuey blanco, E: mapuey morado liso, F: mapuey morado rugoso. Las barras indican la desviación estándar de la media ($n = 3$). Para cada variedad, la cinética del almidón crudo se midió simultáneamente con la del almidón gelatinizado y el control de calidad mostrados en la Figura 5.

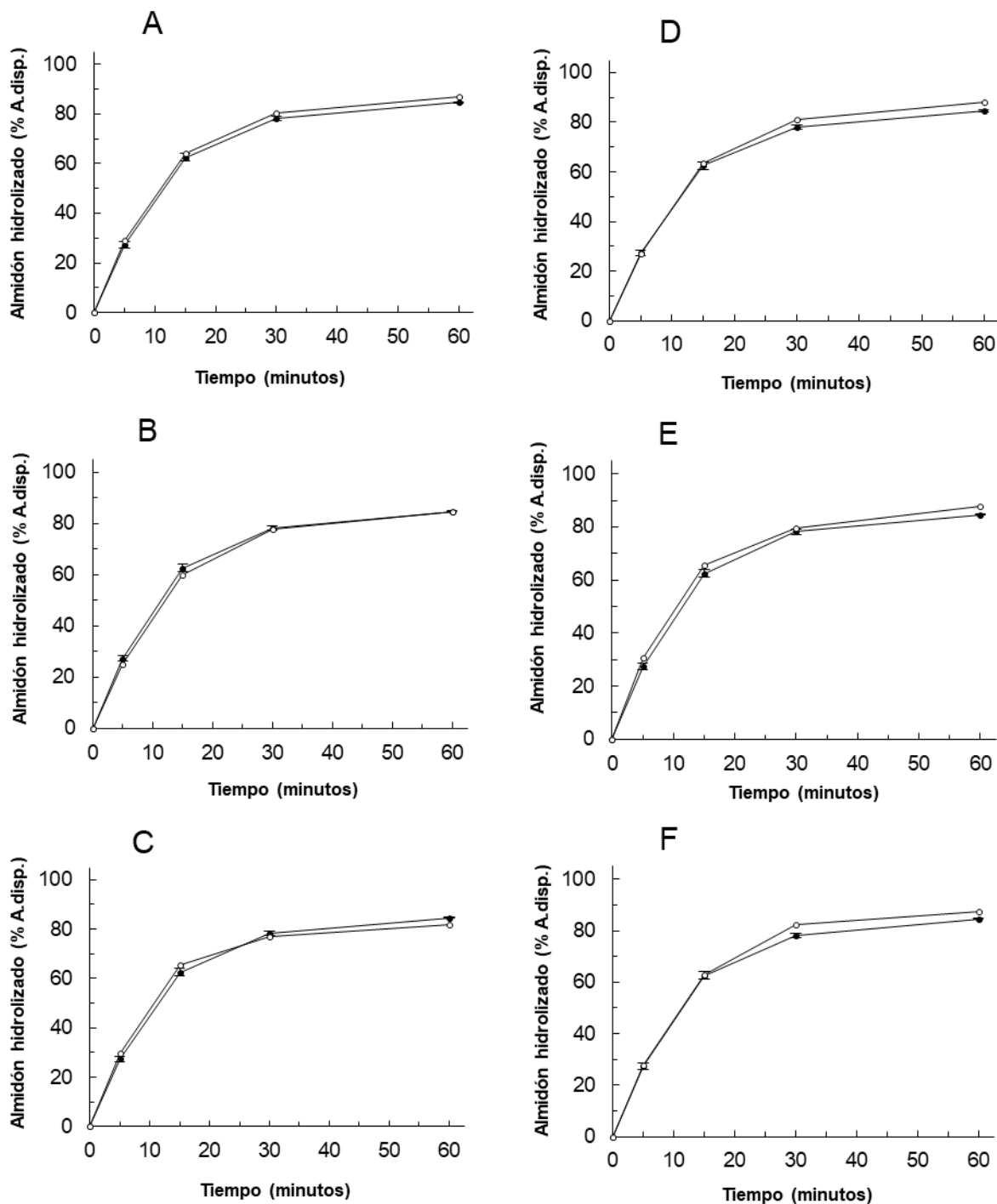


Figura 5. Cinética de hidrólisis *in vitro* de los almidones gelatinizados de apio y de mapuey

Cada punto representa el porcentaje de almidón hidrolizado sobre la base de almidón disponible de los almidones gelatinizados y es el promedio de dos determinaciones próximas. A: apio comercial, B: apio cacho de buey amarillo, C: apio quiroreño, D: mapuey blanco, E: mapuey morado liso, F: mapuey morado rugoso. Como control de calidad para los ensayos de α -amilólisis se utilizó el almidón de maíz (Maizina Americana® Alfonzo Rivas & CIA, Turmero, Venezuela) gelatinizado ($n = 12$); representado en cada panel por los círculos cerrados.

Tabla 5. Velocidad inicial y magnitud final de la tasa de α -amilólisis *in vitro* de los almidones de apio y de mapuey

Variedad	Crudo		Gelatinizado	
	Velocidad inicial (%)	Magnitud final (%)	Velocidad inicial (%)	Magnitud final (%)
Apio comercial	1,85 $\pm$ 0,03 ^c	6,49 $\pm$ 0,06 ^c	64,2	86,9
Apio cacho de buey amarillo	2,90 $\pm$ 0,03 ^b	8,58 $\pm$ 0,10 ^b	59,9	84,6
Apio quiroreño	4,57 $\pm$ 0,06 ^a	11,35 $\pm$ 0,04 ^a	65,3	81,9
Mapuey blanco	0,24 $\pm$ 0,00 ^f	2,16 $\pm$ 0,10 ^e	63,3	88,0
Mapuey morado liso	0,49 $\pm$ 0,07 ^e	1,24 $\pm$ 0,06 ^f	65,7	87,9
Mapuey morado rugoso	0,83 $\pm$ 0,03 ^d	2,74 $\pm$ 0,11 ^d	62,9	87,3

Los porcentajes son el promedio del almidón hidrolizado sobre la base de almidón disponible ($n = 3$ para los almidones crudos [promedio $\pm$ la desviación estándar]; los almidones gelatinizados están presentados como el promedio de duplicados próximos). Dentro de cada columna, los valores con letras iguales como superíndice no difieren significativamente ($p > 0,05$; ANOVA, prueba LSD de Fisher). La velocidad inicial es la proporción de almidón hidrolizado en los primeros 15 minutos, mientras que la magnitud final es la proporción total de almidón hidrolizado al cabo de los 60 minutos. Como control de calidad para los ensayos de α -amilólisis se utilizó el almidón de maíz gelatinizado (Maizina Americana®, Alfonso Rivas & CIA, Turmero, Venezuela); los valores obtenidos fueron $62,5 \pm 1,5\%$ y $84,6 \pm 0,3\%$ ($n = 12$), para la velocidad inicial y la magnitud final, respectivamente.

Dado que la hidrólisis enzimática del almidón implica enzimas en solución actuando sobre un sustrato sólido, el área de superficie accesible a las enzimas se convierte en un parámetro cinético importante (Tester y col., 2006), la digestión enzimática de los gránulos de almidón de menor tamaño difiere de los de un tamaño más grande (Lindeboom y col., 2004); observándose que los gránulos más pequeños se hidrolizan más rápido (Oates, 1997; Rocha y col., 2008b). Ciertamente, Rocha y col. (2010) encontraron que el gránulo de almidón de apio posee un diámetro promedio de 10,8 μm , el cual es similar al valor reportado por Mishra y Rai (2006) para el almidón de maíz (12,2 μm); no obstante, es más bajo en comparación con el del almidón de mapuey (24,4 μm) de acuerdo a lo obtenido por Bou y col. (2006). Teniendo esto en cuenta, podrían explicarse los valores de velocidad inicial y magnitud final obtenidos en este estudio para los almidones de apio en su estado crudo.

La tasa de α -amilólisis *in vitro* aporta información sobre la cinética de la digestión de almidones (Martín, 2010). Se ha observado que este parámetro se correlaciona con algunas respuestas fisiológicas de los seres vivos, como los niveles plasmáticos de glucosa e insulina, razón por la cual su estudio ha sido de suma importancia en el análisis de la biodisponibilidad de almidones (Holm y col., 1985). La baja tasa de α -amilólisis encontrada *in vitro*, en los almidones crudos de mapuey de las variedades blanco, morado liso y morado rugoso pudiera estar asociada a una baja respuesta glucémica en los seres vivos.

Con respecto a los almidones gelatinizados, la velocidad inicial de hidrólisis de los almidones de apio (60 – 65%) y de mapuey (62 – 66%) fueron similares entre sí; mientras que, la magnitud final de los almidones de mapuey (87 – 88%) fue ligeramente mayor que la de los almidones de apio (82 – 87%) (**Tabla 5**). La cinética de α -amilólisis en todos los almidones gelatinizados, independientemente de la fuente botánica o variedad, mostró un comportamiento similar al observado con el almidón de maíz gelatinizado (utilizado como control de calidad en este ensayo; **Figura 5**).

En comparación con los almidones crudos, la tasa de hidrólisis aumentó notablemente en los almidones gelatinizados de apio y de mapuey, como consecuencia del proceso de gelatinización; lo que se vio reflejado tanto en la velocidad inicial como en la magnitud final de hidrólisis (**Tabla 5**). En los almidones gelatinizados, las enzimas pueden acceder a una mayor cantidad de sustrato (Colonna y col., 1992), al ocurrir el hinchamiento del gránulo y la posterior desorganización de su estructura cristalina; conduciendo a un incremento en la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática.

2.3 Almidón resistente total

En la **Tabla 6** se muestran los resultados del contenido de almidón resistente total en los almidones crudos de apio y de mapuey. El almidón de apio quiroreño mostró de forma significativa ($p < 0,05$) menor contenido de almidón resistente total, con respecto al almidón de apio cacho de buey amarillo. Adicionalmente, se tiene que en ambas variedades se obtuvo un contenido significativamente ($p < 0,05$) más bajo de almidón resistente total en comparación con el almidón de apio comercial.

Tabla 6. Contenido de almidón resistente total de los almidones de apio y de mapuey

Variedad	Almidón resistente total (%)
Apio comercial	$17,6 \pm 0,1^d$
Apio cacho de buey amarillo	$13,9 \pm 0,1^e$
Apio quiroreño	$13,0 \pm 0,1^f$
Mapuey blanco	$40,0 \pm 0,9^c$
Mapuey morado liso	$44,8 \pm 0,2^a$
Mapuey morado rugoso	$42,6 \pm 0,2^b$

Los valores son el promedio $\pm$ la desviación estándar sobre la base seca ($n = 3$). Los valores con letras iguales como superíndice no difieren significativamente ($p > 0,05$; ANOVA, prueba LSD de Fisher). Como control de calidad para el ensayo de almidón resistente total se utilizó Corn flakes® (Kellogg's, Maracay, Venezuela), el valor obtenido fue $3,30 \pm 0,03\%$; $n = 4$.

Los almidones de apio, variedad quiroreño y variedad cacho de buey amarillo mostraron un tenor de almidón resistente entre 5 – 15%, el cual los ubica según la clasificación propuesta por Goñi y col. (1996) en el grupo de alimentos con una *alta* cantidad de almidón resistente. Además, la variedad comercial mostró un contenido de almidón resistente *muy alto* ($> 15\%$), similar a lo encontrado por Lovera y col. (2017) para esta variedad de apio. Galeno (2006) estimó un contenido de almidón resistente total de 7,5% para el almidón de apio, menor a lo obtenido en este estudio.

En los almidones de mapuey se obtuvieron valores entre 40 – 43%, siendo la variedad morado liso la que presentó el valor más alto ($p < 0,05$) con respecto a las variedades morado rugoso y blanco. Además, la variedad blanca exhibió un valor significativamente ($p < 0,05$) más bajo en comparación con las variedades moradas (**Tabla 6**). Lovera y col. (2017) obtuvieron en el almidón de mapuey blanco, un elevado contenido de almidón resistente total ($55,8 \pm 3,7\%$), similar a lo estimado en este estudio. Por otro lado, estos mismos autores determinaron que el contenido de almidón resistente presente en el almidón de papa fue de $48,5 \pm 7,5\%$. Además, Marín (2009) y González-Quilen (2013) estimaron el tenor de almidón resistente en almidones de musáceas (48 – 50%) y en almidones de bananos (40 – 53%), respectivamente. Estos contenidos de almidón resistente total fueron similares a lo encontrado para el almidón de mapuey en este trabajo y se corresponde con la baja digestibilidad de estos almidones cuando se consumen crudos (Englyst y col., 1986; Englyst y col., 1992). Por su parte, Moreno (2016) reportó valores entre 52 y 71% de almidón resistente total para seis almidones de ñame, los cuales fueron más altos a lo obtenido en el presente estudio para mapuey.

La resistencia a la digestión enzimática puede estar asociada con almidones cuya organización cristalina del gránulo posee un patrón de difracción tipo B (Englyst y col., 1992). En efecto, un patrón de difracción tipo B ha sido reportado para los almidones de apio (Medina y Salas, 2008; Rocha y col., 2011) y de mapuey (Pérez y col., 2011; Tapia y col., 2012). Los gránulos de almidón con estructura cristalina del tipo B presentan en la periferia una capa gruesa formada por bloques grandes, que se encuentran apilados y están constituidos por lamelas cristalinas y amorfas de amilopectina con un alto grado de compactación (Gallant y col., 1997). Esta organización dificulta el acceso de las enzimas digestivas al interior del gránulo y los hace más resistentes a la hidrólisis.

No obstante, a pesar de que el almidón de apio y el almidón de mapuey poseen patrones de difracción tipo B, el contenido de almidón resistente total (**Tabla 6**) y la digestibilidad de sus almidones crudos (**Figura 4** y **Tabla 5**) difirieron entre sí de forma significativa ($p < 0,05$). Se sabe que existe una relación entre el patrón de cristalinidad y la digestibilidad del almidón, a pesar de esto, Cai y Shi (2014) proponen que el tipo de cristalinidad por sí solo, parece no ser un factor clave que afecte la digestibilidad de los gránulos del almidón nativo, y que la resistencia enzimática de los almidones con patrón de difracción tipo B, podría atribuirse a otras características estructurales y de organización del gránulo. Esta es una evidencia que pudiera explicar las diferencias encontradas en los distintos almidones.

3. Digestibilidad *in vivo* de los almidones de apio y de mapuey

Los resultados obtenidos en los parámetros que caracterizan la digestibilidad *in vitro* de los almidones estudiados, requieren estudios detallados de su comportamiento y destino metabólico *in vivo* (Tovar, 2001). El gorgojo de arroz (*S. oryzae*) fue empleado como modelo animal en este trabajo para evaluar la digestibilidad *in vivo* de los almidones aislados de apio y de mapuey. Los individuos seleccionados para el bioensayo proceden de cultivos mantenidos con arvejas verdes partidas, una dieta que satisface con creces los requerimientos nutricionales de este insecto. Esos estudios permiten el análisis de un número alto de muestras en un corto período de tiempo, lo que podría conducir a la identificación de aquellos almidones con características nutricionales de interés que posteriormente puedan ser evaluadas mediante estudios en animales superiores, incluyendo el hombre (González-Quilen, 2013).

En el presente estudio, se evaluó la supervivencia, la variación del peso, la actividad similar a α -amilasa y la excreción de ácido úrico de los insectos, como biomarcadores de la digestibilidad de las dietas suministradas. Considerando que el vaciamiento del buche de

S. oryzae ocurre al cabo de tres días (Carmona y Casotto, 2001), a fin de garantizar que el biomarcador evaluado no se vea influenciado por la dieta de mantenimiento, sino que constituya realmente una respuesta biológica a las dietas ensayadas, se consideraron para los análisis estadísticos de los biomarcadores supervivencia y variación de peso, los valores correspondientes al día 8 del bioensayo (González-Quilen, 2013).

3.1 Supervivencia y variación de peso del gorgojo de arroz en la condición de ayuno, condición alimentada y la referencia

La **Figura 6** muestra las curvas de supervivencia y la **Figura 7** muestra las curvas de variación de peso del gorgojo de arroz en la condición de ayuno, condición alimentada y la referencia, durante los ocho días del bioensayo. Con la finalidad de verificar que el bioensayo del gorgojo de arroz se desarrolla en forma adecuada, en cada experiencia se incluyen dos condiciones extremas: por un lado la privación total de alimento (condición de ayuno) y por el otro, el suministro de un alimento con suficientes nutrientes para el crecimiento y el desarrollo adecuado del insecto (condición alimentada); esta dieta corresponde a arvejas verdes partidas (Carmona y Gómez-Sotillo, 1997), dieta que también es usada para el mantenimiento de los cultivos del insecto en el laboratorio.

La supervivencia de los insectos que permanecieron en ayuno disminuyó a partir del día 4, hasta alcanzar el $28,9 \pm 11,1\%$ al día 8; valor bajo en comparación con la supervivencia reportada para esta condición por Martín (2010); González-Quilen (2013); Lovera y col. (2017) y Sánchez (2018), quienes reportaron valores entre 60 y 80%. No obstante, León (2015) reportó una supervivencia de apenas 4% al día 8 y sugirió como posible razón de este resultado, la alta reducción de peso (-42%) encontrada en esta condición al final del bioensayo.

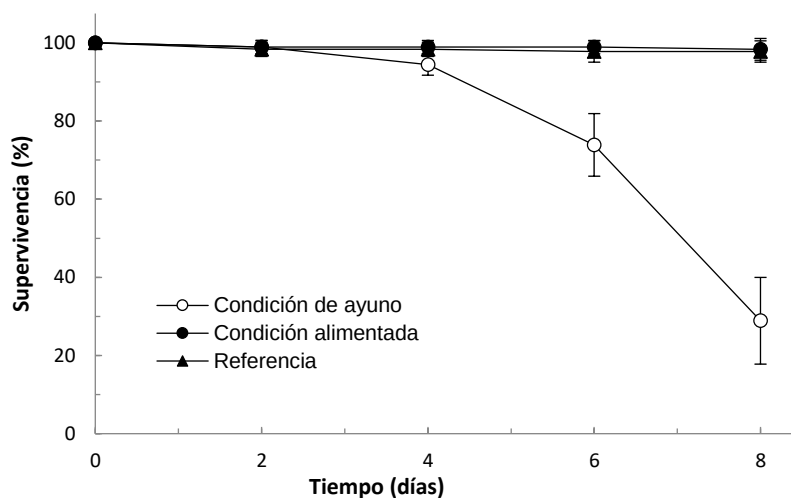


Figura 6. Supervivencia del gorgojo de arroz en la condición de ayuno, condición alimentada y la referencia.

Las barras indican la desviación estándar de la media ($n = 3$). La condición alimentada fue la dieta de arvejas verdes partidas. La referencia fue el almidón de maíz.

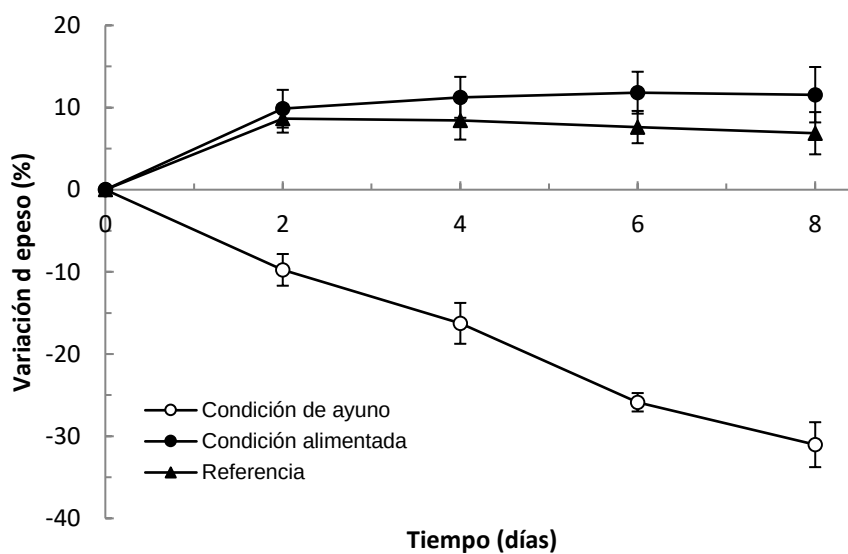


Figura 7. Variación de peso del gorgojo de arroz en la condición de ayuno, condición alimentada y en la referencia

Las barras indican la desviación estándar de la media ($n = 3$). La condición alimentada fue la dieta de arvejas verdes partidas. La referencia fue el almidón de maíz.

La variación de peso para la condición de ayuno al día 8 fue $-31,0 \pm 2,7\%$, valor ligeramente mayor a lo reportado en trabajos previos, ubicados entre -20 y -30% (Galeno, 2006; Lovera 2008; González-Quilen, 2013; Lovera y col., 2017; Sánchez, 2018). La pérdida de peso observada en esta condición pudiera explicar la baja supervivencia registrada (**Figura 6**). La disminución de peso del insecto durante el bioensayo es una consecuencia del consumo de las reservas corporales, con la subsecuente pérdida de agua, de grasa y de proteína corporal (López, 1999). Al ser utilizadas como nutrientes las proteínas corporales que desarrollan funciones vitales para el organismo, como lo es el sistema enzimático de la cadena respiratoria (Kleiber, 1975), se genera un deterioro progresivo de la salud de los individuos que deriva en la muerte. No obstante, la baja supervivencia obtenida para la condición de ayuno no es lo esperado y merece ser investigado a profundidad.

Por otra parte, en la condición alimentada la supervivencia obtenida ($98,3 \pm 2,8\%$) fue similar a la reportada por Martín (2010), González-Quilen (2013), León (2015), Lovera y col. (2017) y Sánchez (2018), quienes obtuvieron valores entre 98% – 100% . Además, el incremento de peso de los insectos fue de $11,6 \pm 3,4\%$ (**Figura 7**); sobrepasando ligeramente los incrementos de peso reportados por Galeno (2006), Lovera (2008) y González-Quilen (2013) que van desde 2 a 10% . Sin embargo, León (2015) y Sánchez (2018) obtuvieron un incremento de 11% y $13,8 \pm 3,1\%$, respectivamente, en la condición alimentada.

La mayor pérdida de peso en la condición de ayuno y la mayor ganancia de peso en la condición alimentada, pudieran ser un efecto del aumento de la tasa metabólica del insecto. De igual forma, Sánchez (2018), quien trabajó en una época y condiciones ambientales semejantes a las de este trabajo, reportó un incremento de peso en la condición alimentada superior al obtenido por Galeno (2006), Lovera (2008) y González-Quilen, (2013). En este sentido,

Carvalho (1996) señala que cuando la temperatura es favorable ($27 - 31\text{ }^{\circ}\text{C}$) los insectos pequeños intercambian calor con mayor facilidad con el ambiente, tienen una actividad circulatoria y respiratoria más eficiente, una actividad metabólica más intensa y una mayor capacidad de aprovechar los recursos alimenticios. En función de esto, es posible que una mayor intensidad en la actividad metabólica de los insectos utilizados en este estudio respecto a los empleados por otros autores, sea consecuencia de una temperatura más favorable para su desarrollo; sin embargo, al no contar con registros de la temperatura y de la humedad relativa durante los días del bioensayo no se pudo verificar esta teoría.

Finalmente, una referencia que corresponde a un almidón de alta biodisponibilidad (en este caso, el almidón de maíz) se incluyó en cada bioensayo con la finalidad de comparar la digestibilidad de las dietas de apio y de mapuey con la digestibilidad de esta referencia, en cada uno de los biomarcadores estudiados (Martín, 2010; González-Quilen, 2013; León, 2015; Lovera y col., 2017; Sánchez, 2018).

La supervivencia al día 8 de los insectos alimentados con la referencia fue de $97,8 \pm 2,7\%$ (**Figura 6**) y no se encontraron diferencias ($p > 0,05$) con respecto a la condición alimentada, similar a lo reportado en estudios previos (Martín, 2010; González-Quilen, 2013; León, 2015; Lovera y col., 2017; Sánchez, 2018). Además, la ganancia de peso en los insectos alimentados con la referencia fue de $6,9 \pm 2,6\%$ (**Figura 7**) y no se encontraron diferencias ($p > 0,05$) con respecto a la condición alimentada, similar a lo establecido por otros investigadores que reportan un aumento entre 5 y 10% para la referencia (Galeno, 2006; Martín, 2010; González-Quilen, 2013; Lovera y col., 2017; Sánchez, 2018).

El hecho de que la supervivencia y la variación de peso de los individuos alimentados con la referencia haya sido la misma que en la condición alimentada, indica que el limitado aporte de nutrientes del almidón de maíz fue suficiente para satisfacer las demandas del mantenimiento de los insectos. De hecho, Carmona y col. (1998) lograron establecer que el almidón de maíz constituye una dieta basal mínima que aporta una cantidad de nutrientes limitada, aunque suficiente para satisfacer las demandas nutricionales del gorgojo de arroz y promover una ganancia de peso similar a la observada cuando el insecto es alimentado con arvejas verdes partidas, como en el presente estudio.

A pesar de que para la condición de ayuno, el biomarcador supervivencia al día 8 (más no así, la variación de peso al día 8) no se comportó como en la mayoría de las investigaciones previas, los resultados del bioensayo para las variedades de apio y de mapuey estudiadas mantienen su validez porque la digestibilidad de esos almidones es comparada con la de la referencia.

3.2 Supervivencia del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio y de mapuey

La **Figura 8** muestra la supervivencia de los insectos alimentados con los almidones de apio y de mapuey, durante los ocho días del bioensayo. La supervivencia de los insectos alimentados con el almidón de apio comercial ($96,7 \pm 3,3\%$), apio cacho de buey amarillo ($98,9 \pm 1,9\%$) y apio quiroreño ($100 \pm 0,0\%$) se mantuvo cercana al 100% (**Figura 8A–C**). La supervivencia al día 8 de estos insectos no presentó diferencias ($p > 0,05$) al ser comparada con la referencia ($97,8 \pm 2,7\%$).

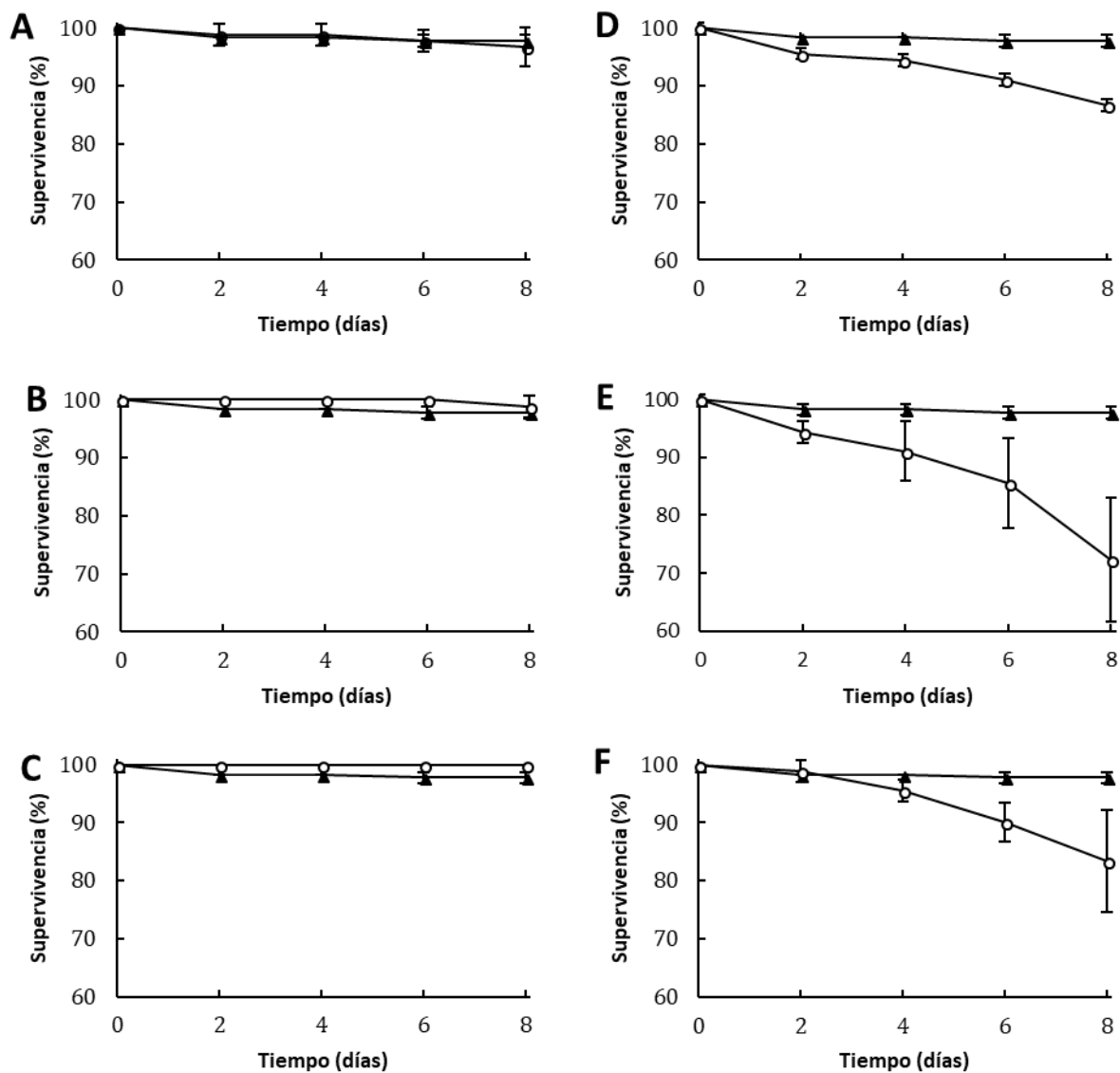


Figura 8. Supervivencia del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio y de mapuey

A: apio comercial, B: apio cacho de buey amarillo, C: apio quiroreño, D: mapuey blanco, E: mapuey morado liso, F: mapuey morado rugoso. Las barras indican la desviación estándar de la media (n = 3). La referencia fue el almidón de maíz, representado en cada panel por los triángulos cerrados.

Lovera (2015) reportó una supervivencia de 100% en insectos alimentados con semillas artificiales de almidón de apio, yuca, maíz waxy y ocumo chino; similar a lo obtenido en el presente estudio para los almidones de apio. La supervivencia al día 8 no fue un biomarcador de la digestibilidad de los almidones de apio debido a que no logró discriminar entre las dietas ni correlacionó con ninguna de las variables *in vitro* evaluadas para este almidón.

Por otro lado, en los insectos alimentados con almidón de mapuey blanco ($86,7 \pm 3,3\%$) el valor de supervivencia al día 8 no mostró diferencias ($p > 0,05$) con respecto a la referencia ($97,8 \pm 2,7\%$). Mientras que, en los que fueron alimentados con almidones de mapuey morado liso ($72,2 \pm 10,7\%$) y de mapuey morado rugoso ($83,3 \pm 8,8$), la supervivencia al día 8 fue menor a la de la referencia ($p < 0,05$) (**Figura 8D–F**). Lovera y col. (2017) utilizando como modelo biológico el gorgojo de arroz alimentado con semillas artificiales de almidón de mapuey blanco, señalaron una supervivencia al día 8 de $93 \pm 3\%$ valor que fue menor ($p < 0,05$) a la referencia. Sánchez (2018) reportó una supervivencia al día 8 de $84,4 \pm 1,9\%$ en insectos alimentados con almidón de papa nativa de la variedad tiniruca, resultado que fue menor al ser comparado con la referencia ($p < 0,05$). Los resultados obtenidos por estos autores se asemejan a lo obtenido para los almidones de mapuey utilizados en el presente estudio.

Por su parte, Galeno (2006) reportó supervivencias al día 8 entre 80 y 85% para dietas poco biodisponibles de almidones de papa comercial y de plátano, que concuerdan con lo obtenido en este estudio para los almidones de mapuey; atribuyendo la disminución de la supervivencia en los insectos, a los altos contenidos de almidón resistente total presentes en los almidones de papa y plátano. Esta explicación también puede ser utilizada para interpretar lo encontrado en el presente trabajo. No obstante, García (2003) reportó valores de supervivencia de 97% con el

almidón de papa comercial y de 94% con el almidón de haba de burro, que no difirieron de la supervivencia registrada con la referencia. Cabe destacar que, a diferencia del presente estudio, García (2003) y Galeno (2006) midieron diariamente la ingesta de la dieta por parte de los insectos a través de un sistema de alimentación restringida y, además, corrigieron los datos de cada biomarcador por la ingesta de cada dieta. Por su parte, Martín (2010) y González-Quilen (2013) reportaron supervivencias con intervalos de 98 – 100% y 96 – 100%, respectivamente, utilizando almidones de distintos clones de banano que no fueron significativamente diferentes a las registradas con el almidón referencia.

En los almidones de mapuey, la supervivencia al día 8 no correlacionó con las variables *in vitro*, por lo que no resultó ser un biomarcador de la digestibilidad para estos almidones. Este resultado concuerda con lo señalado por Martín (2010) y González-Quilen (2013) quienes indicaron que este biomarcador no resultó ser un buen estimador de la biodisponibilidad de los almidones de banano.

No obstante, Lovera y col. (2017) reportaron en almidones de cinco raíces y tubérculos, incluido mapuey y papa, una correlación moderada de este biomarcador con el almidón resistente total ($r = -0,648$; $p < 0,05$; $n = 15$) y con el almidón disponible ($r = 0,763$; $p < 0,05$; $n = 15$). Asimismo, Sánchez (2018) encontró con almidones de papa nativa que el biomarcador supervivencia al día 8 mostró una correlación moderada y positiva con el almidón disponible ($r = 0,759$; $p < 0,05$; $n = 18$) y la velocidad inicial de hidrólisis ($r = 0,769$; $p < 0,05$; $n = 18$). En este estudio, hubo una correlación moderada y negativa ($r = -0,615$) entre la supervivencia al día 8 y el almidón resistente total, pero no fue significativa ($p = 0,08$); posiblemente por el tamaño de la muestra estudiada.

3.3 Variación de peso del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio y de mapuey

La **Figura 9** muestra la variación de peso de los insectos alimentados con los almidones de apio y de mapuey, durante los ocho días del bioensayo. La variación de peso en los individuos alimentados con las dietas de almidones de apio mostró un aumento durante los dos primeros días del bioensayo y luego se mantuvo o disminuyó ligeramente hasta el día 8 (**Figura 9A–C**). No se observaron diferencias ($p > 0,05$) entre la variación de peso al día 8 de los insectos alimentados con los almidones de apio y la referencia (**Tabla 7**). Este resultado difiere de lo reportado por Lovera (2015) quien encontró que la variación de peso al día 8 en el almidón de apio fue menor ($p < 0,05$) a la generada con la referencia (almidón de maíz). Asimismo, esta autora obtuvo una variación de peso al día 8 con almidones de maíz *waxy* y yuca similar a la obtenida con la referencia, que coincide con lo obtenido en el presente estudio para los almidones de apio de las variedades comercial, cacho de buey amarillo y quiroreño.

La variación de peso al día 8, al igual que la supervivencia al día 8, no fue un biomarcador de la digestibilidad para los almidones de apio, ya que no discriminó entre las dietas ni correlacionó con los parámetros que caracterizan la digestibilidad *in vitro*.

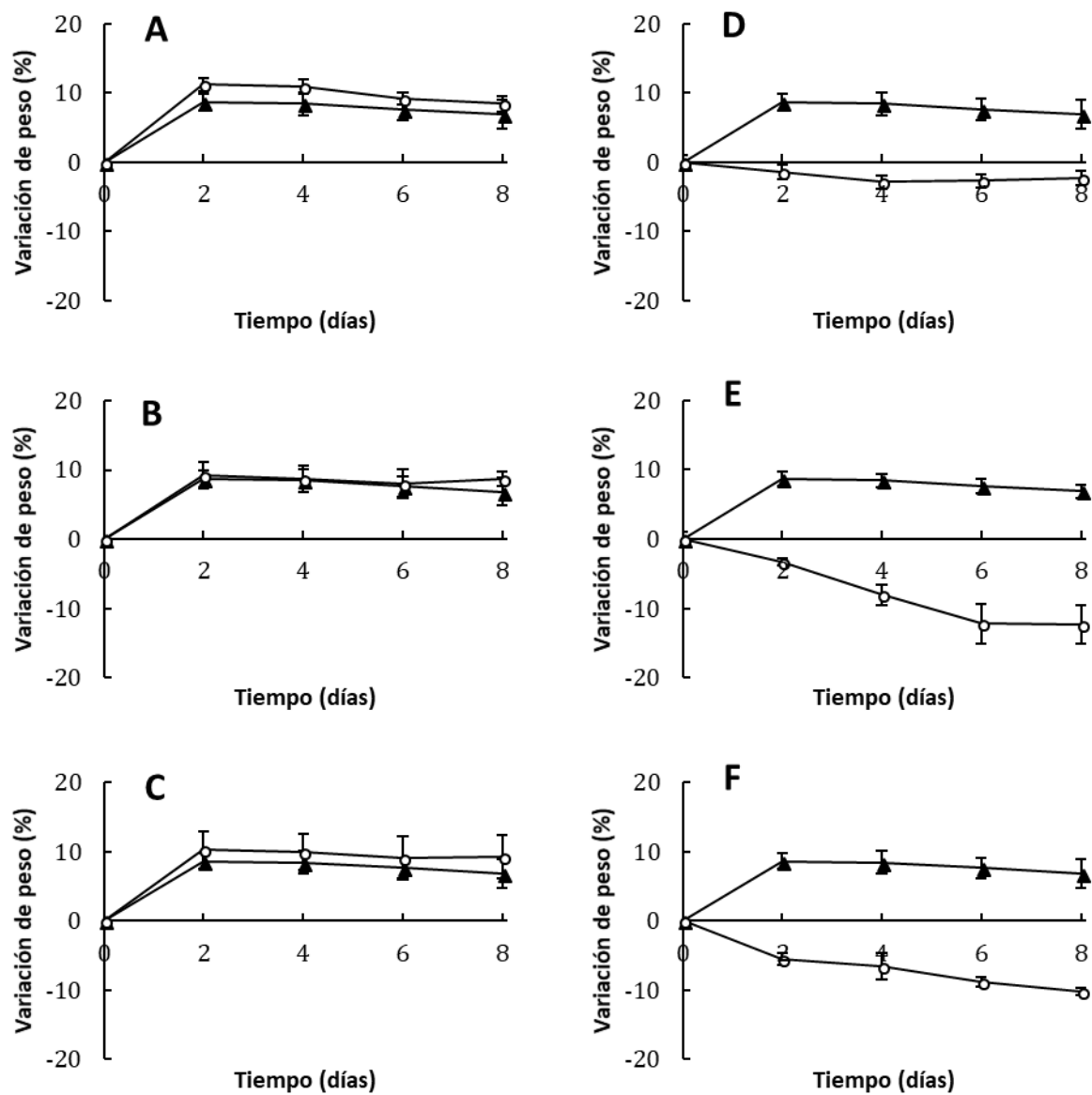


Figura 9. Variación de peso del gorgojo de arroz alimentado con almidones de apio y de mapuey

A: apio comercial, B: apio cacho de buey amarillo, C: apio quiroreño, D: mapuey blanco, E: mapuey morado liso, F: mapuey morado rugoso. Las barras indican la desviación estándar de la media (n = 3). La referencia fue el almidón de maíz, representado en cada panel por los triángulos cerrados.

Tabla 7. Peso promedio inicial, final y variación de peso de los insectos durante el bioensayo

Dieta	Peso promedio al día 0 (mg)	Peso promedio al día 8 (mg)	Variación de peso al día 8 (%)
Referencia	1,79 ± 0,04 ^a	1,91 ± 0,01 ^a	6,9 ± 2,1 ^a
Apio comercial	1,76 ± 0,03 ^a	1,91 ± 0,02 ^a	8,4 ± 1,2 ^a
Apio cacho de buey amarillo	1,75 ± 0,06 ^a	1,91 ± 0,06 ^a	8,6 ± 1,1 ^a
Apio quiroreño	1,76 ± 0,05 ^a	1,92 ± 0,04 ^a	9,2 ± 3,1 ^a
Mapuey blanco	1,77 ± 0,02 ^a	1,73 ± 0,02 ^b	-2,3 ± 0,1 ^b
Mapuey morado liso	1,76 ± 0,01 ^a	1,54 ± 0,05 ^c	-12,3 ± 2,7 ^c
Mapuey morado rugoso	1,74 ± 0,00 ^{2a}	1,56 ± 0,01 ^c	-10,2 ± 0,6 ^c

Los valores son el promedio ± desviación estándar (n = 3). Dentro de cada columna, los valores con letras iguales como superíndice no difieren significativamente ($p > 0,05$; ANOVA, prueba LSD de Fisher). La referencia fue el almidón de maíz. Para la condición de ayuno, los pesos promedio fueron 1,83 ± 0,05 mg (día 0) y 1,26 ± 0,03 mg (día 8) con una variación de peso de -31,0 ± 0,9% (n = 3). Para la condición alimentada, los pesos promedio fueron 1,80 ± 0,06 mg (día 0) y 2,00 ± 0,03 mg (día 8) con una variación de peso de 11,6 ± 2,0% (n = 3). El promedio del peso promedio al día 0 fue 1,76 ± 0,01 mg (n = 7).

Por otro lado, la dieta de almidón de mapuey blanco (**Figura 9D**), causó una disminución del peso de los insectos de forma tenue durante los primeros cuatro días, y luego se observó un bajo porcentaje de recuperación del peso hasta el día 8 del bioensayo, por su parte, el almidón de mapuey morado liso provocó una pérdida de peso importante en los insectos entre los días 2 y 6, y luego el peso se mantuvo constante hasta el día 8 (**Figura 9E**). Mientras tanto, en los gorgojos alimentados con almidón de mapuey morado rugoso ocurrió una pérdida de peso de manera gradual durante todo el bioensayo, que se hizo más notable entre los días 4 y 8 (**Figura 9F**). La variación de peso al día 8 con el almidón de mapuey blanco fue menor ($p < 0,05$) en comparación con los almidones de mapuey morado (**Tabla 7**). En los individuos mantenidos con semillas artificiales de almidones de mapuey blanco, morado liso y morado rugoso, ocurrió una disminución del peso que difirió ($p < 0,05$) de lo obtenido con la referencia.

Lovera y col. (2017) utilizando como modelo biológico el gorgojo de arroz alimentado con semillas artificiales de almidón de mapuey blanco, señalaron una variación de peso al día 8 de $-3,4\% \pm 0,9\%$, valor que fue menor ($p < 0,05$) a la de la referencia, similar a lo obtenido en el presente estudio. Por su parte, Sánchez (2018) reportó una variación de peso al día 8 que fue de $-4,2\% \pm 1,7\%$, en insectos alimentados con almidón de papa nativa de la variedad tiniruca, que fue menor al ser comparado con la referencia ($p < 0,05$). Asimismo, García (2003) reportó para los almidones poco digeribles de papa y de haba de burro, pérdidas de peso corporal al día 8 entre -5% y -10% . Los resultados obtenidos por estos autores son similares a lo obtenido para los almidones de mapuey utilizados en el presente trabajo.

La variación de peso al día 8, a diferencia de la supervivencia al día 8, presentó una correlación fuerte y negativa ($r = -0,898$; $p = 0,001$) con el almidón resistente total; lo que indica que a medida que el tenor de almidón resistente en la dieta sea mayor, el aprovechamiento por parte del gorgojo de arroz de los almidones de mapuey será menor y perderá peso. Lovera y col. (2017) encontraron con almidones de varias raíces y tubérculos, que la variación de peso al día 8 presentó una correlación fuerte con el almidón resistente ($r = -0,812$; $p < 0,05$; $n = 15$) y moderada con el almidón disponible ($r = 0,794$; $p < 0,05$; $n = 15$). Asimismo, Sánchez (2018) utilizando almidones de papa nativa reportó una correlación moderada y positiva de este biomarcador con el almidón disponible ($r = 0,708$; $p < 0,05$; $n = 18$) y la velocidad inicial de hidrólisis ($r = 0,774$; $p < 0,05$; $n = 18$), así como una correlación fuerte y negativa con el almidón resistente total ($r = -0,900$; $p < 0,05$; $n = 15$).

Lovera y col. (2017) reportaron por primera vez que el biomarcador variación de peso al día 8 es lo suficientemente sensible como para estimar la digestibilidad de dietas con *muy alto* contenido de almidón resistente, como el almidón de papa y de mapuey. Más reciente, el

mismo resultado fue reportado por Sánchez (2018) para los almidones de papa nativa. En este trabajo la variación de peso al día 8 se perfiló como un biomarcador de la digestibilidad de los almidones de mapuey. De esta manera, la digestibilidad de los almidones de mapuey fue menor a la de la referencia. Más aún, los almidones de mapuey morado liso y morado rugoso no presentaron diferencias entre sí, pero fueron menos digeribles que el almidón de mapuey blanco (**Tabla 7**). De igual forma, tanto Lovera y col. (2017) como Sánchez (2018) haciendo uso del biomarcador variación de peso al día 8 señalan que los almidones de mapuey y de papa nativa presentan una baja digestibilidad comparados con la referencia.

3.4 Actividad similar a α -amilasa del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio y de mapuey

El almidón constituye el principal nutriente en la dieta de los coleópteros (Hemlata y col., 2012), por lo cual las α -amilasas desempeñan un papel fundamental en la vida de estos insectos. *S. oryzae* tiene dos isoenzimas con actividad α -amilolítica (Baker, 1987) y es posible que ambas actividades estén implicadas en la digestión del almidón.

La **Tabla 8** muestra el efecto de las diferentes dietas de almidones de apio y de mapuey sobre la actividad similar a α -amilasa en el gorgojo de arroz. Los almidones de las tres variedades de apio tuvieron una menor actividad α -amilolítica ($p < 0,05$) que la referencia, con cocientes² entre 0,28 y 0,32. En contraste, Lovera y col. (2017) reportaron que la actividad similar a α -amilasa del almidón de apio, así como la de los almidones de taro y de yuca, no presentaron diferencias ($p > 0,05$) con respecto a la referencia; reportando cocientes más altos (0,80 – 1,03). Asimismo, Galeno (2006) obtuvo para esta misma fuente amilácea un cociente de 1,6.

² El cociente representa el valor del biomarcador correspondiente a una dieta en relación con el valor del biomarcador correspondiente a la referencia.

Las variedades apio comercial y apio cacho de buey amarillo no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre sí.

Tabla 8. Actividad similar a α -amilasa del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio y de mapuey

Dieta	Actividad similar a α-amilasa ($\mu\text{mol/s}\cdot\text{L}$)	Cociente
Referencia	343 ± 9^d	1,00
Apio comercial	110 ± 6^e	0,32
Apio cacho de buey amarillo	108 ± 5^e	0,31
Apio quiroreño	96 ± 1^f	0,28
Mapuey blanco	513 ± 2^c	1,50
Mapuey morado liso	731 ± 3^a	2,13
Mapuey morado rugoso	547 ± 12^b	1,59

La actividad similar a α -amilasa está expresada en micromoles de equivalentes de maltosa liberados por segundo en un litro del extracto acuoso del insecto. El cociente representa la actividad enzimática correspondiente a la dieta entre la actividad enzimática correspondiente a la referencia. Los valores son el promedio $\pm$ la desviación estándar ($n = 3$). Los valores con letras iguales como superíndice no difieren significativamente ($p > 0,05$; ANOVA, prueba LSD de Fisher). La referencia fue el almidón de maíz. Las actividades enzimáticas en la condición de ayuno y en la condición alimentada fueron 287 ± 16 y $1.456 \pm 79 \mu\text{mol/s}\cdot\text{L}$ ($n = 3$), respectivamente.

A diferencia de la supervivencia al día 8 y la variación de peso al día 8 para los almidones de apio, la actividad similar a α -amilasa mostró una correlación fuerte y negativa tanto con la velocidad inicial (coeficiente de Pearson: $r = -0,813$; $p = 0,008$; $n = 9$) como con la magnitud final de hidrólisis ($r = -0,811$; $p = 0,008$). En este estudio, la cinética de hidrólisis se evaluó tanto en el almidón crudo como en el gelatinizado (**Tabla 5**); sin embargo, la correlación se realizó con el almidón crudo porque fue a partir de él que se elaboraron las dietas que consumieron los insectos. Asimismo, este biomarcador mostró una correlación moderada con el tenor de almidón resistente total, pero no fue estadísticamente significativa ($r = 0,613$; $p = 0,08$) a diferencia de la reportada por García (2003), Galeno (2006) y Lovera y col. (2017).

Similar a lo obtenido en el presente estudio, Galeno (2006) reportó, realizando un análisis de correlación múltiple, un coeficiente fuerte ($-0,88$) entre la actividad similar a α -amilasa y la tasa de α -amilólisis (equivalente a la magnitud final). Sánchez (2018) encontró una correlación moderada de este biomarcador con la magnitud final de hidrólisis ($r = -0,575$; $p < 0,05$; $n = 18$).

Un mayor tenor en la magnitud final de hidrólisis implica que más fracciones del almidón estarían disponibles para el insecto, promoviendo una menor actividad similar a α -amilasa; por lo que existe una relación inversa entre la digestibilidad *in vivo* del almidón y la actividad α -amilolítica *in vitro*. Los cambios en la actividad α -amilolítica en *S. oryzae* se deben probablemente a la presencia de mecanismos de regulación transcripcional, dado que la mayor biodisponibilidad de azúcares reductores, productos de la hidrólisis del almidón, reprimiría la expresión de los genes que codifican para las α -amilasas, lo que se traduce como una menor producción de las mismas. Es posible que en *S. oryzae* esté operando un mecanismo parecido al descrito para *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae), donde una dieta rica en glucosa reduce la actividad de las α -amilasas al reprimir la transcripción de los genes codificantes de estas isoenzimas (Magoulas y col., 1993).

El biomarcador actividad similar a α -amilasa mostró que los almidones de apio fueron más digeribles que la referencia. Más aún, este biomarcador discriminó a las variedades de apio según su biodisponibilidad de la siguiente manera: el apio variedad quiroreño fue más digerible que las variedades apio cacho de buey amarillo y apio comercial; estas últimas variedades presentaron igual digestibilidad entre sí.

En las tres variedades de almidón de mapuey se observó una actividad α -amilolítica en los insectos que fue mayor ($p < 0,05$) a la obtenida en los insectos alimentados con la referencia, con cocientes entre 1,50 y 2,13 (**Tabla 8**). La mayor actividad α -amilolítica en los insectos alimentados con los almidones de mapuey y de papa (ricos en almidón resistente total), en comparación a la obtenida con el almidón referencia, ha sido reportada también por Lovera y col. (2017) quienes obtuvieron con el almidón de mapuey blanco un cociente de 3,03. Asimismo, González-Quilen (2013) y Sánchez (2018) reportaron en dietas amiláceas poco digeribles de variedades de banano y de variedades de papa nativa, cocientes entre 1,33 y 3,37 y entre 2,07 y 4,06, respectivamente.

García (2003) reportó índices³ de actividad similar a α -amilasa de 20,9 y de 21,2 para los almidones de papa comercial y de haba de burro, respectivamente. Por su parte, Galeno (2006) obtuvo un índice de actividad similar a α -amilasa de 6,2 para el almidón de plátano y de 9,2 para el almidón de papa comercial. Los valores expresados por estas autoras fueron más altos en comparación con los obtenidos con los almidones de mapuey del presente estudio, sin embargo, el resultado es el mismo: esos almidones (al igual que los de mapuey) incrementaron la actividad similar a α -amilasa en el gorgojo de arroz.

Este biomarcador para los almidones de mapuey, presentó una correlación fuerte y negativa con la magnitud final de hidrólisis ($r = -0,850$; $p = 0,004$) y una correlación fuerte y positiva con el almidón resistente total ($r = 0,891$; $p = 0,001$). Esto indica que cuando el insecto consume un almidón con alto contenido de almidón resistente total y de baja magnitud final de hidrólisis, la actividad similar a α -amilasa se incrementa. Efectivamente, Laurentin y col. (2014) señalan que cuando el gorgojo de arroz consume una dieta de baja digestibilidad, se

³ El índice utilizado por García (2003) y Galeno (2006) es equivalente al cociente calculado en este trabajo.

produce una respuesta adaptativa que genera un aumento en la concentración de las isoenzimas presentes en el insecto; incrementando de esta manera la actividad α -amilolítica. Resultados similares han sido reportados por Martín (2010) y González-Quilen (2013) quienes obtuvieron correlaciones débiles y positivas entre el almidón resistente total y este biomarcador, mientras que García (2003), Galeno (2006) y Lovera y col. (2017) obtuvieron una correlación fuerte y positiva entre el almidón resistente total y la actividad similar a α -amilasa. Adicionalmente, Sánchez (2018) obtuvo una correlación moderada y negativa ($r = -0,575$; $p < 0,05$; $n = 18$) entre la magnitud final de hidrólisis y este biomarcador.

El biomarcador actividad similar a α -amilasa determinó que los almidones de mapuey fueron menos digeribles que la referencia. Más aún, este biomarcador discriminó a las variedades de mapuey según su biodisponibilidad de la siguiente manera: el mapuey morado liso fue menos digerible que el mapuey morado rugoso y este a su vez menos digerible que el mapuey blanco.

Al comparar este biomarcador con los otros biomarcadores evaluados, se observó que en los almidones de mapuey el biomarcador actividad similar a α -amilasa mostró una correlación moderada y negativa con el biomarcador variación de peso al día 8 ($r = -0,729$; $p = 0,026$). Esto significa que el bajo aprovechamiento de los almidones de mapuey por parte del insecto, favorece una disminución de peso y una mayor actividad similar a α -amilasa. Con base a este resultado se puede decir que ambos biomarcadores (variación de peso al día 8 y actividad similar a α -amilasa) proporcionan esencialmente la misma información acerca de la digestibilidad de los almidones de mapuey.

Recientemente, Lovera y col. (2017) encontraron una correlación fuerte y negativa del biomarcador actividad similar a α -amilasa con la variación de peso ($r = -0,979$; $p < 0,05$; $n = 18$) y con la supervivencia al día 8 ($r = -0,915$; $p < 0,05$; $n = 18$). Sin embargo, a pesar de

que la variación de peso al día 8 proporcionó información acerca de la digestibilidad de los almidones de mapuey en el presente estudio, no fue así con la supervivencia al día 8.

3.5 Excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio y de mapuey

En la mayoría de los insectos, incluyendo el gorgojo de arroz, el ácido úrico es el principal producto resultante de la excreción del nitrógeno (Baker, 1976); su excreción está estrechamente relacionada con el catabolismo de las proteínas. Se ha evaluado su desempeño como biomarcador de la digestibilidad de almidones nativos y modificados mostrando correlacionarse con los parámetros de la digestibilidad *in vitro*. En el gorgojo de arroz, la excreción de ácido úrico ha evidenciado relacionarse inversamente con la biodisponibilidad de los almidones (García, 2003; Galeno, 2006; Martín, 2010).

En la **Tabla 9** se muestra el efecto de las dietas de almidones de apio sobre la excreción de ácido úrico en el gorgojo de arroz. Las variedades cacho de buey amarillo y quiroreño promovieron una excreción de ácido úrico igual que la promovida por la referencia ($p > 0,05$); mientras que, la dieta de almidón de apio comercial causó la menor excreción de este metabolito ($p < 0,05$). En los almidones de apio se obtuvieron cocientes de excreción de ácido úrico entre 0,78 y 0,93. En contraste, Lovera y col. (2017) reportaron con el almidón de apio un cociente de 2,4. No obstante, estos autores obtuvieron un cociente de 0,73 para el almidón de yuca y 0,81 para el almidón de taro, similar a lo obtenido con los almidones de apio en el presente trabajo. Galeno (2006) reportó un índice de excreción de ácido úrico de 1,2 para el almidón de apio criollo.

Tabla 9. Excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de apio

Dieta	Excreción de ácido úrico* (mg/kg)	Cociente
Referencia	991 ± 122 ^a	1,00
Apio comercial	772 ± 69 ^b	0,78
Apio cacho de buey amarillo	865 ± 60 ^{a,b}	0,87
Apio quiroreño	920 ± 86 ^{a,b}	0,93

La excreción de ácido úrico está expresada en miligramos de ácido úrico excretado durante los ocho días del bioensayo, por el peso en kilogramos de los insectos sobrevivientes al día 8. El cociente representa el ácido úrico excretado correspondiente a la dieta entre la excreción correspondiente al almidón de referencia. Los valores son el promedio ± la desviación estándar (n = 3). Los valores con letras iguales como superíndice no difieren significativamente (p > 0,05; ANOVA, prueba LSD de Fisher). La referencia fue el almidón de maíz. Los niveles de excreción de ácido úrico en la condición de ayuno y en la condición alimentada fueron 116.172 ± 25.019 y 11.113 ± 1.146 mg/kg (n = 3), respectivamente.

*No fue posible extraer el ácido úrico a partir de los almidones de apio según González-Quilen y Laurentin (2012) y Lovera y col. (2017) por lo que la extracción fue realizada utilizando como solvente una solución acuosa de carbonato de litio (5 g/L) a temperatura ambiente, en lugar de agua en ebullición. Para más detalles ver la sección 4.8.

La excreción de ácido úrico para los almidones de apio, correlacionó con una sola variable *in vitro*: el almidón disponible; mostrando una correlación moderada y negativa ($r = -0,686$; $p = 0,041$). De igual forma, Lovera y col. (2017) observaron una correlación fuerte y negativa ($r = -0,822$; $p < 0,05$; $n = 15$) de este biomarcador con el almidón disponible. No obstante, estos autores no obtuvieron un resultado claro al evaluar la biodisponibilidad del almidón de apio; ya que, la excreción de ácido úrico fue mayor a la de la referencia, pero la actividad α -amilolítica fue igual a la de la referencia. Con esos resultados ambos biomarcadores clasificaron al almidón de apio en categorías diferentes según su biodisponibilidad.

El biomarcador excreción de ácido úrico mostró que todos los almidones de apio fueron igual de digeribles que la referencia; con la excepción del apio comercial, cuya digestibilidad fue mayor que la de la referencia. Utilizando los biomarcadores actividad similar a α -amilasa y excreción de ácido úrico, Lovera y col. (2017) señalaron que los almidones de yuca y taro presentan una alta biodisponibilidad, similar a lo obtenido para los almidones de apio en este estudio. Asimismo, Galeno (2006) reportó que el almidón de apio posee alta biodisponibilidad de acuerdo a lo obtenido con los biomarcadores actividad similar a α -amilasa y excreción de ácido úrico.

La ingesta de una dieta amilácea altamente digerible y por ende de alta disponibilidad de carbono y energía previene la degradación de la proteína corporal y propicia una baja excreción de ácido úrico (Laurentin y col., 2014). La acreción de nitrógeno y preservación de la proteína corporal como consecuencia de una ingesta adecuada de carbohidratos, es un hecho ampliamente conocido y estudiado en animales superiores (Munro, 1951).

La variedad comercial resultó ser la más digerible de los almidones de apio, según la excreción de ácido úrico; sin embargo, la actividad similar a α -amilasa indicó que esa variedad fue la menos digerible de todas. Esto posiblemente ocurrió por el mayor contenido de proteína cruda (0,32%) observado en el almidón de apio comercial en comparación con las otras variedades de apio (**Tabla 3**). El contenido de proteína cruda en los almidones de apio (0,20 – 0,32%) estuvo por debajo del requerimiento proteico del gorgojo de arroz (0,5 – 0,7%) sugerido por López (1999), por lo que a medida que la proteína cruda es mayor en la dieta la excreción de ácido úrico será menor. De hecho el biomarcador ácido úrico mostró una correlación moderada y negativa con la proteína cruda ($r = -0,671$; $p = 0,048$).

En la **Tabla 10** se muestra el efecto de las tres dietas de almidones de mapuey sobre la excreción de ácido úrico en el gorgojo de arroz. No se observaron diferencias ($p > 0,05$) entre los almidones de mapuey morado liso y mapuey morado rugoso. En los almidones de todas las variedades de mapuey estudiadas, la excreción de ácido úrico fue mayor a la obtenida con la referencia ($p < 0,05$). No obstante, los insectos alimentados con almidón de mapuey blanco exhibieron una excreción de ácido úrico más baja ($p < 0,05$) que los alimentados con almidones de mapuey morado.

Tabla 10. Excreción de ácido úrico del gorgojo de arroz alimentado con los almidones de mapuey

Dieta	Excreción de ácido úrico (mg/kg)	Cociente
Referencia	563 ± 72^c	1,00
Mapuey blanco	1.843 ± 120^b	3,27
Mapuey morado liso	3.032 ± 412^a	5,39
Mapuey morado rugoso	2.514 ± 384^a	4,47

La excreción de ácido úrico está expresada en miligramos de ácido úrico excretado durante los ocho días del bioensayo, por el peso en kilogramos de los insectos sobrevivientes al día 8. El cociente representa el ácido úrico excretado correspondiente a la dieta entre la excreción correspondiente al almidón de referencia. Los valores son el promedio $\pm$ la desviación estándar ($n = 3$). Los valores con letras iguales como superíndice no difieren significativamente ($p > 0,05$; ANOVA, prueba LSD de Fisher). La referencia fue el almidón de maíz. Los niveles de excreción de ácido úrico en la condición de ayuno y en la condición alimentada fueron 47.181 ± 2.549 y 9.267 ± 240 mg/kg ($n = 3$), respectivamente.

Con los almidones de mapuey se obtuvieron cocientes de excreción de ácido úrico entre 3,27 y 5,39. Un resultado similar fue reportado por Lovera y col. (2017) quienes encontraron en insectos alimentados con almidón de mapuey un cociente de 4,18. Por otro lado, González-Quilen (2013) reportó cocientes entre 0,76 y 2,13 para almidones de banano. No obstante, García (2003), Galeno (2006) y Sánchez (2018) reportaron que el almidón de papa

presentó cocientes entre 7 y 11. Una dieta amilácea poco biodisponible, estimula en el insecto la degradación de las proteínas corporales para suplir ese déficit energético (Munro, 1951); aumentando así la excreción de ácido úrico. De tal forma, las dietas de mapuey promovieron una alta excreción de ácido úrico en los insectos, a causa de la utilización de las proteínas corporales como fuente energética.

Este biomarcador para los almidones de mapuey exhibió una correlación fuerte y positiva con el almidón resistente total ($r = 0,848$; $p = 0,004$). De igual forma, García (2003), González-Quilen (2013), Lovera y col. (2017) y Sánchez (2018) han reportado correlaciones moderadas o fuertes entre el almidón resistente total y la excreción de ácido úrico. En este estudio, el biomarcador excreción de ácido úrico mostró sensibilidad para discriminar la digestibilidad de los almidones de mapuey. De acuerdo a este biomarcador los almidones de mapuey presentaron menor digestibilidad que la referencia. Además, el mapuey morado liso presentó la misma digestibilidad que el mapuey morado rugoso y estos, a su vez, fueron menos digeribles que el mapuey blanco.

Es importante hacer notar que la excreción de ácido úrico de la referencia estimada con la solución de carbonato de litio a temperatura ambiente (**Tabla 9**) fue 1,8 veces mayor que la estimada empleando agua en ebullición (**Tabla 10**). Una solución acuosa de carbonato de litio favorece la formación de urato de litio, sal que es más soluble en agua a temperatura ambiente que los uratos de sodio o de potasio (Woodman, 1924). Como consecuencia, los valores de la excreción de ácido úrico de los insectos alimentados con los almidones de apio no son comparables con los reportados para los almidones de mapuey. La comparación debe hacerse utilizando los cocientes.

El biomarcador excreción de ácido úrico mostró una correlación fuerte y negativa con la variación de peso ($r = -0,801$; $p = 0,009$) y una correlación fuerte y positiva ($r = 0,805$; $p = 0,009$) con la actividad similar a α -amilasa. Esto indica que el bajo aprovechamiento de los almidones de mapuey por parte del gorgojo de arroz, favorece la disminución de peso, la actividad α -amilolítica y la excreción de ácido úrico. Estos resultados sugieren que los biomarcadores variación de peso al día 8, actividad similar a α -amilasa y la excreción de ácido úrico, proporcionan esencialmente la misma información y pueden ser utilizados como indicadores de la biodisponibilidad de las dietas amiláceas cuando se evalúan almidones poco biodisponibles como los presentes en el mapuey.

Asimismo, Lovera y col. (2017) estudiando el almidón de mapuey reportaron que el biomarcador ácido úrico exhibió una fuerte y negativa correlación con la variación de peso al día 8 ($r = -0,944$; $p < 0,05$; $n = 18$) y con la actividad similar a α -amilasa mostró una correlación fuerte y positiva ($r = 0,928$; $p < 0,05$; $n = 18$). Por otro lado, Sánchez (2018) con almidones de papa nativa observó que el biomarcador ácido úrico mostró una correlación fuerte y negativa con la variación de peso al día 8 ($r = -0,900$; $p < 0,05$; $n = 18$). Adicionalmente, Lovera (2008) señala una alta excreción de ácido úrico en el almidón de mapuey, que concuerda con la alta actividad α -amilolítica encontrada, lo que reafirma su baja biodisponibilidad y su menor calidad nutricional.

4. Consideraciones finales

En este trabajo se evaluaron variedades de almidones con digestibilidades opuestas (Lovera y col., 2017). Por un lado, el almidón de mapuey, cultivo ancestral del Amazonas venezolano, de baja digestibilidad y, por otra parte, el almidón de apio, un almidón reconocido por su alta digestibilidad, cultivado en los Pueblos del Sur, del estado Mérida. Para ello, se utilizó el bioensayo del gorgojo de arroz para estimar marcadores de la biodisponibilidad y variables que estiman la digestibilidad *in vitro* de los almidones.

Interesantemente, el tenor de almidón resistente total fue la variable *in vitro* que correlacionó con los biomarcadores que dieron información acerca del aprovechamiento de los almidones de mapuey por parte del gorgojo de arroz: variación de peso al día 8, actividad similar a α -amilasa y excreción de ácido úrico. Resultados similares han sido reportados por García (2003), Martín (2010), González-Quilen (2013), Lovera y col. (2017) y Sánchez (2018) para otros almidones poco biodisponibles.

Por otro lado, tanto la velocidad inicial como la magnitud final de hidrólisis (variables obtenidas de los estudios de la cinética de hidrólisis del almidón) fueron las dos variables *in vitro* que correlacionaron con la actividad similar a α -amilasa, biomarcador que dio información acerca del aprovechamiento de los almidones de apio por parte del insecto. Un resultado similar fue reportado por Galeno (2006) para almidones de apio.

Tomado en conjunto, pareciera que la biodisponibilidad de los almidones está determinada en gran medida por el alto contenido de almidón resistente total, pero cuando este tenor es bajo, la cinética de α -amilólisis pasa a ser el determinante de la biodisponibilidad de los almidones.

Teniendo en cuenta la baja digestibilidad encontrada en los almidones de mapuey, los mismos podrían ser usados como ingredientes para la elaboración de productos destinados al consumo

de personas con problemas de diabetes u obesidad. Esto es debido a que presentan una baja hidrólisis del almidón a los 60 minutos del ensayo, lo cual pudiera estar asociado a un bajo índice glucémico (Holm y col., 1985; Björck y col., 1994).

En contraste, los almidones de apio, que son de alta digestibilidad, pudieran ser utilizados en la formulación de alimentos tipo barra energética, para algunos atletas de alto rendimiento que requieran un aporte de energía rápida.

VI.CONCLUSIONES

1. Los almidones de apio y los almidones de mapuey de las variedades estudiadas mostraron contenidos de almidón disponible por encima del 90% (en base seca).
2. Las tasas de α -amilólisis *in vitro* de los almidones crudos de apio fueron relativamente altas con valores ubicados entre 6 – 12%. Mientras que, las tasas de α -amilólisis *in vitro* de los almidones crudos de mapuey fueron muy bajas; encontrándose magnitudes finales de hidrólisis por debajo de 3% en todas las variedades estudiadas.
3. Los almidones de apio de las variedades cacho de buey amarillo y quiroreño presentaron contenidos de almidón resistente *alto* de 13 a 14%, mientras que la variedad comercial mostró un porcentaje de almidón resistente *muy alto* de 17,5%. Entre tanto, los almidones de mapuey de las variedades blanco, morado liso y morado rugoso exhibieron contenidos de almidón resistente *muy altos*, entre el 40% y 45%.
4. La actividad similar a α -amilasa y la excreción de ácido úrico fueron biomarcadores de la digestibilidad en los almidones de apio; clasificándolos como almidones de alta digestibilidad. Se observó correlación con los parámetros *in vitro* velocidad inicial y magnitud final de hidrólisis del almidón en el primer biomarcador y con el almidón disponible en el segundo biomarcador.
5. La variación de peso, la actividad similar a α -amilasa y la excreción de ácido úrico fueron biomarcadores de la digestibilidad de los almidones de mapuey; clasificándolos como almidones de baja digestibilidad. Se observaron respuestas biológicas correlacionadas de forma significativa con los parámetros *in vitro*, específicamente con el almidón resistente en los tres casos y, adicionalmente, con la magnitud final de hidrólisis del almidón en el caso de la actividad similar a α -amilasa.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adarve, M., Mejía, L. 2012. Obtención y caracterización físico-química de almidón fermentado de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*). *Vitae*. **19**(1): 255-257.
- Alarcón, F., Dufouor, D. 1998. Almidón agrio de yuca en Colombia. Capítulo 26, página 502 en: La yuca en el tercer milenio. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.
- Alayo, B.P. 2015. Caracterización fisicoquímica y reológica del almidón de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) variedad amarilla procedente de la Provincia San Ignacio-Departamento de Cajamarca. Tesis de Licenciatura. Universidad Cesar Vallejo, Trujillo, Perú.
- Baker, J.E. 1976. Nitrogenous excretory products of adults of *Sitophilus oryzae* and *Sitophilus granarius*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. **53B**: 107-109.
- Baker, J. E., & Woo, S. M. 1985. Purification, partial characterization, and postembryonic levels of amylases from *Sitophilus oryzae* and *Sitophilus granarius*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. **2**: 415-428.
- Baker, J.E. 1987. Purification of isoamylases from the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae), by high-performance liquid chromatography and their interaction with partially-purified amylase inhibitors from wheat. *Insect Biochemistry*. **17**(1): 37-44.
- Baltazar, R. 2017. Efecto del tiempo de acetilación sobre el grado de sustitución, viscosidad aparente, absorción de agua, y solubilidad e hinchamiento en agua del almidón de Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) variedad morada. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Trujillo, Huamachuco, Perú.
- Bhattacharya, A.K., Waldbauer, G.P. 1969. Quantitative determination of uric acid in insect faces by lithium carbonate extraction and the enzymatic-spectrophotometric method. *Annals of the Entomological Society of America*. **62**(4): 925-927.
- Bello, L. 2010. Extracción, purificación y caracterización del almidón de 21 clones del banco de germoplasma de musáceas del INIA. Elaboración de un producto tipo pudin. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

- Bender, A.E., 1989. Nutritional significance of bioavailability. Páginas 3-9 en: Southgate D., Johnson I., y Fenwick G. (eds.), **Nutrient Availability: Chemical and Biological Aspects**. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, Reino Unido.
- Björck; I., Granfeldt, Y., Liljeberg, H., Tovar, J., Asp, N.G. 1994. Food properties affecting the digestion and absorption of carbohydrates. *The American Journal Clinical Nutrition*. **59**: 699-705.
- Bou, L., Vizcarrondo, C., Rincón, A., Padilla, F. 2006. Evaluación de harinas y almidones de mapuey (*Dioscorea trifida*), variedades blanco y morado. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. **56**(4): 375-383.
- Bou, L., Padilla, F., Rincón, A.M. 2013. Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales de almidones de mapuey blanco y morado (*Dioscorea trifida* L.) modificados por acetilación y oxidación. *Revista Facultad de Farmacia*. **76**(1): 84-95.
- Bousalem, M., Arnau, G., Hochu, I., Arnolin, R., Viader, V., Santoni, S., David, J. 2006. Microsatellite segregation analysis and cytogenetic evidence for tetrasomic inheritance in the American yam *Dioscorea trifida* and a new basic chromosome number in the *Dioscoreae*. *Theoretical and Applied Genetics*. **113**: 439–451.
- Cai, L., Shi, Y.C. 2014. Preparation, structure, and digestibility of crystalline A- and B-type aggregates from debranched waxy starches. *Carbohydrate Polymers*. **105**: 341-350.
- Carmona A., Gómez-Sotillo, A., Seidl, D.S. 1993. Uso de pruebas bioquímicas para el estudio de problemas nutricionales en *Canavalia ensiformis*. Páginas 141-152 en: Vargas, R., León, A., Escobar, A. (eds.), ***Canavalia ensiformis* (L) (DC): Producción, procesamiento y utilización en alimentación animal**. Futuro, San Cristóbal, Venezuela.
- Carmona A., Gómez-Sotillo, A. 1997. Uso de insectos en estudios nutricionales – Cambios en la composición corporal inducidos por la dieta. *Anales Venezolanos de Nutrición*. **10**: 20-26.
- Carmona A., López, Y., Gómez-Sotillo, A., Casotto, M. 1998. Toxicología nutricional: un enfoque “artropocéntrico”. *Memorias del Instituto de Biología Experimental*. **1**: 37-40.
- Carmona, A., Casotto, M. 2001. Índice de eficiencia alimentaria (FER) en gorgojos de arroz (*Sitophilus oryzae*): Herramienta para evaluar la utilización metabólica del alimento. *Memorias del Instituto de Biología Experimental*. **3**: 49–52.
- Carreño-Díaz, R., Grau, N. 1977. Anthocyanin pigments in *Dioscorea trifida* (L.). *Food Science*. **42**(3): 615-617.

- Carvalho, J.P. 1996. **Introdução à entomologia agrícola**. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, Portugal.
- Cheng, H.H., Lai, M.H. 2000. Fermentation of resistant rice starch produces propionate reducing serum and hepatic cholesterol in rats. *The Journal of Nutrition*. **130**(8): 1991-1995.
- Chung, H.J., Liu, Q., Hoover, R. 2009. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers*. **75**: 436-447
- Colonna, P., Leloup, V., Buléon, A. 1992. Limiting factors of starch hydrolysis. *European Journal of Clinical Nutrition*. **46**(2): 17-32.
- Dadd, R.H. 1985. Nutrition: organisms, Páginas 338-341 en: Kerkut G.A., Gilbert, L.I (Eds.), **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. Nueva York: Pergamon Press.
- De Melo, 2006. **Mesa redonda sobre complementariedad de la producción sostenible frutihortícola Amazónica con el desarrollo de microempresas agroindustriales en los países del tratado de cooperación amazónica**. FAO para América Latina y el Caribe Amazónica. Lima, Perú.
- Englyst, H.N., Cummings, J.H. 1985. Digestion of the polysaccharides of some cereal in the human small intestine. *The American Society for Clinical Nutrition*. **42**(5): 778-787.
- Englyst, H.N., Cummings, J.H. 1986. Digestion of the carbohydrates of banana (*Musa paradisiaca sapientum*) in the human small intestine. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **44**: 42-50.
- Englyst, H.N., Kingman, S.M. y Cummings, J.H. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*. **46**: S3-S50.
- Espín, S., Villacrés, E., Brito, B. 2004. Caracterización físico-química, nutricional y funcional de raíces y tubérculos Andinos. Página 101 en: Proyecto CP BID 01/ Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Quito, Ecuador.
- Espitia, J., Salcedo, J.G., García, C.A. 2016. Funtional properties of starch yam (*Dioscorea bulbifera*, *Dioscorea trifida* y *Dioscorea esculenta*). *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*. **39**(1): 31-36.

- FEDEAGRO. 2015. (Confederación de Asociaciones de Productores Agropecuarios).2014. Indicadores de la producción por grupo de cultivo. Raíces y tubérculos. Caracas, Venezuela.
- Franco, C.M., Ciacco, C.F. 1992. Factors that affect the enzymatic degradation of natural starch granules: effect of size of the granules. *Starch/Stärke*. **44**(11): 422-426.
- French, D. 1973. Chemical and physical properties of starch. *Journal of Animal Science*. **37**: 1048-1061.
- Fuentes-Zaragoza, E., Sánchez-Zapata, E., Sendra, E., Sayas, E., Navarro, C., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. 2011. Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch/Stärke*. **63**: 406–415.
- Gallant, D.J., Bouchet, B., Baldwin, P.M. 1997. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. *Carbohydrate Polymers*. **32**: 177–191.
- Galeno, F. 2006. Digestibilidad *in vitro* y aprovechamiento por el gorgojo de arroz de almidones nativos y modificados de apio y plátano. Tesis de Licenciatura, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Gamero, M., Laurentín, A., Bernal, C., Galindo, I., Diez, N. 2010. Toxicidad *in vivo* y proteómica comparativa para el estudio de la expresión de proteínas con actividad insecticida presentes en semillas de *Phaseolus vulgaris* L. *Revista de Estudios Transdisciplinarios*. **2**(1): 101–109.
- Gao, H., Cai, J., Han, W., Huai, H., Chen, Y., y Wei, C. 2014. Comparison of starches isolated from three different *Trapa* species. *Food Hydrocolloids*, **37**: 174–181.
- García, O. 2003. Estudio comparativo de la digestibilidad *in vitro* y la biodisponibilidad de almidones nativos y modificados, utilizando el bioensayo con el gorgojo del arroz *Sitophilus oryzae*. Tesis de Licenciatura, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- García, A., Pacheco-Delahaye, E., Tovar, J., Perez, E. 2007. Caracterización fisicoquímica y funcional de las harinas de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) para sopas instantáneas. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. **5**(5): 384-393.
- García, A., Pacheco-Delahaye, E. 2008. Caracterización postcosecha del apio criollo cultivado en el municipio Tovar, estado Mérida – Venezuela. *Agronomía Tropical*. **58**(4): 409-416.

- García-Alonso, A., Jiménez-Escrig, A., Martín-Carrón, N., Bravo, N., Saura-Calixto, F. 1999. Assessment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch. *Food chemistry*. **66**: 181–187.
- García, A., Pérez, E., Dávila, R. 2012. Características físicas, químicas y funcionales de las harinas obtenidas por secado del ñame, ocumo y mapuey. *Agronomía Tropical*. **62**(1–4): 51–67.
- Gómez-Sotillo, A. 1997. Uso potencial del insecto *Sitophilus oryzae* L. en la evaluación del valor biológico de semillas de leguminosas. Un método rápido y económico. Trabajo de ascenso para optar a la categoría de Profesor Titular. Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- González-Quilen, C., Laurentin, A. 2012. Método de extracción del ácido úrico excretado por el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.) alimentado con diferentes dietas. *Acta Científica Venezolana*. **63**(1): 192.
- González-Quilen, C. 2013. Digestibilidad *in vitro* y aprovechamiento por el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.) de almidones de banano. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Goñi, I., García-Díaz, L., Mañas, E., Saura-Calixto, F. 1996. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food Chemistry*. **56**: 445–449.
- Granito, M., Pérez, S., Valero, Y., Colina, J. 2013. Valores de referencia de carbohidratos para la población venezolana. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. **63**(4): 301–314.
- Gutiérrez, T.J., Pérez, E., Guzmán, R., Tapia, M.S., Famá, L. 2014. Physicochemical and functional properties of native and modified by crosslinking, dark-cush-cush yam (*Dioscorea trifida*) and cassava (*Manihot esculenta*) starch. *Journal of Polymer and Biopolymer Physics Chemistry*. **2**(1): 1-5.
- Hasjim, J; Ai, Y; Jane, J. 2013. Novel applications of amylose-lipid complex as resistant starch type 5. Páginas 79-94 en: Shi, Y; Manigant, C. (eds.), **Resistant starch: applications and health benefits**. Wiley-Blackwell. Chichester (West Sussex), Reino Unido.
- Hemlata, M.K., Bhide, A.J., Gupta, V.S., Giri, A.P. 2012. Amylase gene expression patterns in *Helicoverpa armigera* upon feeding on a range of host plants. *Gene*. **501**: 1–7.

- Hermann, M., 1997. Apio (*Arracacia xanthorrhiza* B.). Páginas 75-172 en: Hermann, M., Heller, J. (eds), **Andean root and tubers: Ahipa, Apio, Maca y Yacon**. IPGRI, Roma, Italia.
- Hernández Y, Trujillo GE. 1993. Bacteriosis en mapuey (*Dioscorea trifida* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía (UCV)*. **19**: 87-98.
- Holm, J., Björck, I., Ostrowska, S., Eliasson, A.C., Asp, N.G., Larsson, K., Lundquist, I. 1983. Digestibility of amylose-lipid complexes *in vitro* and *in vivo*. *Starch/Stärke*. **35**(9): 294-297.
- Holm, J., Björck, I., Asp, N.G., Sjöberg, L.B., Lundquist, I. 1985. Starch availability *in vitro* and *in vivo* after flaking, steam-cooking and popping of wheat. *Journal of Cereal Science*. **3**: 193-206.
- Holm, J., Björck, I., Drews, A., Asp, N.G. 1986. A rapid method for the analysis of starch. *Starch/Stärke*. **38**: 224-226.
- Hostettler, F., Borel, E., Deuel, H. 1951. Über die reduktion der 3,5 dinitrosalicylsäure durch Zucker. *Helvetica Chimica Acta*. **34**: 2132-2139.
- Hung, P., Morita, N. 2005. Physicochemical properties and enzymatic digestibility of starch from edible canna (*Canna edulis*) grown in Vietnam. *Carbohydrate Polymers*. **61**(3): 314-321.
- Imberty, A., Buléon, A., Tran, V., Pérez, S. 1991. Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch*. **43**: 375-384.
- Instituto Nacional de Nutrición. Hojas de Balance de Alimentos. [En línea] 2014. [Consulta: 13 de abril de 2018]. Disponible en: https://www.inn.gob.ve/descargas/otros/HBA_2014ultima_version.pdf.
- Jayakody, L., Hoover, R., Liu, Q., Weber, E. 2005. Studies on tuber and root starches. Structure and physicochemical properties of innala (*Solenostemon rotundifolius*) starches grown in Sri Lanka. *Food Research International*. **38**(6): 615-629.
- Jiang, H., Jane, J. 2013. Type 2 resistant starch in high-amylose maize starch and its development. Páginas 23-42 en: Shi, Y., Manigant, C. (eds.), **Resistant starch: applications and health benefits**. Wiley-Blackwell. Chichester (West Sussex), Reino Unido.

- Jiménez, Y., Pérez, E. 2009. Caracterización morfométrica del almidón nativo de algunas raíces y tubérculos del estado Amazonas, Venezuela, variedades de *Dioscorea alata*, *Dioscorea trifida* y *Calathea allouia*. V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica. México, D.F.
- Kaur, R., Kaur, N., Gupta, A.K. 2014. Structural features, substrate specificity, kinetic properties of insect α -amylase and specificity of plant α -amylase inhibitors. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **116**: 83-93.
- Kawai, K., Kawai, H., Tomoda, Y., Matsusaki, K., Hagura, Y. 2012. Effect of pre-dehydration treatment on the *in vitro* digestibility of starch in cookie. *Food Chemistry*. **135**: 1527-1532.
- Kleiber, M. 1975. Metabolic turnover rate: a physiological meaning of the metabolic rate per unit body weight. *Journal of Theoretical Biology*. **53**: 199–204.
- Klowden, M.J. 2007. Physiological systems in insects. 2da edición. San Diego, Academic Press.
- Klowden, M.J. 2013. Physiological systems in insects. 3ra edición. San Diego, Academic Press, Capítulo 6.
- Kotkar, H.M., Bhide, A.J., Gupta, V.S., Giri, A.P. 2012. Amylase gene expression patterns in *Helicoverpa armigera* upon feeding on a range of host plants. *Gene*. **501**(1): 1-7.
- Landon, S., Colyer, C., Salman, H. The resistant starch report. An Australian update on health benefits, measurement and dietary intakes. [En línea] 2012. [Consulta: 14 de abril de 2018]. Disponible en: http://foodaust.com.au/wp-content/uploads/2018/04/Hi_maize-supplement_web.pdf.
- Laurentin, A., Lovera, M., Rojas, C., Gamero, M., Edwards, C.A., Tapia, M.S., Diez, N., Bernal, C., Carmona, A. 2008. Estudios nutricionales con el bioensayo del gorgojo de arroz, *Sitophilus oryzae*. *Memorias del Instituto de Biología Experimental*. **5**: 57-60.
- Laurentin, A., Edwards C.A. 2009. Resistant starch and oligosaccharides. Págs. 84–91 en: Caballero, B (ed.), **Guide to nutritional supplements**. Academic Press. Waltham, MA. EE. UU.
- Laurentin, A., Edwards, C.A. 2013. Fiber: resistant starch and oligosaccharides. Págs. 246–253 en: Caballero, B., Allen, L., Prentice, A (eds.), **Encyclopedia of Human Nutrition**. Tercera edición. Academic Press. Waltham, MA. EE. UU.

- Laurentin, A., González-Quilen, C., Martín V., Marín, J.G., Guzmán, R., Pérez, E., Edwards, C.A. 2014. ¿Qué puede decirnos el gorgojo de arroz sobre la digestibilidad de los alimentos farináceos? *Memorias del Instituto de Biología Experimental*. **7**: 93–96.
- León, J. 2000. **Botánica de los cultivos tropicales**. Tercera edición. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. San José, Costa Rica.
- León, I. 2015. Digestibilidad *in vitro* y aprovechamiento por el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.) de harinas de banano. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Leszczyński, W. 2004. Resistant starch – Classification, structure, production. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. **13**: 37-50.
- Liendo, J., Perdomo, B., Techeira, N. 2011. Uso de almidón de apio (*Arracacha xanthorrhiza* B.) en colados de durazno (*Prunus persica* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía (UCV)*. **37**(3): 93-104.
- Lindeboom, N., Chang, P.R., Tyler, R.T. 2004. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. *Starch*. **56**(3): 89-99.
- Liu, J., Wang, B., Lin, L., Zhang, J., Li, W., Xie, J. 2014. Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch. *Food Hydrocolloid*. **36**: 45-52.
- López Y. 1999. Efecto de la concentración y calidad de la proteína dietaria sobre la composición corporal, la actividad de enzimas digestivas y el potencial reproductivo de gorgojos de arroz, *Sitophilus oryzae*. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Lovera, M. 2008. Efecto del etanol y de la dieta sobre la composición corporal del gorgojo de arroz, *Sitophilus oryzae* (L.). Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Lovera, M. 2015. Evaluación fisicoquímica y nutricional de almidones y películas comestibles a base de almidón. Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Lovera, M., Pérez, E., Laurentin, A. 2017. Digestibility of starches isolated from stem and root tubers of arracacha, cassava, cush-cush yam, potato and taro. *Carbohydrate Polymers*. **176**: 50-57.

- Magoulas, C., Bally-Cuif, L., Loverre-Chyurlia, A., Benkel, B., Hickey, D.A. 1993. A short 5'-flanking region mediates glucose repression of amylase gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. **134**: 507-515.
- Mahan, L.K., Escott-Stump, S. 2008. **Nutrición y dietoterapia de Krause**. McGraw-Hill Interamericana. Decimosegunda edición, Barcelona, España.
- Maningat, C., Seib, P. 2013. RS4-type resistant starch: chemistry, functionality and health benefits. Págs. 43-77 en: Shi, Y; Manigant, C. (eds). *Resistant Starch: Applications and Health Benefits*. Wiley-Blackwell. Chichester (West Sussex), Reino Unido.
- Marín, J.G. 2009. Estudio del almidón presente en el fruto de variedades de musácea cultivadas en Venezuela. Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Martín, V. 2010. Digestibilidad *in vitro* y aprovechamiento por el gorgojo de arroz de almidones de plátano, variedades hartón común, cambur negro, topocho cenizo, HH-12 y cambur 012. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Medina, J.A., Salas, J.C. 2008. Caracterización morfológica del gránulo de almidón nativo: apariencia, forma, tamaño y su distribución. *Revista de ingeniería*. **27**: 56–62.
- Melito, C. 1998. Aislamiento, caracterización fisicoquímica, susceptibilidad a la hidrólisis enzimática y generación de almidones nativos, pregelatinizados y entrecruzados de arroz (*Oryza sativa*), apio (*Arracacia xanthorrhiza*) y haba criolla (*Canavalia ensiformis*). Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Mélo, E., Stamford, T., Silva, M., Krieger, N. 2003. Functional properties of yam bean (*Pachyrhizus erosus*) starch. *Bioresource Technology*. **89**(1): 103-106.
- Millán, G., Carmona, A. 2005. Estudios nutricionales con *Tribolium castaneum*. *Memorias del Instituto de Biología Experimental*. **4**: 53-56.
- Mishra, F., Rai, T. 2006. Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. *Food hydrocolloids*. **20**: 557–556.
- Montaldo, A. 1977. **Cultivo de raíces y tubérculos tropicales**. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. San José, Costa Rica.
- Moreno, M. 2016. Caracterización morfológica y nutricional de seis materiales de ñame (*Dioscorea* spp.) y su establecimiento *in vitro*. Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

- Mujica, A. 1990. **La arracacha en el Perú. Programa de investigación de cultivos andinos.** Instituto Nacional de Investigación Agraria y Agroindustrial. Puno, Perú.
- Munro, H.N. 1951. Carbohydrate and fat as factors in protein utilization and metabolism. *Physiological Reviews*. **31**(4): 449-488.
- Naguleswaran, S., Vasanthan, T. Hoover R., Bressler, D. 2013. The susceptibility of large and small granules of waxy, normal and high-amylose genotypes of barley and corn starches toward amylolysis at sub-gelatinization temperatures. *Food Research International*. **51**: 771–782.
- Noriega, L. 2001. El apio andino (*Arracacia xanthorrhiza* B.) y su cultivo en Capurí, Río Negro y El Molino. Tesis de Licenciatura. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Oates, C.G. 1997. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. *Trends in Food Science & Technology*. **8**: 375-382.
- O'Keefe, S.J.D., Ou, J., Aufreiter, S., O'Connor, D., Sharma, S., Sepulveda, J., Fukuwatari, T., Shibata, K., Mawhinney, T. 2009. Products of the colonic microbiota mediate the effects of diet on colon cancer risk. *The Journal of Nutrition*. **139**(11): 2044-2048.
- O'Keefe, S., Lil, J., Ou, J., Carbonero, F., Mohammed, K., Posma, J., Kinross, J., Wahl, E., Ruder, E., Vipperla, K., Naidoo, V., Mtshali, L., Tims, S., Puylaert, P., DeLany, J., Krasinskas, A., Benefiel, A., Kaseb, H., Newton, K., Nicholson, J., de Vos, W., Gaskins, H., Zoetendal, E. 2015. Fat, fibre and cancer risk in African Americans and rural Africans. *Nature*. 6342.
- Parker, R., Ring, S.G. 2001. Aspects of the physical chemistry of starch. *Journal of Cereal Science*. **34**: 1-17.
- Pérez, E., Bannassey, Y.A., Breene, W.M. 1993. A simple laboratory scale method for isolation of amaranth starch. *Starch/Stärke*. **6**: 211-214.
- Pérez, E., Borneo, R., Melito, C., Tovar, J. 1999. Chemical, physical and morfometric properties of Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza* B.) starch. *Acta Científica Venezolana*. **50**: 240-244.
- Pérez, E., Caypo, C. 2007. Raíz de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) una buena fuente de carbohidratos. *Ciencia y Salud*. **1**(1): 14-16.

- Pérez, E., Gibert, O., Rolland-Sabaté, A., Jiménez, Y., Sánchez, T., Giraldo, A., Pontoire, B., Guilois, S., Lahon, M.C., Reynes, M., Dufour, D. 2011. Physicochemical, functional and macromolecular properties of waxy yam starches discovered from “Mapuey” (*Dioscorea trifida*) genotypes in the Venezuelan Amazon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **59**: 263–273.
- Pérez, E., Segovia, X., Tapia, M.F.; Schroeder, M. 2012. Native and crosslinked modified *Dioscorea trifida* (Cush–cush yam) starches as bio–matrices for edible films. *Journal of Cellular Plastics*. **48**: 545–556.
- Pérez, E., Rolland-Sabaté, A., Dufour, D., Guzmán, R., Tapia, M., Raymunde, M., Ricci, J., Guilois, S., Pontoire, B., Reynes, M., Gibert, O. 2013. Isolated starches from yams (*Dioscorea* sp.) grown at the Venezuelan Amazons: Structure and functional properties. *Carbohydrate Polymers*. **98**: 650–658.
- Quiroga, C. 2009. Caracterización fisicoquímica de tres fuentes subutilizadas de almidón de la región andina de Bolivia. *Investigación y Desarrollo*. **9**: 81–94.
- Rached, L., Vizcarrondo, C., Rincón, A., Padilla, F. 2006. Evaluación de harinas y almidones de mapuey (*Dioscorea trifida*), variedades blanco y morado. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. **56**: 375–383.
- Riley, C., Wheatley, A. & Asemota, H. 2006. Physicochemical characterization of starches from Jamaican yams (*Dioscorea* spp.): Potential for pharmaceutical exploitations. *European Journal of Scientific Research*. **15**: 207–219.
- Rincón, A., Vizcarrondo, C., Padilla, F., Martín, E. 2000. Evaluación del posible uso tecnológico de algunos tubérculos de las dioscoreas: ñame congo (*Dioscorea bulbífera*) y mapuey (*Dioscorea trifida*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. **50**(3): 286–290.
- Rocha, T.S., Carneiro, A.P., Franco, C.M. 2008a. Effect of enzymatic hydrolysis on some physicochemical properties of root and tuber granular starches. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. **30**(2): 544–551.
- Rocha, T.S., Demiate, I.M., Franco, C.M. 2008b. Structural and physicochemical characteristics of Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza*) starch. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. **28**: 620–628.

- Rocha, T., Carneiro A.P., Franco, M. 2010. Effect of enzymatic hydrolysis on some physicochemical properties of root and tuber granular starches. *Food Science and Technology*. **30**(2): 544-551.
- Rocha, T.S., Cunha, V.A., Jane, J.L., Franco, C.M. 2011. Structural characterization of Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza*) starch and the effect of annealing on its semicrystalline structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **59**: 4208-4216.
- Rodríguez, D., Espitia, M., Caicedo, Y., Córdoba, Y., Baena, Y., Mora, C. 2005. Caracterización de algunas propiedades fisicoquímicas y farmacotécnicas del almidón de arracacha (*Arracacha xanthorrhiza*). *Rev. Col. Cien. Quím. Farm.* **34**: 140-146.
- Rojas, C. 2007. Evaluación nutricional de películas comestibles con ingredientes pre y probióticos usando como modelo biológico el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae*). Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Rojas-del Muro, M., Pérez-Díaz, C., Ramos-Herrera, O., de la Rosa-Millán, J., Chávez-Murillo, C. 2017. Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de almidón de frijol modificado hidrotérmicamente. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. **2**: 77-83.
- Romero, M., Lucas, J., Velásquez, D., Trujillo L., Henao S. 2014. Efecto del método de extracción sobre las propiedades fisicoquímicas de almidones nativos. Páginas 482-483 en: **II Congreso Internacional de Investigación e Innovación en Ingeniería, Ciencia y Tecnología de Alimentos –IICTA**, Medellín, Colombia.
- Sajilata, M.G., Singhal, R.S., Kulkarni, P.R. 2006. Resistant starch – a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. **5**: 1-17.
- Sánchez, J. 2018. Digestibilidad *in vitro* y aprovechamiento por el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.) de almidones de papa nativa del estado Mérida, Venezuela. Variedades andinita, ojos catires, tiniruca, angostureña y amarilis. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Santacruz, S. 2005. Characterisation of starches isolated from *Arracacha xanthorrhiza*, *Canna edulis* and *Oxalis tuberosa* and extracted from potato leaf. Tesis Doctoral. Universidad Sueca de Ciencias Agrícolas, Uppsala, Suecia.
- Sarko, A., Wu, H.C. 1978. The crystal structures of A-, B- and C-polymorphs of amylose and starch. *Starch/Stärke*. **30**(3): 73-78.

- Smith, I. 2010. Caracterización fisicoquímica y evaluación de la calidad e inocuidad microbiológica de cuatro variedades de mapuey (*Dioscorea trifida*) y sus productos (almidón nativo y modificado), provenientes del estado Amazonas y del estado Sucre. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Somogyi, M. 1945. New reagent for the determination of sugars. *The Journal of Biological Chemistry*. **160**(1): 61-68.
- Southgate, D.A.T. 1989. Conceptual issues concerning the assessment of nutrient bioavailability. Páginas 10-12 en: Southgate D., Johnson I., Fenwick G., (eds.). **Nutrient availability: chemical and biological aspects**. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, Reino Unido.
- Stylianopoulos, C. 2009. Requirements and dietary importance. Páginas 78-83 en: Caballero, B. (ed.), **Guide to Nutritional Supplements**. Academic Press. Waltham, MA. EE. UU.
- Szwarcbort, J. 1980. Efectos de algunos factores antinutricionales presentes en granos de leguminosas sobre el gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae* L.). Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Takeda, C; Takeda, Y; Hizukuri, S. 1989. Structure of amylo maize amylase. *Cereal Chemistry*. **66**: 22-5.
- Tapia, M.S., Pérez, E. Rodríguez, P.E., Guzmán, R., Duncamp-Collin, M.N., Tran, T., Rolland-Sabaté, A. 2012. Some properties of starch and starch edible films from underutilized roots and tubers from the Venezuelan Amazon. *Journal of Cellular Plastics*. **48**: 526–544.
- Tester, R.F., Karkalas, J., Qi, X. 2004. Starch – composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*. **39**: 151-165.
- Tester, R.F., Qi, X., Karkalas, J. 2006. Hydrolysis of native starches with amylases. *Animal Feed Science and Technology*. **130**(2): 39-54.
- Tovar, J., Björck, I., Asp, N.G. 1990. Analytical and nutritional implications of limited enzymatic availability of starch in cooked red kidney beans. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. **38**: 488–493.
- Tovar, J., Herrera, E., Laurentin, A., Melito, C. y Pérez, E. 1999. *In vitro* digestibility of modified starches. Páginas 1-10 en: Pandalai, S.G. (ed.), **Recent Research Developments in Agricultural and Food Chemistry**, Volumen 3. Research Singpost. Trivandrum, India.

- Tovar, J. 2001. Fibra dietética en Iberoamérica: Tecnología y Salud. Páginas 143–154 en: Lajolo, F.M., Saura-Calixto, F., Witting, E., Wenzel, E. (eds.), **Métodos para la determinación de almidón resistente en los alimentos**. Varela Pres, São Paulo.
- Tovar, J., Melito, C., Herrera, E., Rascón, A., Pérez, E. 2002. Resistant starch formation does not parallel syneresis tendency in different starch gels. *Food Chemistry*. **76**(4): 455-459.
- Velásquez, C., Trivelli, H. 1983. Distribución e importancia de los insectos que dañan granos y productos almacenados en Chile. Archivo de documentos de la FAO. Santiago de Chile.
- Vélez, B.F., Vélez, G. 1990. Plantas alimenticias de Venezuela. Fundación Bigott. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Monografía N° 37.
- Villacrés, E., Espín, S., Brito, B. 1998. Caracterización fisicoquímica, nutricional y funcional de raíces y tubérculos andinos. Página 101 en: **Proyecto CP BID 01/** Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Quito, Ecuador.
- Woodman, H.E. 1924. A method for the estimation of uric acid in poultry excreta. *Journal of Agricultural Science*. **14**(3): 413-427.
- Xiao-Pei, H., Yao-Yu, X., Zheng-Yu, J., Xue-Ming, X., Hang-Qing, C. 2014. Effect of single, dual, and triple-retrogradation treatments on *in vitro* digestibility and structural characteristics of waxy wheat starch. *Food Chemistry*. **157**: 373-379.
- Zobel, H.F. 1988. Starch crystal transformation and their industrial importance. *Starch/Stärke*. **40**: 1-7.