



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS  
DEL CENTRO DE LA REPÚBLICA  
(PROPAC)

DOCTORADO EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

DETERMINACIÓN DE LAS INTERACCIONES MOLECULARES ALMIDÓN DE MAÍZ –  
LÍPIDO – AGUA, EN SISTEMA MODELO, MEDIANTE MEDICIÓN DE LAS  
PROPIEDADES TÉRMICAS, MECÁNICAS Y ESTRUCTURALES.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. CARLOS ALBERTO GÓMEZ ALDAPA

ASESOR

DR. JORGE FERNANDO TORO VÁZQUEZ

No Adq. H65818  
No. Título \_\_\_\_\_  
Clas. TS  
664.725  
G633d  
Ej. 1



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO  
FACULTAD DE QUIMICA  
DOCTORADO EN CIENCIA DE ALIMENTOS  
PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS  
DEL CENTRO DE LA REPUBLICA  
(PROPAC)

DETERMINACION DE LAS INTERACCIONES MOLECULARES ALMIDON DE MAIZ  
- LIPIDO - AGUA, EN SISTEMA MODELO, MEDIANTE MEDICION DE LAS  
PROPIEDADES TERMICAS, MECANICAS Y ESTRUCTURALES.

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA  
M. en C. CARLOS ALBERTO GOMEZ ALDAPA

ASESOR  
DR. JORGE FERNANDO TORO VAZQUEZ

SINODALES:

Dr. Jorge Fernando Toro Vazquez

Dr. Luis Arturo Bello Pérez

Dr. Edmundo Brito de la Fuente

Dr. Eduardo Bárzana

Dr. Jaime Vernon

Dr. Carlos Regalado González

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

M. en C. Gustavo Pedraza Aboytes.  
Director de la Facultad de Química

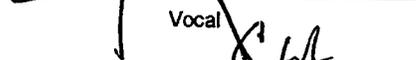
  
Presidente

  
Secretario

  
Vocal

  
Vocal

  
Vocal

  
Suplente

  
Suplente

  
Suplente

Dr. Sergio Quesada Aldana.  
Director de Investigación y Posgrado.

CENTRO UNIVERSITARIO  
Querétaro, Qro., Agosto del 2001. México.

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Fisicoquímica de Alimentos del Centro de Investigación y Estudios de Posgrado (CIEP) de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, bajo la dirección del Dr. Jorge Fernando Toro Vazquez, profesor investigador y Director de la Facultad de Ciencias Químicas de dicha Universidad.

## INDICE DE CONTENIDO.

INDICE DE FIGURAS.....	xii
INDICE DE TABLAS.....	xviii
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCION.....	4
III. REVISION DE LITERATURA.....	8
1. El maíz.....	8
1.1. Origen y clasificación botánica.....	8
1.2. Estructura del grano de maíz.....	9
1.3. Composición química del maíz.....	11
1.3.1. Carbohidratos.....	11
1.3.2. Proteínas.....	13
1.3.3. Lípidos.....	13
2. Productos obtenidos del maíz.....	14
2.1. Procesos de elaboración de tortillas y de harina instantánea.....	15
2.2. Harinas instantáneas de maíz nixtamalizado.....	17
3. Generalidades del almidón.....	17
4. Estructura química del almidón.....	20
4.1. Amilosa.....	20

4.2.	Amilopectina.....	23
5.	Cambios en el almidón producidos por tratamientos hidrotérmicos.	23
5.1.	Gelatinización.....	23
5.1.1.	Aspectos básicos.....	23
5.1.2.	Influencia de solutos.....	25
5.1.3.	Gelación y retrogradación.....	26
5.1.3.1.	Gelación.....	26
5.1.3.2.	Retrogradación.....	28
6.	Clasificación de las transiciones de fase.....	30
7.	Transiciones de fase relevantes en sistemas alimentarios.....	33
7.1.	Cristalización y fusión.....	34
7.2.	Transición vítrea.....	37
7.3.	Transiciones de fase de los componentes del almidón.....	38
8.	Agua en los alimentos.....	50
8.1.	Efecto plastificante e interacciones del agua en los componentes del alimento.....	51
9.	Enfoque de la ciencia de polímeros en los alimentos.....	58
IV.	OBJETIVOS.....	64
1.	Objetivo general.....	64
2.	Objetivos específicos.....	64

V.	MATERIALES Y METODOS.....	65
1.	Materiales.....	65
2.	Métodos.....	66
2.1.	Métodos químicos.....	66
2.1.1.	Molienda y extracción de los lípidos libres.....	66
2.1.2.	Determinación del perfil de ácidos grasos.....	66
2.1.3.	Purificación del almidón.....	67
2.1.4.	Concentración de almidón y amilosa.....	68
2.1.4.1.	Reactivos utilizados.....	68
2.1.4.2.	Pre acondicionamiento de las muestras.....	69
2.1.4.3.	Determinación del contenido de amilosa.....	70
2.1.4.4.	Determinación del almidón total.....	71
2.1.4.5.	Cálculo del porcentaje de amilosa y la concentración de almidón.....	71
2.1.5.	Determinación de calcio y fósforo en almidón.....	72
2.1.6.	Determinación de fósforo en lípidos.....	74
2.1.7.	Determinación de proteína.....	74
2.2.	Métodos físicos.....	74
2.2.1.	Microscopia electrónica de barrido.....	74
2.2.2.	Isotermas de sorción.....	75

2.2.2.1.	Preparación de los microambientes.....	75
2.2.2.2.	Determinación de las isotermas de sorción.....	75
2.2.3.	Difracción de rayos X.....	77
2.2.4.	Microscopia óptica de luz polarizada.....	78
2.2.5.	Calorimetría diferencial de barrido.....	78
2.2.5.1.	Velocidad de calentamiento.....	79
2.2.5.2.	Contenido de humedad.....	80
2.2.5.3.	Anillado a 30 °C a diferentes humedades relativas (H.R.)....	80
2.2.5.4.	Temperatura de transición vítrea.....	81
2.2.5.5.	Efecto de la Lisofosfatidilcolina (LPC) sobre las propiedades térmicas y estructurales del almidón nativo (ALL).....	81
2.2.6.	Propiedades mecánicas del almidón nativo (ALL).....	83
2.2.6.1.	Cinética de gelatinización y de retrogradación.....	83

VI.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	85
1.	Métodos químicos.....	85
1.1.	Extracción de lípidos libres y cuantificación de ácidos grasos.....	85
1.2.	Análisis químico de almidones.....	85
2.	Métodos físicos.....	89
2.1.	Microscopia electrónica de barrido de almidones iniciales.....	89
2.2.	Isotermas de sorción.....	92

2.3.	Difracción de rayos X. ....	92
2.4.	Microscopia óptica de luz polarizada. ....	97
2.5.	Propiedades térmicas de los almidones.....	97
2.5.1.	Velocidad de calentamiento. ....	100
2.5.2.	Contenido de humedad. ....	106
2.5.3.	Anillado a 30 °C a diferentes humedades relativas (H.R.)..	110
2.5.4.	Temperatura de transición vítrea. ....	115
2.5.5.	Efecto de la L- $\alpha$ -Lisofosfatidilcolina (LPC) sobre las propiedades térmicas y estructurales del almidón nativo (ALL). .....	117
2.5.5.1.	Retrogradación del almidón nativo en presencia de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina. ....	139
2.5.6.	Propiedades mecánicas del almidón nativo (ALL). ....	144
VII.	CONCLUSIONES.....	150
VIII.	BIBLIOGRAFIA. ....	155

## INDICE DE FIGURAS.

Figura 1.1.	Estructura morfológica del grano de maíz.....	10
Figura 1.2.	Diagrama de flujo del proceso tradicional para elaboración de tortillas.	16
Figura 1.3.	Patrones de difracción de rayos X para diferentes almidones .....	21
Figura 1.4.	Componentes del almidón. a). Amilosa, polímero lineal flexible compuesto de D-glucosa ( $\alpha$ -1-4), b). Amilopectina, polímero ramificado compuesto de D-glucosa ( $\alpha$ -1-4) y ( $\alpha$ -1-6).....	22
Figura 1.5.	Representación esquemática de termogramas del almidón de papa a diferentes contenidos de agua obtenidos por calorimetría diferencial de barrido.....	41
Figura 1.6.	Termogramas obtenidos por DSC, de almidones de arroz a una velocidad de barrido de 10 °C/min .....	43
Figura 1.7.	Termogramas obtenido por DSC del almidón de la variedad IR 2071 de arroz a diferentes contenidos de humedad.....	46
Figura 1.8.	Temperatura de transición características obtenidas por medio de DSC ( $T_c$ , $T_{p2}$ y $T_g$ ) de la muestra de almidón de arroz (IR 2071), en función de la concentración de almidón utilizado.....	47
Figura 1.9.	Cambios en el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y el módulo de pérdida ( $G''$ ) en función del calentamiento en dispersiones de almidón al 10% .....	49
Figura 1.10.	(I) Termogramas obtenidos del complejo amilosa – (L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina). (II) termogramas del complejo aislado, obtenidos después de la adición de agua a la muestra anterior .....	57

Figura III.11. Curva de presión – deformación obtenida a diferentes contenidos de humedad usando la prueba de flexión de tres puntos para a) gluten, b) almidón de trigo, y c) almidón de maíz ceroso..... 60

Figura III.12. Representación del módulo de flexibilidad como una función del contenido de humedad. gluten, (o); almidón de trigo, (Δ) y almidón de maíz ceroso, (□)..... 61

Figura VI.1. Microfotografías de los cuatro almidones a 800 aumentos. A, Almidón nativo (ALL); B, Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL); C, Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL) y D, Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL). ..... 90

Figura VI.2. Microfotografías de los cuatro almidones a 2000 aumentos. A, Almidón nativo (ALL); B, Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL); C, Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL) y D, Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL). ..... 91

Figura VI.3. Isotermas de sorción de los cuatro almidones. Almidón nativo (ALL), Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL), Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL) y Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL). ..... 93

Figura VI.4. Patrón de difracción de rayos X de los cuatro almidones. Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL), Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL), Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL) y Almidón nativo (ALL). ..... 95

Figura VI.5. Gráficas del porcentaje de luz transmitida en función de la temperatura de los cuatro almidones. A, Almidón nativo (ALL); B, Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL); C, Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL) y D, Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL)..... 98

Figura VI.6. Termogramas del agua en portamuestras de aluminio. A, agua en el portamuestras de muestra; B, Almidón nativo (ALL) sin agua en la celda de referencia; C, agua colocada en ambos portamuestras; D, ALL con agua en la celda de referencia y E, agua colocada en el portamuestras de referencia. ....	99
Figura VI.7. termogramas del almidón nativo (ALL) determinados en función de la velocidad de calentamiento. ....	101
Figura VI.8. Propiedades térmicas del almidón nativo (ALL) determinadas en función de la velocidad de calentamiento. $T_o$ , Temperatura de inicio; $T_p$ , pico máximo y $T_f$ , Temperatura final. Energía de transición reportada en base a peso seco de almidón.....	102
Figura VI.9. Termogramas de los almidones de maíz investigados. Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL), Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL), Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL) y Almidón nativo (ALL). ....	104
Figura VI.10. Cambios en la temperatura máxima de la endoterma de gelatinización [ $T_p$ (A)] y en la correspondiente energía de transición [ $\Delta H$ (B)] de los almidones en función del porcentaje de humedad. Almidón nativo (ALL), Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL), Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL) y Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL).....	108
Figura VI.11. Patrón de difracción de rayos X de los almidones analizados después de 40 días de almacenamiento a 30 °C y la actividad acuosa señalada. Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL), Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL), Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL) y Almidón nativo (ALL).....	111

Figura VI.12. Termogramas para la determinación de $T_g$ en A, Almidón nativo (ALL); Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL) (80% de humedad). Barrido inicial en línea continua, el recalentamiento en línea discontinua. Se indica la temperatura alcanzada durante el primer calentamiento.....	116
Figura VI.13. Termogramas del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad obtenidos en función de la concentración de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC) 0%, 2.33% y 20% a 5 °C/min. ....	119
Figura VI.14. Efecto de la concentración de L- $\alpha$ -Lisfosfatidilcolina (LPC) sobre las temperaturas de transición del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad. A, endoterma de gelatinización del almidón; B, endoterma de disociación del complejo almidón – LPC. Ambos durante el primer calentamiento, obtenidos a 5 °C/min.....	120
Figura VI.15. Efecto de la concentración de L- $\alpha$ -Lisofosfatidilcolina (LPC) sobre las temperaturas de transición del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad. A, exoterma de formación del complejo almidón – LPC durante el enfriamiento; B, endoterma de disociación del complejo almidón – LPC durante el segundo calentamiento, obtenidos a 5 °C/min.....	121
Figura VI.16. Efecto de la concentración de la L- $\alpha$ -Lisofosfatidilcolina (LPC) en la energía de gelatinización del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad (●), disociación del complejo almidón – LPC durante el primer calentamiento (■), formación del complejo almidón – LPC durante el enfriamiento (◆) y disociación del complejo almidón – LPC durante el segundo calentamiento (▲), obtenidos a 5 °C/min. ....	122

Figura VI.17. Microfotografías del cambio de la estructura del almidón nativo (ALL) al 0% de LPC obtenidos en función de la temperatura indicada (1500 aumentos). .....	123
Figura VI.18. Microfotografías del cambio de la estructura del almidón nativo (ALL) al 2.33% de LPC obtenidos en función de la temperatura indicada (1500 aumentos). .....	125
Figura VI.19. Microfotografías del cambio de la estructura del almidón nativo (ALL) al 20% de LPC obtenidos en función de la temperatura indicada (1500 aumentos). .....	127
Figura VI.20. Microfotografías del cambio de la estructura del almidón nativo (ALL) al 38% de LPC obtenidos en función de la temperatura indicada (1500 aumentos). .....	129
Figura VI.21. Complejo amilosa – monoestarina.....	135
Figura VI.22. Relación observada entre el $\Delta H$ de disociación del complejo durante el segundo calentamiento y la concentración de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina.....	137
Figura VI.23. Termogramas del almidón nativo (ALL) procesado de acuerdo a las condiciones de la Figura V.13 después de 14 días de almacenamiento a 4 °C, obtenidos a 5 °C/min. ....	140
Figura VI.24. Relación observada entre el $\Delta H$ de disociación del complejo después del almacenamiento a 4 °C durante 14 días, con la concentración de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina.....	143

Figura VI.25. Cinética del módulo de almacenamiento ( $G'$ ) del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad obtenido a tres concentraciones de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC). 0.0% (\_\_\_), 2.33% ( \_.\_ ) y 20% ( - - - ) de LPC. ....145

Figura VI.26. Cinética del ángulo de pérdida ( $\delta$ ) del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad obtenido a tres concentraciones de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC). 0.0% (\_\_\_), 2.33% ( \_.\_ ) y 20% ( - - - ) de LPC. .... 146

Figura VI.27. Cinética del ángulo de pérdida ( $\delta$ ) del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad determinado después de gelatinizado, a 25 °C a tres concentraciones de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC). 0.0% (\_\_\_), 2.33% ( \_.\_ ) y 20% ( - - - ) de LPC. .... 149

## INDICE DE TABLAS.

Tabla III.1. Composición química del grano de maíz y sus fracciones.....	12
Tabla III.2. Temperaturas y entalpías de transición de fase para ocho variedades de almidón de arroz .....	44
Tabla III.3. Propiedades reológicas de almidones gelatinizados a 86 °C, con diferentes concentraciones de agua.....	54
Tabla V.1. Programa de digestión utilizado en la preparación de las muestras para la determinación de calcio y fósforo en almidón.....	73
Tabla V.2. Tipo de sales y su concentración en agua para alcanzar la humedad relativa (H.R.) indicada a 30 °C .....	76
Tabla V.3. Temperatura e intervalo de deformación aplicados para determinar la región viscoelástica lineal (RVL) y evaluar la cinética de gelatinización y retrogradación.....	84
Tabla VI.1. Porcentaje de aceite extraído y perfil de ácidos grasos.....	86
Tabla VI.2. Análisis químico de los almidones .....	87
Tabla VI.3. Contenido de humedad de monocapa ( $X_0$ ) y las constantes de GAB ( $C_1$ y $C_2$ ) para las isotermas de sorción (30 °C) de los almidones de maíz. ...	94
Tabla VI.4. Propiedades térmicas de los almidones de maíz (80% de humedad) investigados .....	105
Tabla VI.5. Propiedades térmicas del almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL) determinadas a diferentes porcentajes de humedad. ....	107

Tabla VI.6. Propiedades térmicas del almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL) determinadas a diferentes porcentajes de humedad. ....	107
Tabla VI.7. Propiedades térmicas del almidón nativo (ALL) en función del almacenamiento a diferentes tiempos y valores de $A_w$ . ....	113
Tabla VI.8. Propiedades térmicas del almidón nativo sin lípidos libres (ASLL) en función del almacenamiento a diferentes tiempos y valores de $A_w$ . ....	114
Tabla VI.9. Temperatura máxima ( $T_p$ ) y energía de transición ( $\Delta H$ ) de la gelatinización, disociación (1 <sup>er</sup> y 2 <sup>o</sup> calentamiento) y formación (enfriamiento) del complejo almidón – LPC. Perfil térmico de acuerdo a los termogramas mostrados en la Figura VI.13.....	132
Tabla VI.10. Propiedades térmicas del almidón nativo (ALL), determinadas en almidones gelatinizados después de 14 días de almacenamiento a 4 °C, en función del porcentaje de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC), obtenidos a 5 °C/min.....	142

## I. RESUMEN.

Las propiedades térmicas y mecánicas del almidón de maíz bajo el efecto del proceso de nixtamalización y la presencia de fosfolípidos se evaluaron predominantemente mediante técnicas calorimétricas y reológicas, ambas bajo regímenes en equilibrio y dinámico. Adicionalmente, se estudió la estructura microscópica del almidón bajo las mismas condiciones experimentales. Así, maíz normal (*Zea mays L*) fue muestreado de silos de almacenamiento de una industria del ramo. Almidón nativo fue aislado de estos granos (ALL). Del mismo lote de maíz, harina nixtamalizada (instantánea) fue obtenida a nivel industrial y su almidón aislado (ANLL). El contenido de amilosa en ambos almidones fue muy similar y característico de un almidón de maíz normal. Sin embargo, el proceso de nixtamalización incrementó el contenido de calcio en el almidón ANLL. Los almidones investigados mostraron un patrón de difracción tipo A, característico de almidones provenientes de cereales. Este patrón de difracción no se modificó después de 40 días de almacenamiento a diferentes humedades relativas (11% al 84%). Sin embargo, los termogramas obtenidos por calorimetría diferencial de barrido mostraron que un proceso de anillado (perfeccionamiento de la estructura cristalina) ocurrió durante el almacenamiento a 30 °C. Por otro lado, se concluye que la nixtamalización industrial produce la fusión parcial del almidón y tiene un efecto de perfeccionamiento de la estructura cristalina del mismo (anillado). Así, la temperatura de transición vítrea operativa ( $T_g$ ) y los parámetros térmicos que definen a la gelatinización del almidón ( $T_p$  y  $\Delta H$ ), mostraron que la proporción entre las regiones cristalinas y amorfas dentro del gránulo del almidón y la cantidad de almidón dañado físicamente se modificaron por la nixtamalización industrial. Como ejemplo,  $T_g$  para ALL estuvo dentro del intervalo de 60 a 62.5 °C, mientras que para ANLL se observaron dos  $T_g$ 's, uno a 45 – 55 °C para el almidón dañado y otro entre 65 – 70 °C para el almidón anillado. Además, la extracción de los lípidos libres (lípidos no constitutivos de almidón), proporcionan almidones con propiedades térmicas más consistentes, particularmente en su comportamiento de gelatinización. Por otro lado, La adición de diferentes concentraciones de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC) modificó el intervalo de temperatura de gelatinización de ALL, el de disociación y formación del complejo almidón – LPC y el de retrogradación. Igualmente, fue evidente como la interacción almidón – LPC se manifestó en cambios estructurales del almidón en función de la temperatura y de la concentración de LPC, repercutiendo significativamente en las propiedades reológicas del almidón. En general, la concentración del 2.33% y del 4.19% de LPC incrementaron el valor del  $\Delta H$  de gelatinización ( $p < 0.05$ ). En contraste, un posterior incremento en la concentración de LPC causó un decremento en los valores del  $\Delta H$  ( $p < 0.05$ ). Lo anterior resultó del efecto protector del fosfolípido sobre la estructura del gránulo de almidón puesto de manifiesto por microscopía electrónica de barrido. Este efecto ocasionó la inhibición de la retrogradación del almidón a concentraciones mayores del 10%, así como la modificación en los perfiles viscoelásticos durante la gelatinización del almidón. Se concluye que el proceso de interacción entre el almidón de maíz en estado granular y el

fosfolípido provoca cambios en las propiedades térmicas y reológicas del almidón durante el proceso de gelatinización y de gelación a través de la modificación de la estructura resultante del sistema almidón - LPC una vez que el fosfolípido se difunde dentro del gránulo.

Palabras claves: Almidón, nixtamalización e interacción almidón – fosfolípido.

## ABSTRACT.

The thermal and mechanical properties of corn starch under the effect of nixtamalization process and the presence of phospholipids were evaluated with calorimetric and rheological techniques, both under equilibrium and dynamic conditions. Additionally, the microstructure of starch under the same experimental conditions was studied. Thus, dent maize grains were sampled from storage silos and the starch isolated (ALL). Dry masa flour was obtained and the starch isolated (ANLL) from the same batch of maize. The amylose content in the starches was quite similar (i.e., 21.5 - 23.4%) and characteristic of a dent maize. However, nixtamalization increased the calcium content in ANLL starches. The starches investigated observed the typical A-type diffraction pattern, which was not modified after 40 days of storage at different relative humidities (i.e., 11 - 84.1%). However, the DSC results showed that annealing of maize starch occurred during storage at 30 °C. On the other hand, it was concluded that industrial nixtamalization has both a melting and annealing effect on maize starch. Thus, the operative glass transition temperature ( $T_g$ ), and the DSC parameters that define starch gelatinization (i.e.,  $T_p$  and  $\Delta H$ ) showed that the proportion between crystalline and amorphous regions within the starch granule, and the extent of physical damaged starch were modified by nixtamalization. As example,  $T_g$  for ALL was between 60 - 62.5 °C, while  $T_g$  for the ANLL damaged starch was between 45 °- 55 °C and for annealed ANLL starch between 65 °- 70 °C. Additionally, the extraction of the non-constitutive starch lipids provided starches with more consistent thermal properties, particularly regarding gelatinization behavior. Addition of different concentrations of L- $\alpha$ -lysophosphatidyl choline (LPC) changed the gelatinization temperature range, dissociation and formation of the complex starch - LPC, and retrogradation. The interaction starch - LPC promoted structural changes of starch as a function of temperature and LPC concentration, significantly affecting the rheological properties of starch. LPC concentrations of 2.33% and 4.19% increased  $\Delta H$  of gelatinization ( $p < 0.05$ ) as a general rule. Oppositely, a further increase in LPC concentration caused a decrease of  $\Delta H$  of gelatinization ( $p < 0.05$ ). This phenomenon is due the protective effect of the phospholipid on the structure of the starch granules, as evidenced by SEM. When concentrations of LPC were above 10%, starch retrogradation was inhibited and its viscoelastic profile was modified as gelatinization process proceeded. Thus, it is concluded that corn starch – phospholipid interactions cause changes in the thermal and rheological properties of starch, due to structural modifications of the starch granule due to diffusion of the phospholipid to its interior.

Key Words: starch, nixtamalization and interaction starch – phospholipid.

## II. INTRODUCCION.

El maíz (*Zea mays L.*) y su principal forma de consumo, la tortilla, son los productos básicos de la alimentación de México y de algunos países de América Central y el sur de los Estados Unidos de Norteamérica (Trejo-González et al., 1982). La nixtamalización, cumple varias funciones: facilita el desprendimiento del pericarpio y pedicelo del grano de maíz, controla la actividad microbiana, mejora el sabor, aroma, vida de anaquel y el valor nutricional de las tortillas entre otras (Paredes-López y Saharópulos-Paredes, 1983; Serna-Saldívar et al., 1988a, b).

La tecnología para la producción de tortilla de maíz es muy antigua y se ha transmitido de generación en generación en el transcurso de los años. El proceso central en la elaboración de tortillas es la nixtamalización (del nahuatl, *nextli*, cal de cenizas y *tamalli*, masa de maíz cocido (Cabrera, 1992)). Aunque en la actualidad este método de preparación se está cambiando por la utilización de harinas instantáneas producidas industrialmente.

La harina instantánea ha venido a desplazar la producción de masa fresca en la elaboración de tortillas por muchas razones, tales como: ahorro de espacio, tiempo y equipo de procesamiento, mayor vida de anaquel (más de un año en condiciones apropiadas) debido a su bajo contenido de humedad (8 a 10%) y facilidad de manejo, ya que requiere solamente la adición de agua para preparar la masa fresca (Bedolla y Rooney, 1984). La preparación de la masa a partir de este producto requiere menos de 30 min, comparada con las 12 a 24 h que se necesitan para cocer, reposar y moler el maíz para obtener el mismo producto a partir del nixtamal. El principal componente del maíz es el almidón y es por lo tanto uno de los componentes que controla las propiedades físicas de la masa.

El almidón está compuesto esencialmente (98 – 99%) de polímeros de D-glucosa. Químicamente, el almidón consiste de dos polímeros de diferente estructura,

amilosa y amilopectina, además de que en algunos almidones se ha identificado un tercer componente denominado material intermedio (Biliaderis, 1991a). La proporción de estos dos polímeros y su organización física dentro de la estructura granular le confieren propiedades fisicoquímicas y funcionales características a los diferentes almidones. Por lo tanto, la estructura del almidón necesita ser considerada a dos niveles distintos: a) a nivel molecular, que se refiere a la cantidad, estructura fina, tamaño y forma de las moléculas y b) a nivel de la estructura supermolecular del gránulo (Biliaderis, 1991a).

Desde el punto de vista nutricional, el almidón es el principal componente de la dieta humana. Actualmente, existe la tendencia a consumir alimentos más saludables reduciendo el consumo de azúcar refinado y grasa, substituyéndolos por productos derivados del almidón. Sin embargo, en nuestra cultura el principal propósito de la utilización del almidón y sus derivados es más importante desde el punto de vista estético que nutricional. La razón de lo anterior es que este biopolímero constituye una excelente materia prima para modificar la textura, apariencia y consistencia de los alimentos; sin embargo, no solo la cantidad de almidón sino de igual manera el tipo de almidón son críticos para conferir la textura deseada a un alimento en particular (Biliaderis, 1991a).

Los gránulos de almidón cuando se extraen y se secan tienen la apariencia de un polvo blanco y son insolubles en agua fría. En forma general presentan la composición química siguiente: 0.06 – 0.45% de proteína, 0.05 – 0.8% de lípidos y 0.08 – 0.5% de cenizas y el resto lo forma el almidón propiamente dicho (Guilbot y Mercier, 1985). Todos estos constituyentes juegan, en menor o mayor medida, un papel importante en las propiedades funcionales del almidón.

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, pero se hinchan cuando se calientan en un medio acuoso. Inicialmente el hinchamiento es reversible y las propiedades ópticas del gránulo no se pierden (por ejemplo birrefringencia); sin

embargo, cuando se alcanza una cierta temperatura el hinchamiento llega a ser irreversible y la estructura del gránulo se altera significativamente (Lai y Kokini, 1991). Este proceso es conocido como gelatinización y la temperatura a la cual ocurre este fenómeno se le conoce como temperatura de gelatinización, la cual en realidad es un intervalo de temperaturas de gelatinización. A medida que el gránulo alcanza esta temperatura éste pierde su birrefringencia, la amilosa difunde hacia el agua y la amilopectina queda dentro del gránulo hasta que finalmente el gránulo pierde su estructura. La amilosa fuera del gránulo forma una malla tridimensional y produce un gel. En general, la solubilización de las moléculas de almidón, el hinchamiento e hidratación y la pérdida de la estructura granular son colectivamente definidos por el término gelatinización (Lund, 1984; Biliaderis, 1991a). Para una población de gránulos la temperatura de gelatinización varía en un intervalo de 5 a 10 °C; esta variación indica que las fracciones del gránulo muestran diferentes comportamientos de gelatinización (Guilbot y Mercier, 1985).

El hinchamiento de los gránulos de almidón que se presenta durante la gelatinización provoca que la viscosidad del medio se incremente. Las estructuras moleculares de los constituyentes del almidón contribuyen al incremento en la viscosidad. Inicialmente, la gelatinización ocurre en las regiones del gránulo más accesibles que son las amorfas. Conforme la temperatura se incrementa los enlaces de hidrógeno intermoleculares que mantienen la integridad estructural de las regiones cristalinas se destruyen. Las moléculas de agua solvatan los grupos hidroxilos liberados y el gránulo continúa hinchándose. Como consecuencia de una severa destrucción de los enlaces de hidrógeno, el gránulo se hidrata completamente y finalmente la malla micelar se separa y difunde dentro del medio acuoso. Después de la destrucción de los gránulos, la viscosidad disminuye. El incremento de la viscosidad en las primeras etapas del calentamiento se debe principalmente a la liberación de la amilosa. En las últimas etapas, el incremento continuo de la viscosidad se debe a interacciones del material extragranular y al hinchamiento de los gránulos (Biliaderis, 1991a).

El acomplejamiento de la amilosa con los lípidos (Morrison, 1988, 1995) ha cobrado gran interés debido a las repercusiones tecnológicas de este sistema en los productos alimenticios elaborados con almidón, lo cual se ve reflejado en las propiedades funcionales de estos productos y en la aceptación por parte del consumidor (Eliasson et al., 1988; Biliaderis, 1991b). En los últimos años se han realizado diversos estudios sobre los aspectos funcionales del complejo amilosa - lípidos (Leloup et al., 1990), de aspectos moleculares del complejo (Buléon et al., 1984), así como sobre el comportamiento hidrodinámico en solución de la molécula de amilosa (Roger y Colonna, 1992; 1993), para tratar de elucidar el comportamiento del complejo amilosa -lípidos y la forma mediante la cual modifica las propiedades funcionales de dichos sistemas.

Las propiedades fisicoquímicas del almidón que determinan las propiedades funcionales del mismo son importantes para establecer la vida de anaquel de un producto alimenticio, estas propiedades implican las transiciones de fase de primero y segundo orden del almidón, las interacciones del almidón con otros constituyentes y la manera en como estas transiciones e interacciones son afectadas por la concentración de agua en el sistema. Estos factores también influyen el comportamiento mecánico y estructural del almidón, estos factores se han evaluado para diferentes fuentes de almidón (arroz, trigo, papa, maíz ceroso, etc) pero no se ha estudiado como estos factores son afectados por el proceso de nixtamalización para la producción de harinas instantáneas a nivel industrial y que efecto tiene sobre estos factores la presencia de un fosfolípido (L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina) presente comúnmente en el grano de maíz.

### III. REVISION DE LITERATURA.

#### 1. El maíz.

##### 1.1. Origen y clasificación botánica.

Las representaciones de plantas de maíz o partes de ellas, en esculturas, códices y cerámicas prehistóricas, así como estudios de fósiles, indican que el maíz tuvo su origen geográfico en la República Mexicana, específicamente en el valle de Tehuacan, Puebla y al norte del estado de Oaxaca. También indican que en México ocurrió su domesticación y posterior dispersión a otras regiones de América del Sur hace más de cinco mil años (Reyes, 1990).

Se ha reportado que el progenitor silvestre del maíz existió hace 8,000 años (Katz et al., 1974; Paredes-López y Saharópulos-Paredes, 1983; Trejo-González et al., 1982; Reyes, 1990). Una hipótesis que favorece esta versión asegura que el maíz es un híbrido natural entre el teocintle (*Z. mexicana*) y una gramínea afín ya extinguida, la cual se caracterizaba por ser una planta que producía el grano en forma de espiga (Reyes, 1990). El cultivo de maíz se difundió entonces por todo el continente americano y después del descubrimiento de América, hacia los otros continentes, por lo que actualmente el maíz es cultivado prácticamente en todo el mundo.

El grano de maíz se conoce botánicamente como una caryopsis, una baya de una semilla seca donde la cáscara de la fruta está fusionada a la semilla, formando un solo grano. El grano está unido al olote mediante el pedicelo, por el cual a través de conductos internos, llegan los productos de la fotosíntesis al grano durante su desarrollo (Watson, 1987). La forma, tamaño, estructura y composición del grano, están determinadas por sus antecedentes genéticos y los hay grandes, pequeños, en forma esférica, aplanada y otras.

## 1.2. Estructura del grano de maíz.

La estructura morfológica del grano de maíz se compone de cuatro partes principales: pedicelo, pericarpio (cáscara o salvado), germen (embrión) y endospermo (Figura III.1) (Wolf et al., 1952a, b, c, d).

- 1). **PEDICELO.** Es la estructura celular mediante la cual el grano se encuentra unido al olote. Está compuesto de haces vasculares que terminan en la porción basal del pericarpio, consta de una capa exterior de abscisión, con la función probable de sellar la punta del grano maduro. A esta capa le sigue una serie de células parenquimatosas en forma de estrella, unidas entre si por medio de sus puntas formando una estructura frágil y porosa, conectadas con la capa de células cruzadas del pericarpio (Wolf et al., 1952a; Inglett, 1970; Watson, 1987). El pedicelo constituye un 0.8% del peso total del grano (Tabla III.1).
  
- 2). **PERICARPIO.** Este esta compuesto de una capa externa de células de pared gruesa, alargadas y petrificadas que forman un tejido denso y duro; bajo estas células se encuentra una capa de células de estructura diferente, estas son esponjosas, tubulares y transversales, las cuales son una continuación de las células esponjosas del pedicelo. Después de esta capa se encuentra una delgada membrana cerosa conocida como la cascara de la semilla, debajo contiene un tejido de células gruesas conocido como capa de células de aleurona. Todos los componentes del pericarpio constituyen aproximadamente el 5.3% del peso del grano (Tabla III.1), el pericarpio esta constituido en su gran mayoría de fibra (Wolf et al., 1952b; Inglett, 1970; Watson, 1987).

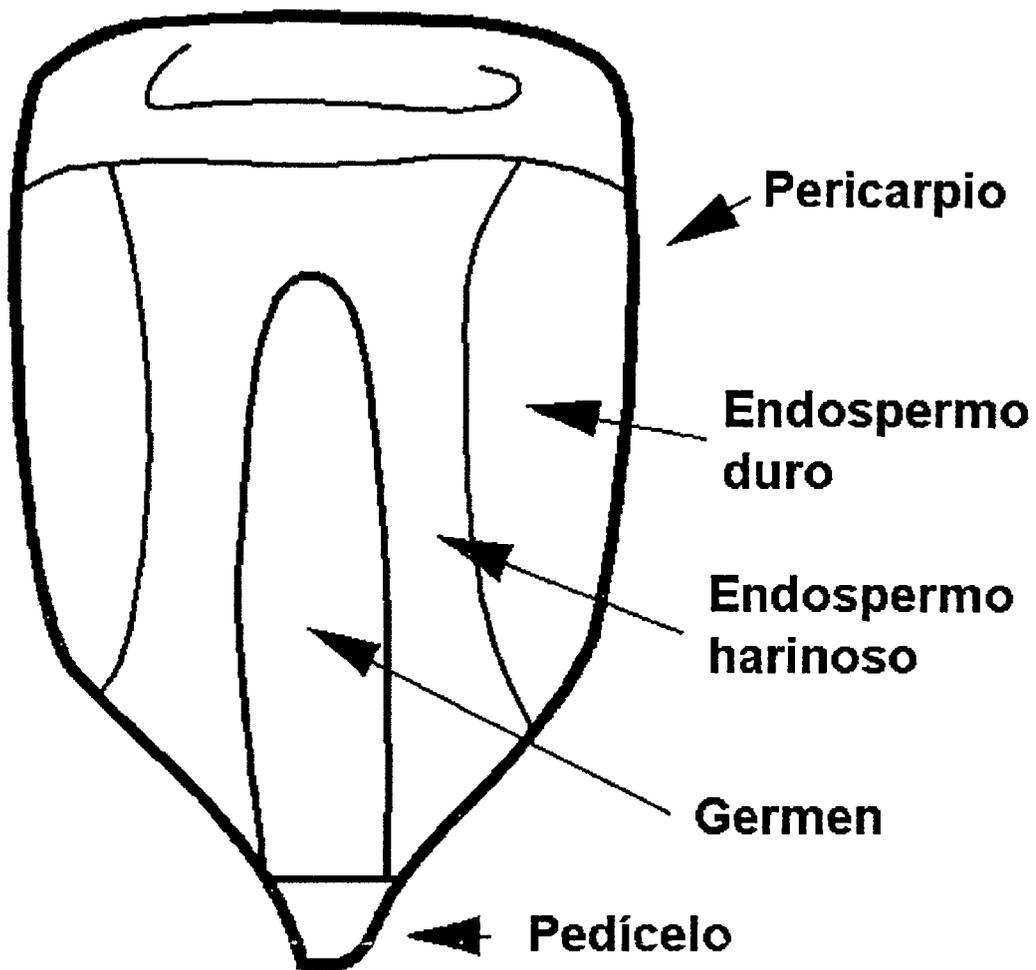


Figura III.1. Estructura morfológica del grano de maíz (Serna-Saldivar et al., 1990).

- 3). **GERMEN.** Las principales partes que constituyen el germen son: el escutelum y el eje embrionario. El escutelum constituye cerca del 90% del germen y es donde se almacenan los nutrientes que utiliza el grano durante la germinación. El germen aporta el 11.5% del peso total del grano (Wolf et al., 1952d; Inglett, 1970; Watson, 1987) y es en este donde se encuentra la mayor cantidad de lípidos del grano (Tabla III.1).
  
- 4). **ENDOSPERMO.** El endospermo constituye la mayor proporción del grano con aproximadamente 82% del peso total (Tabla III.1), del cual el 86.4% es almidón (Inglett, 1970). Está compuesto de dos regiones: una harinosa y otra córnea. Generalmente la relación harinosa/córnea es de 2:1. La región harinosa del endospermo se caracteriza por tener células con gránulos de almidón grandes (10 a 30  $\mu\text{m}$ ), esféricos y una capa delgada de matriz proteica, la cual se rompe durante el secado formando vacíos intercelulares; a estos espacios vacíos formados en las células endospermicas se atribuye la apariencia blanca harinosa del grano (Wolf et al., 1952c; Inglett, 1970; Watson, 1987). En la región periférica o córnea se encuentran células con gránulos de almidón más pequeños (1 a 10  $\mu\text{m}$ ).

### **1.3. Composición química del maíz.**

En forma general el grano de maíz presenta la composición química y estructural mostrada en la Tabla III.1.

#### **1.3.1. Carbohidratos.**

El grano de maíz normal está constituido principalmente de almidón (72% aproximadamente) (Tabla III.1). La proporción varía dependiendo del tipo de maíz; el

Tabla III.1. Composición química del grano de maíz y sus fracciones<sup>a</sup>.

FRACCION	GRANO	ALMIDON	PROTEINAS	LIPIDOS	AZUCARES	CENIZAS
GRANO INTEGRAL	--	71.5	10.3	4.8	2.0	1.4
ENDOSPERMO	82.3	86.4	9.4	0.8	0.6	0.3
GERMEN	11.5	8.2	18.8	34.5	10.8	10.1
PERICARPIO	5.3	7.3	3.7	1.0	0.3	0.8
PEDICELO	0.8	5.3	9.1	3.8	1.6	1.6

<sup>a</sup> Expresada en % en base seca. Tomada de Inglett, 1970.

maíz opaco, con una alta relación germen / endospermo presenta un 5% menos almidón con relación al maíz normal. Básicamente el almidón se concentra en el endospermo y en menor cantidad en el germen, pericarpio y pedicelo (Wolf et al., 1952a, b, c, d; Watson, 1987).

Los azúcares libres se encuentran presentes en cantidades muy bajas, constituyen solo el 2% del grano en base seca. Los monosacáridos comprenden principalmente D-fructosa y D-glucosa. Los disacáridos y trisacáridos se componen de sacarosa y rafinosa, respectivamente (Inglett, 1970).

### **1.3.2. Proteínas.**

Las proteínas constituyen aproximadamente el 10% del grano integral y se encuentran principalmente en el endospermo del grano de maíz (Inglett, 1970). La distribución proteica general en el grano de maíz es de 5% de albúminas y globulinas, 44% de prolaminas y 28% de glutelinas. La principal proteína en el maíz es una prolamina denominada zeína. En las proteínas del grano de maíz, el primero y segundo aminoácidos limitantes son lisina y triptófano, respectivamente, pero en contraparte su contenido de leucina es alto (Watson, 1987).

### **1.3.3. Lípidos.**

Los lípidos del maíz son principalmente triacilglicéridos, fosfolípidos y glucolípidos, la mayoría de éstos se encuentran en el germen (85%), siendo éste la fuente comercial de aceite comestible (Inglett, 1970). Una pequeña cantidad de fosfolípidos y glucolípidos se encuentran distribuidos en el endospermo del grano.

El aceite comercial de maíz es una buena fuente del ácido graso poli - insaturado esencial, ácido linoléico (18:2). Aunque éste es un componente poli - insaturado, este aceite es muy estable debido a los altos niveles de antioxidantes naturales y muy poco contenido (menos del 1.0%) del ácido graso linolénico (18:3), el

cual es susceptible a sufrir rancidez oxidativa (Inglett, 1970; Weber, 1987).

Además el gránulo de almidón de maíz contiene en el interior las siguientes clases de lípidos: ácidos grasos libres, lisofosfatidil – etanolamina, lisofosfatidil – colina, lisofosfatidil – inositol (Morrison, 1988).

## **2. Productos obtenidos del maíz.**

El grano de maíz es utilizado de diferentes maneras para obtener una gran variedad de productos para la alimentación humana como son aceite, atoles, cereales para desayuno, productos de panadería, botanas, alimentos infantiles, alimentos fortificados, bebidas fermentadas y jarabes edulcorantes, entre otros. También se utiliza para alimentación animal y para la elaboración de productos industriales como papel, adhesivos, fármacos, materiales de construcción, producción de alcohol, explosivos y varios más (Rooney y Serna-Saldívar, 1987). Se estima que más de 800 productos que utiliza la humanidad, son derivados del maíz (Reyes, 1990).

En países desarrollados el principal uso del grano de maíz es para la alimentación animal, alcanzando hasta un 90% del consumo total (Watson, 1987). No obstante, en países en vías de desarrollo, tales como México, la utilización de este grano para consumo humano es de aproximadamente un 63% (INEGI, 1993), y el resto es utilizado para alimentación animal y diversos usos industriales y agrícolas.

En México el maíz es utilizado como materia prima en la industria básica para la elaboración de productos que son utilizados como insumos de la industria complementaria (ej., aditivos de uso en alimentos o soporte para fármacos) o como productos para consumo final (ej., fábricas de harina nixtamalizada y fabricación de tortillas).

## 2.1. Procesos de elaboración de tortillas y de harina instantánea.

PROCESO TRADICIONAL.- La tecnología para la producción de tortilla de maíz es muy antigua y se ha transmitido de generación en generación en el transcurso de los años. El proceso central en la elaboración de tortillas es la nixtamalización (del nahuatl, *nextli*, cal de cenizas y *tamalli*, masa de maíz cocido (Cabrera, 1992)).

En la Figura III.2 se presenta el diagrama de flujo del proceso de elaboración de tortilla. No se sabe con certeza cuando fue que los antiguos mexicanos comenzaron a dar al maíz el tratamiento térmico-alcalino de la nixtamalización, sin embargo la importancia de este tratamiento ha sido ponderada en múltiples estudios (Bressani et al., 1958; Vázquez et al., 1990). Inicialmente la ceniza volcánica fue usada como fuente de álcali para llevar a cabo la nixtamalización. Actualmente, en el ámbito artesanal e industrial se utiliza la cal grado alimenticio, es decir óxido de calcio con menos del 5% de óxido de magnesio (Reyes, 1990).

La nixtamalización, cumple varias funciones: facilita el desprendimiento del pericarpio y pedicelo del grano de maíz, controla la actividad microbiana, mejora el sabor, aroma, vida de anaquel y el valor nutricional de las tortillas entre otras (Paredes-López y Saharópulos-Paredes, 1983; Serna-Saldívar et al., 1988a, b).

La utilización de este procedimiento tradicional está restringido actualmente a partes del medio rural y a pequeñas áreas urbanas, ya que se prefiere utilizar las harinas de masa deshidratada, que tienen la ventaja de dar resultados muy parecidos o de menor calidad, pero con menor trabajo y costo.

PROCESO INDUSTRIAL. En la actualidad, los procesos industriales para la producción de harina instantánea nixtamalizada para la producción de tortillas, utilizan el proceso tradicional con modificaciones tales como: altos volúmenes de producción, tiempos de proceso más cortos, así como también la homogeneidad de los productos

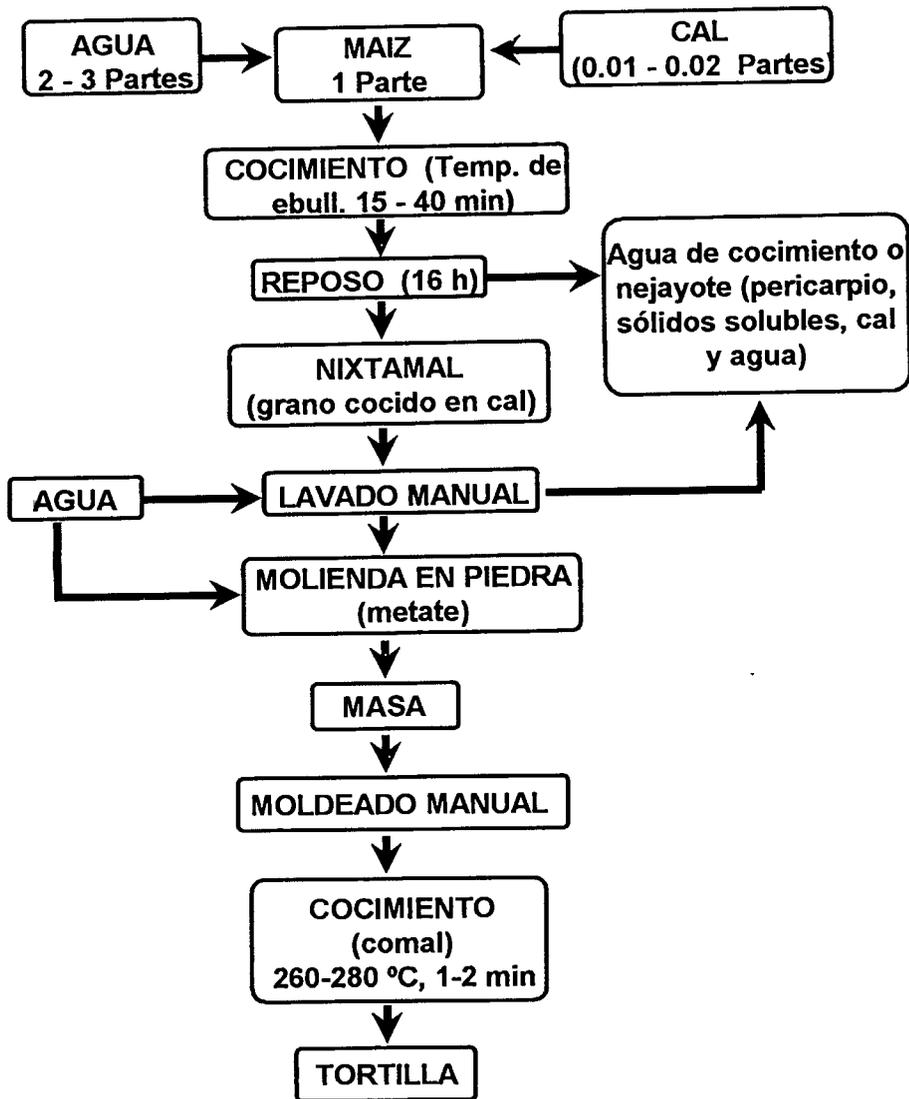


Figura III.2. Diagrama de flujo del proceso tradicional para elaboración de tortillas (Serna-Sladivar et al., 1990).

obtenidos (Serna-Saldívar et al., 1990), es decir, una mejor distribución de tamaño de partícula en las harinas obtenidas. Diferentes métodos son usados para producir harina instantánea. El más común es cocer el grano limpio en una suspensión de cal inyectando vapor en un cocedor rotatorio entre 30 y 60 min, dependiendo del tipo de maíz. El maíz cocido se deja reposar por poco tiempo, es enjuagado para remover parte del pericarpio y molido, utilizando un molino de martillos, especialmente diseñado para este fin, las partículas se secan instantáneamente (secador tipo flash) y son tamizadas, las partículas gruesas son molidas de nueva cuenta y separadas por tamaño, finalmente las partículas se mezclan en la forma apropiada para obtener una distribución de tamaño de partícula adecuado de acuerdo a las características deseadas en la harina, el cual depende del producto que se quiera elaborar (Rooney y Suhendro, 1999). EL secado es una etapa de importancia crítica, debido a que este puede provocar un cocimiento adicional y también que ocurra cierta expansión de las partículas después del proceso de molienda en húmedo.

## **2.2. Harinas instantáneas de maíz nixtamalizado.**

La harina instantánea ha venido a desplazar la producción de masa fresca en la elaboración de tortillas por muchas razones, tales como: ahorro de espacio, tiempo y equipo de procesamiento, mayor vida de anaquel (más de un año en condiciones apropiadas) debido a su bajo contenido de humedad (8% a 10%) y facilidad de manejo, ya que requiere solamente la adición de agua para preparar la masa fresca (Bedolla y Rooney, 1984). La preparación de la masa a partir de este producto requiere menos de 30 min, comparada con las 12 a 24 h que se necesitan para cocer, reposar y moler el maíz para obtener el mismo producto a partir del nixtamal.

## **3. Generalidades del almidón.**

El almidón esta compuesto esencialmente (98 – 99%) de polímeros de D-glucosa. Químicamente, el almidón consiste de dos polímeros de diferente estructura,

amilosa y amilopectina, además de que en algunos almidones se ha identificado un tercer componente denominado material intermedio (Biliaderis, 1991a). La proporción de estos dos polímeros y su organización física dentro de la estructura granular le confieren propiedades fisicoquímicas y funcionales características a los diferentes almidones. Por lo tanto, la estructura del almidón necesita ser considerada a dos niveles distintos: a) a nivel molecular, que se refiere a la cantidad, estructura fina, tamaño y forma de las moléculas y b) a nivel de la estructura supermolecular del gránulo (Biliaderis, 1991a; Bello-Pérez, 1995).

El almidón es el principal carbohidrato de reserva sintetizado por las plantas superiores constituyendo una fuente de energía esencial para muchos organismos, especialmente el hombre (Luallen, 1988; Buléon et al., 1990). El almidón representa una fracción importante en un gran número de productos agrícolas como los cereales (maíz, trigo, arroz, etc.) en donde el contenido de almidón varía del 30% al 80%, en las leguminosas (frijol, chícharo, haba, etc) de un 25% a 50% de almidón y en los tubérculos (papa, yuca, etc) en los que el almidón representa entre un 60% y 90% de la materia seca. La producción mundial total de almidón (nativos y modificados) se estima en 18 millones de toneladas que se extraen principalmente de maíz (10 millones) y papa (3 millones), el resto se obtiene de trigo, arroz, yuca y sorgo. Se estima que aproximadamente el 50% de esta producción se destina a la preparación de alimentos (Guilbot y Mercier, 1985).

Desde el punto de vista nutricional, el almidón es el principal componente de la dieta humana. Actualmente, existe la tendencia a consumir alimentos más saludables reduciendo el consumo de azúcar refinado y grasa, substituyéndolos por productos derivados del almidón. Sin embargo, en nuestra cultura el principal propósito de la utilización del almidón y sus derivados es más importante desde el punto de vista estético que nutricional. La razón de lo anterior es que este biopolímero constituye una excelente materia prima para modificar la textura, apariencia y consistencia de los alimentos; sin embargo, no solo la cantidad de almidón sino de igual manera el tipo de

almidón son críticos para conferir la textura deseada a un alimento en particular (Biliaderis, 1991a).

Además de su aplicación en la industria alimentaria, el almidón también es utilizado para la fabricación de pegamentos, pinturas, como agente floculante, material de "relleno" y como materia prima en la industria farmacéutica. En los últimos años ha cobrado gran interés como materia prima en la producción de edulcorantes de alta intensidad y sustitutos de grasa, ya que este tipo de productos son utilizados en la elaboración de alimentos bajos en calorías (Guzmán-Maldonado, 1992). También en el ámbito ecológico, el almidón ha empezado a jugar un papel importante en la fabricación de plásticos biodegradables (Jane et al., 1992; Doane, 1994). Ellis et al. (1998) realizaron una revisión con respecto a la producción y uso industrial del almidón. En fechas recientes se ha planteado el uso del almidón como un material que puede encapsular sustancias como proteínas, sabores y olores para su posterior liberación dentro de un producto alimenticio o farmacéutico (Zhao y Whistler, 1994a, b; Qi y Xu, 1999).

El almidón está organizado en partículas discretas conocidas como gránulos cuya morfología, composición química y estructura supermolecular (o arreglo relativo de las macromoléculas en el estado sólido) son característicos de cada especie. El tamaño de partícula, incluyendo la distribución de tamaño, es una de las características que más afectan las propiedades funcionales de los gránulos de almidón. Los gránulos de almidón cuando se extraen y se secan tienen la apariencia de un polvo blanco y son insolubles en agua fría. En forma general presentan la composición química siguiente: 0.06 – 0.45% de proteína, 0.05 – 0.8% de lípidos y 0.08 – 0.5% de cenizas y el resto lo forma el almidón propiamente dicho (Guilbot y Mercier, 1985). Todos estos constituyentes juegan, en menor o mayor medida, un papel importante en las propiedades funcionales del almidón.

Los almidones presentan estructuras cristalinas y no cristalinas; la relación

entre estas estructuras es el principal factor que determina las propiedades físicas del almidón. Esas estructuras dan como resultado un patrón típico de difracción de rayos X, dependiendo del tipo de almidón. Los almidones de cereales muestran un patrón de difracción tipo A, los tubérculos un patrón tipo B, algunos almidones de tubérculos y de granos un patrón tipo C y los complejos de amilosa helicoidal el patrón tipo V (Figura III.3). También se ha encontrado que los almidones generan un número variado de patrones de difracción después de haber sufrido alguna modificación física o química (Zobel, 1964, 1988a; Imberty et al., 1991).

Debido al gran uso del almidón y a la necesidad de tener almidones con mejores propiedades funcionales, existen diversos grupos que están interesados en comprender la biosíntesis del gránulo de almidón (Fontaine et al., 1993; Ball, 1995; Koornhuysen Van den et al., 1996), para posteriormente manipular a placer las rutas biosintéticas y obtener almidones modificados genéticamente (Wasserman et al., 1995).

#### **4. Estructura química del almidón.**

##### **4.1. Amilosa.**

La amilosa es un polímero esencialmente lineal, formado por unidades de D-glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ -(1-4) (Figura III.4), sin embargo, se ha demostrado la presencia de cierta cantidad de enlaces  $\alpha$ -(1-6) en esta macromolécula (Hood, 1982). Dichas ramificaciones se encuentran de manera espaciada e infrecuentes, lo que permite observar que la amilosa se comporte como un polímero lineal (Lineback y Rasper, 1988). La molécula de amilosa contiene, en promedio, de 500 a 6000 unidades de D-glucosa repartidas en un número de cadenas que va de 1 a 20. Cada cadena presenta un grado de polimerización (GP) promedio de 500 (siendo GP el número de unidades de glucosa que se encuentran unidas en una cadena)(MacAllister, 1979).

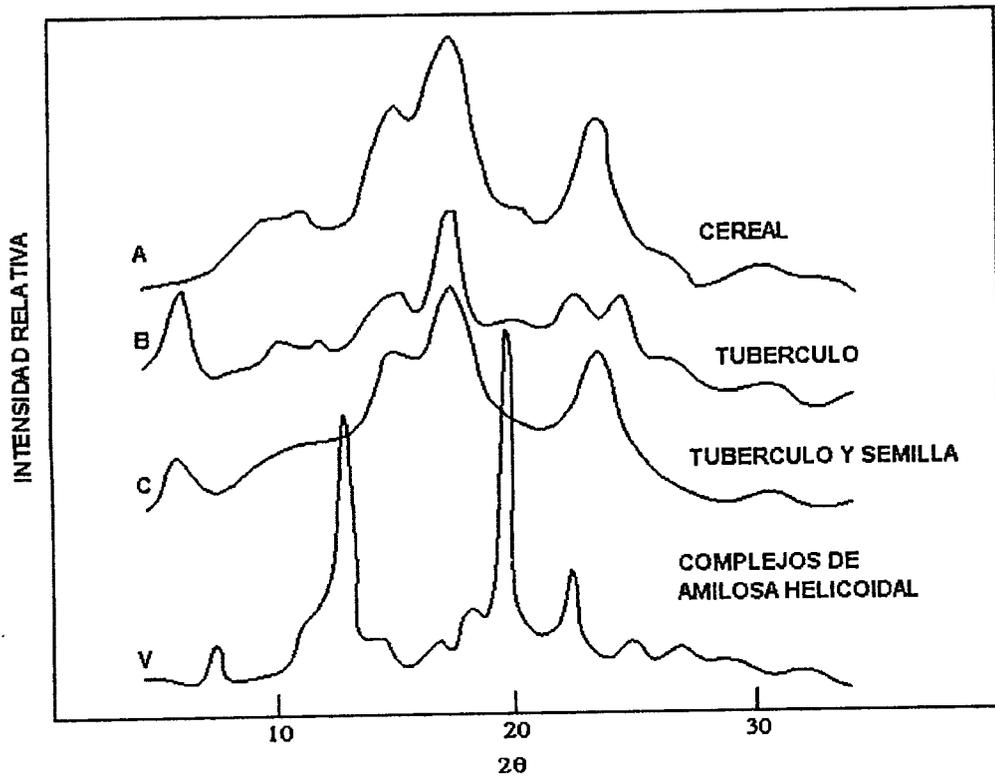


Figura III.3. Patrones de difracción de rayos X para diferentes almidones (Tomado de Zobel, 1988a.)

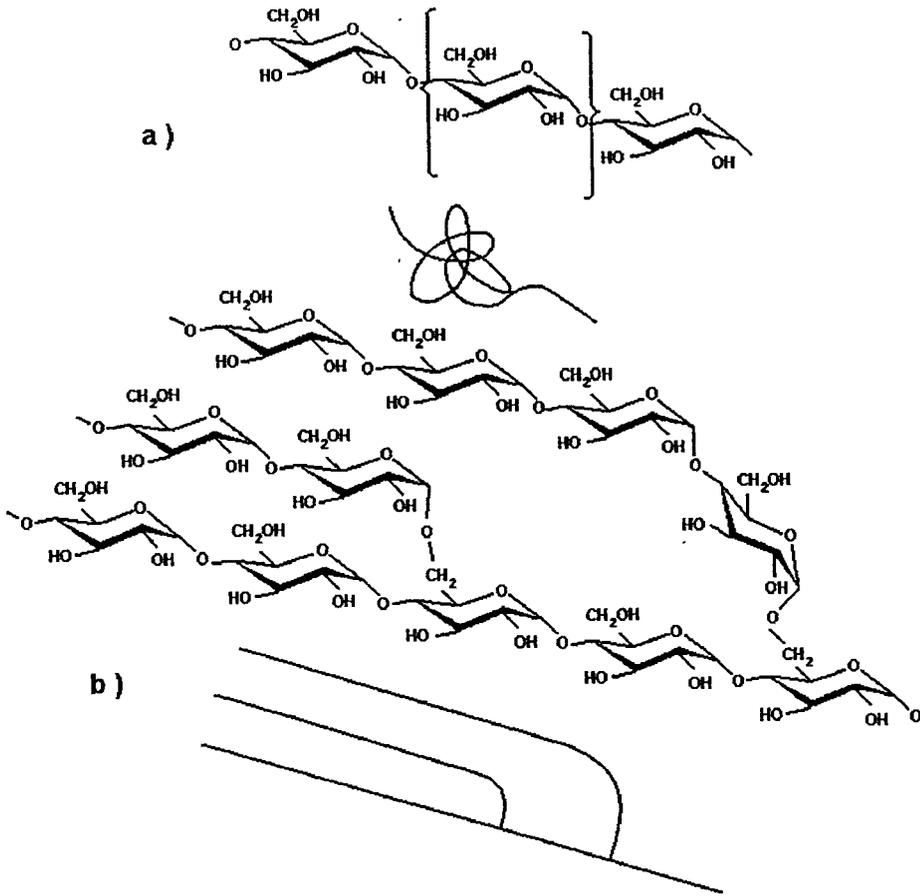


Figura III.4. Componentes del almidón. a). Amilosa, polímero lineal flexible compuesto de D-glucosa ( $\alpha$ -1-4), b). Amilopectina, polímero ramificado compuesto de D-glucosa ( $\alpha$ -1-4) y ( $\alpha$ -1-6) (Tomado de Morris, 1990).

## **4.2. Amilopectina.**

La amilopectina, el componente ramificado del almidón (Figura III.4), está formada por cadenas de residuos  $\alpha$ -D-glucopiranosidos (entre 17 y 23 unidades) unidos principalmente por enlaces  $\alpha$ -(1-4). Presentando entre un 5 – 6% de enlaces  $\alpha$ -(1-6) en los puntos de ramificación (MacAllister, 1979). La enzima  $\beta$ -amilasa ataca los enlaces  $\alpha$ -(1-4) de la amilopectina para producir dextrinas  $\beta$ -límite (que son las cadenas residuales que contienen los puntos de ramificación), un ataque posterior con pululanasa o isoamilasa, que actúan sobre los enlaces  $\alpha$ -(1-6) permite obtener maltosa. El peso molecular de la amilopectina varía entre  $10^6$  y  $10^7$  daltons, estas variaciones dependen del origen botánico del almidón, las condiciones del aislamiento de la amilosa y la amilopectina y del método usado para determinar el peso molecular.

## **5. Cambios en el almidón producidos por tratamientos hidrotérmicos.**

### **5.1. Gelatinización.**

#### **5.1.1. Aspectos básicos.**

En el gránulo de almidón, que está organizado en una estructura en forma de anillos, las moléculas de amilopectina son perpendiculares a los anillos y están dirigidas hacia la superficie exterior del gránulo. Las amilopectinas se alinean a lo largo de un eje imaginario que se extiende desde el hilio del gránulo hasta el exterior del mismo. Las regiones de estas moléculas largas y ramificadas forman cristales. Es la orientación regular de las regiones amorfas y cristalinas las que dan al gránulo su característica de birrefringencia, conocida como la cruz de "malta". Las regiones amorfas o no cristalinas contienen a las moléculas de amilosa y secciones de moléculas de amilopectina que no están en los cristales. Cuando el gránulo de almidón absorbe agua, las áreas amorfas son las primeras en hidratarse y por lo tanto en tener una mayor movilización molecular

dentro del gránulo (Hoseney et al., 1986).

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, pero se hinchan cuando se calientan en un medio acuoso. Inicialmente el hinchamiento es reversible y las propiedades ópticas del gránulo no se pierden (por ejemplo birrefringencia); sin embargo, cuando se alcanza una cierta temperatura el hinchamiento llega a ser irreversible y la estructura del gránulo se altera significativamente (Lai y Kokini, 1991). Este proceso es conocido como gelatinización y la temperatura a la cual ocurre este fenómeno se le conoce como temperatura de gelatinización, la cual en realidad es un intervalo de temperaturas de gelatinización. A medida que el gránulo alcanza esta temperatura éste pierde su birrefringencia, la amilosa difunde hacia el agua y la amilopectina queda dentro del gránulo hasta que finalmente el gránulo pierde su estructura. La amilosa fuera del gránulo forma una malla tridimensional y produce un gel. En general, la solubilización de las moléculas de almidón, el hinchamiento e hidratación y la pérdida de la estructura granular son colectivamente definidos por el término gelatinización (Lund, 1984; Biliaderis, 1991a). Para una población de gránulos la temperatura de gelatinización varía en un intervalo de 5 a 10 °C; esta variación indica que las fracciones del gránulo muestran diferentes comportamientos de gelatinización.

El hinchamiento de los gránulos de almidón que se presenta durante la gelatinización provoca que la viscosidad del medio se incremente. Las estructuras moleculares de los constituyentes del almidón contribuyen al incremento en la viscosidad. Inicialmente, la gelatinización ocurre en las regiones del gránulo más accesibles que son las amorfas. Conforme la temperatura se incrementa los enlaces de hidrógeno intermoleculares que mantienen la integridad estructural de las regiones cristalinas se destruyen. Las moléculas de agua solvatan los grupos hidroxilos liberados y el gránulo continúa hinchándose. Como consecuencia de una severa destrucción de los enlaces de hidrógeno, el gránulo se hidrata completamente y finalmente la malla micelar se separa y difunde dentro del medio acuoso. Después de la destrucción de los gránulos, la viscosidad disminuye. El incremento de la viscosidad en las primeras

etapas del calentamiento se debe principalmente a la liberación de la amilosa. En las últimas etapas, el incremento continuo de la viscosidad se debe a interacciones del material extragranular y al hinchamiento de los gránulos (Biliaderis, 1991a).

Se ha postulado (Biliaderis, 1991b) que son tres los procesos que constituyen el fenómeno de la gelatinización del almidón. Estos procesos son eventos fuera del equilibrio que a su vez resultan en los fenómenos meta - estables de gelatinización, gelación y retrogradación del almidón. Estos eventos son: a) difusión del agua dentro de los gránulos de almidón, b) fusión de la estructura del granulo del almidón caracterizado por una transición hélice - enrollamiento al azar que es facilitada por la hidratación y c) hinchamiento del gránulo como resultado de la desintegración de las zonas cristalinas. Los geles obtenidos una vez que el almidón ha sufrido la gelatinización presentan diversas propiedades las cuales van a depender del contenido de amilosa y amilopectina (Leloup et al., 1990).

Cuando la cantidad de agua es limitada, no ocurre una gelatinización completa en el intervalo usual de temperatura; sin embargo, conforme la temperatura se incrementa eventualmente las regiones cristalinas se funden (Donovan, 1979; Slade y Levine, 1991a).

### **5.1.2. Influencia de solutos.**

La gelatinización del almidón se afecta por la presencia de solutos de bajo peso molecular (no - iónicos y electrolitos), así como también por hidrocoloides hidrofílicos. Es importante el conocer el efecto de los solutos sobre este fenómeno para mejorar el control de los procesos así como la textura y otros atributos de calidad de los alimentos elaborados a base a almidón.

La interacción entre el almidón y los lípidos ha sido estudiada por DSC (Biliaderis et al., 1986; Jovanovich et al., 1992; Eliasson, 1994). La transición térmica de los complejos amilosa - lípidos depende de la longitud de la cadena del ácido graso, la

cabeza polar del lípido, el contenido de humedad y el tipo de almidón. Existen evidencias de la formación de complejos entre la amilopectina y lípidos, estas evidencias incluyen: la disminución de la entalpía de gelatinización y la reducción de la retrogradación del almidón de maíz ceroso en presencia de los lípidos (Eliasson, 1994; Godet et al., 1995). La presencia de complejos amilosa - lípidos en sistemas que contienen almidón, se observa por las transiciones endotérmicas obtenidas por DSC observadas a temperaturas (95 – 130 °C) por encima de la temperatura de fusión de los cristales de almidón. Debido a que las moléculas de amilosa se unen entre sí para formar una red tridimensional durante la formación del gel, estas interacciones se realizan mediante la formación de hélices dobles de amilosa (Biliaderis, 1991a) lo cual se ve interrumpido por la presencia de los lípidos en el sistema, por lo que es generalmente aceptado que los lípidos retrasan la retrogradación del almidón, al evitar la formación de hélices dobles de amilosa (Biliaderis, 1991a; Morrison et al., 1993). La formación de los complejos es termorreversible, como se ha observado por una exoterma en las curvas de enfriamiento obtenidas por DSC. La disminución de la entalpía de gelatinización en presencia de lípidos se ha explicado asumiendo que la formación del complejo amilosa – lípidos es un proceso exotérmico y que ocurre al mismo tiempo que la transición de fusión de los cristales de almidón (gelatinización), es decir cuando son liberadas las moléculas de amilosa del gránulo de almidón (Biliaderis et al., 1986; Jovanovich et al., 1992).

### **5.1.3. Gelación y retrogradación.**

#### **5.1.3.1. Gelación.**

El grado de hinchamiento y desintegración del gránulo al igual que la lixiviación de la amilosa, dependen del tipo y concentración del almidón, temperatura, presencia de otros solutos y la cizalla o agitación aplicada durante el calentamiento (Lineback y Rasper, 1988).

Después de la gelatinización o formación de pastas del almidón, las moléculas de amilosa y amilopectina pueden considerarse como “disueltas”. Durante el enfriamiento la dispersión de almidón gelatinizado adquiere, dependiendo de la concentración, una consistencia de pasta suave o gel (Doublier y Choplin, 1989).

Los geles de almidón están en estado meta - estable, es decir fuera de equilibrio y por tanto sufren una transformación de su estructura al presentarse una agregación de cadenas y recristalización durante el almacenamiento. Los cristales empiezan a formarse y eventualmente se presenta un incremento gradual en la rigidez del gel y una separación de fases entre el polímero y el solvente (sinéresis)(Biliaderis, 1991a).

A concentraciones de almidón por encima de la concentración crítica, definida como la concentración de almidón donde se forma un gel o una pasta débil (usualmente  $\geq 6\%$ ), se forma una malla tridimensional, donde los gránulos hinchados (partículas deformables) llegan a estar embebidos dentro de una matriz continua de moléculas de amilosa entrelazadas (Ring, 1985). Esta mezcla de amilosa y amilopectina se transforma en un gel viscoelástico, en el cual la asociación molecular que involucra principalmente la formación de enlaces de hidrógeno entre las cadenas, es más una unión física tipo atracción electrostática que un entrecruzamiento covalente. Asumiendo tal sistema bifásico, el comportamiento reológico podría depender de la cantidad y características tanto de la fase dispersa (gránulos hinchados ricos en amilopectina) y la fase continua (matriz de amilosa), así como de otras interacciones con el agua. La gelación del almidón proporciona características de calidad importantes en muchos alimentos procesados, incluyendo pan, productos extruidos, sopas, tortillas, etc (Biliaderis, 1991a).

La amilosa y la amilopectina a partir del almidón gelatinizado se reasocian e incrementan la rigidez entre y dentro de los gránulos hinchados. La amilosa usualmente gelifica fuera del gránulo inmediatamente después de la gelatinización. La amilopectina

generalmente permanece dentro del gránulo hinchado, donde lentamente recristaliza. La gelación de amilosa se realiza en pocas horas, mientras que la gelación de amilopectina lleva mucho más tiempo (Waniska y Gómez, 1992). Por esto se considera que la amilosa, debido a su naturaleza lineal, es fundamentalmente responsable de la gelación del almidón (Biliaderis, 1991a) y puede formar geles firmes a concentraciones tan bajas como 1.5% (Lineback y Rasper, 1988).

En contraste con la amilosa, la gelación de la amilopectina es un proceso mucho más lento y requiere mayor concentración del polímero (usualmente  $\geq 15\%$ ); estos geles son turbios, elásticos y pueden ser revertidos por calentamiento a 100 °C. Por otro lado, la cinética de gelación de amilopectina es diferente a la de amilosa y se cree que se forma una red vía recristalización de las cadenas cortas externas de la molécula (Ring et al., 1987). La lenta velocidad de gelación - recristalización de la amilopectina corresponde cinéticamente con los eventos de envejecimiento del pan (Biliaderis, 1991a; Lineback y Rasper, 1988).

#### **5.1.3.2. Retrogradación.**

La retrogradación se manifiesta por la formación de precipitados o geles y afecta a la textura, aceptación y digestibilidad de los alimentos que contienen almidón. Como se ha mostrado, la retrogradación consiste de dos procesos: a) gelación de las moléculas de amilosa lixiviadas del gránulo durante la gelatinización y b) recristalización de la amilopectina (Biliaderis, 1991a).

A pesar que la amilosa y la amilopectina están sujetas a la retrogradación, parece ser que la amilopectina es la molécula que más influye en los cambios que se suscitan en los alimentos que contienen almidón cuando estos se almacenan (Biliaderis y Prokopowich, 1994). La retrogradación es un proceso complejo y depende de muchos factores, como el tipo y concentración de almidón, regímenes de cocimiento y enfriamiento, pH y la presencia de solutos tales como lípidos, sales y azúcares.

Biliaderis y Prokopowich (1994) explicaron que los lípidos monoacilglicéridos retardan la retrogradación, mediante la formación de complejos almidón – lípidos. Este fenómeno se ha empleado de manera general para tratar de alargar la vida de anaquel de los productos elaborados con almidón, mediante la formación de complejos de inclusión entre el almidón y esta clase de lípidos, lo cual tiene como finalidad retardar los procesos de endurecimiento de estos productos. En productos obtenidos a partir de trigo (panificación), los lípidos se utilizan ampliamente para darles una mayor vida de anaquel, o una textura más blanda y son los productos donde mayor investigación se ha realizado (Morrison, 1988; 1995) por otro lado este tipo de información podría ser aplicada en productos elaborados a partir de maíz (ej., tortilla nixtamalizada) para tratar de alargar su vida de anaquel.

Se sabe que los lípidos o surfactantes actúan como modificadores de la textura cuando se adicionan a los alimentos que contienen almidón. Diversos lípidos emulsificantes (por ejemplo monoacilglicéridos saturados), son incorporados en productos de panadería debido a su capacidad para retardar el endurecimiento y la retrogradación del almidón. A pesar de que el mecanismo exacto de estos fenómenos no se conoce, el papel antienviejimiento de los lípidos es generalmente atribuido a la formación de complejos de inclusión entre las moléculas de almidón (principalmente amilosa) y los lípidos. En presencia de monoacilglicéridos, la amilosa sufre un rápido ordenamiento conformacional en solución, el cual promueve una agregación de las hélices en estructuras parcialmente cristalinas (Biliaderis 1991a). Russell (1983) reportó que la adición de glicerol monoesterato durante la elaboración de la masa, llevó a un incremento del tiempo de almacenamiento necesario para que comenzara a observarse la presencia de una endoterma de envejecimiento, esto es una manera indirecta de medir el grado de cristalinidad del pan envejecido. Además, él encontró que la retrogradación se ve afectada por la severidad del cocimiento de la masa. Chang y Liu (1991) estudiaron el efecto de los lípidos sobre la retrogradación de almidones de arroz. Ellos encontraron que los lípidos estudiados tuvieron efectos diferentes sobre la

retrogradación de los geles a las diversas temperaturas de almacenamiento. En general, el aceite de soya produjo un retraso en la retrogradación de los almidones de arroz a todas las temperaturas de almacenamiento probadas. Se sugirió que la insaturación de los lípidos contribuye a disminuir la retrogradación, por lo que el mayor grado de insaturación del aceite de soya en comparación con los otros aceites estudiados, debió causar esta disminución en la retrogradación.

## **6. Clasificación de las transiciones de fase.**

La simple observación de los alrededores revela la existencia de tres estados físicos básicos de la materia: el sólido, el líquido y el gaseoso. Una observación más detallada muestra que algunos materiales pueden existir en distintas formas en el estado sólido, formas cristalinas llamadas polimórficas; por ejemplo, los triacilglicéridos presentan varias formas polimórficas. Esta diversidad de estados físicos de la materia se denominan fases y así se habla de la fase sólida, líquida y gaseosa de una sustancia, además de sus diversos estados sólidos polimórficos (Atkins, 1986). Así, una transición de fase se define como el cambio de estado físico del material a otro diferente por efecto de la temperatura, la presión, la polaridad del solvente o una combinación de estos efectos.

El cambio en la energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) o el potencial químico ( $\mu$ ) en función de una variable de estado como la temperatura, puede ser utilizado para fundamentar la clasificación de las transiciones de fase. Sobre la base de la discontinuidad observada en el orden de la derivada del potencial químico o la energía libre de Gibbs que ocurre en las funciones de estado a la temperatura de transición en particular, las transiciones de fase se dividen en transiciones de primer orden, segundo orden y de orden superior (Ehrenfest, 1933).

Haciendo el análisis inicialmente para las transiciones de fase de primer orden tenemos lo siguiente: en el equilibrio, el potencial químico de dos fases es igual ( $\Delta H =$

0). Sin embargo, un cambio en  $\mu$  o en  $G$  el cual ocurre a la temperatura de transición, produce una alteración en el equilibrio del sistema en el sentido del estado físico que posea el menor valor de  $\mu$  o de  $G$ , resultando en una minimización de la energía libre de Gibbs ( $\Delta G < 0$ ). Sobre esta base y de acuerdo a la clasificación de las transiciones de fase propuesta por Ehrenfest (1933), las transiciones de primer orden se caracterizan por presentar una discontinuidad en el comportamiento de  $\mu$  o de  $\Delta G$  al aplicar la primera derivada en función de la temperatura.

La mayoría de las transiciones de fase ocurren a presión constante. La ecuación [3.1] define la relación entre  $\Delta G$ , el cambio de entalpía ( $\Delta H$ ), el cambio de entropía ( $\Delta S$ ) y la temperatura ( $T$ ) a presión constante. De la ecuación [3.1] se puede observar lo siguiente, un sistema con dos fases a la temperatura de transición en el equilibrio, o sea  $\Delta G = 0$ , por ejemplo, una fase sólida y una líquida o una fase líquida y una gaseosa, tienen diferentes valores de entalpía ( $\Delta H \neq 0$ ) y por lo tanto diferentes valores de entropía ( $\Delta S \neq 0$ ). Más aun, se puede demostrar que si dos fases tienen diferentes valores de entalpía, estas tienen diferentes volúmenes. Por lo tanto, cambios tales como  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  y en el volumen ( $\Delta V$ ), son típicos de las transiciones de primer orden (Roos, 1995a). El valor de  $G$  para las dos fases en la temperatura de transición de primer orden es la misma ( $\Delta G = 0$ ). Por lo tanto, las funciones de estado como la entalpía, la entropía y el volumen muestran un cambio en sus valores en la temperatura de transición de fase. Por otro lado, la capacidad calorífica ( $C_p$ ) se obtiene de la segunda derivada de  $\Delta G$  y el  $C_p$  tiene un valor infinito en la temperatura de transición de fase de primer orden (Atkins, 1986; Roos, 1995a).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad [3.1]$$

Los procesos en los cuales se puede observar lo anterior son las transiciones de fase que se realizan entre los tres estados físicos básicos, es decir, entre los estados sólido, líquido y gaseoso, las cuales son transiciones de primer orden. Estas

transiciones incluyen los procesos de fusión y cristalización, las cuales se realizan entre el estado sólido y el líquido. Igualmente, se incluyen la vaporización y la condensación, las cuales son transiciones entre el estado líquido y el gaseoso; y la sublimación y la ablación, las cuales representan cambios de fase entre el estado sólido y el gaseoso sin la presencia del estado líquido (Roos, 1995a).

Siguiendo la clasificación de Ehrenfest (1933), tenemos que las transiciones de segundo orden son aquellas en las cuales la segunda derivada de  $\mu$  o  $\Delta G$  presentan una discontinuidad a la temperatura de transición. En las transiciones de segundo orden, las variables termodinámicas de  $H$ ,  $S$ , y  $V$  de las dos fases son iguales en la temperatura de la transición, es decir  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  y  $\Delta V$  tienen valores de cero. Debido a esto una transición de segundo orden no tiene calor latente del cambio de fase, pero hay una discontinuidad en el valor del  $C_p$ . El  $C_p$  es diferente en las dos fases, pero no se vuelve infinito a la temperatura de transición de fase, fenómeno característico en las transiciones de primer orden (Roos, 1995a).

Las ecuaciones [3.2], [3.3] y [3.4] definen las diferentes derivadas de segundo orden de  $G$ , donde  $\alpha$  es el coeficiente de expansión térmica y  $\beta$  es la compresibilidad.

$$\frac{\partial^2 G}{\partial T^2} = -\frac{C_p}{T} \quad [3.2]$$

Así, la ecuación [3.2] muestra que a presión constante una transición de segundo orden da por resultado una discontinuidad en el valor de  $C_p$ . Las ecuaciones [3.3] y [3.4] indican que en las transiciones de fase de segundo orden existe una discontinuidad en el coeficiente de expansión térmica y en la compresibilidad. Por lo tanto, los cambios determinados experimentalmente en el  $C_p$  y en  $\alpha$  se pueden usar para localizar las temperaturas de transición de fase de segundo orden (Roos, 1995a).

$$\frac{\partial^2 G}{\partial p \partial T} = V\alpha \quad [3.3]$$

$$\frac{\partial^2 G}{\partial p^2} = V\beta \quad [3.4]$$

De esta manera, podemos decir que una transición de primer orden se diferencia de una de segundo orden porque en la primera se presenta un cambio del estado físico de agregación del material, por ejemplo, un cambio de sólido a líquido. En contraste, en la transición de segundo orden se presentan cambios de fase representados principalmente por un cambio del estado amorfo tipo vítreo, a un estado amorfo líquido tipo plástico sin llegar a producirse la fusión del material, definiéndose como temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) la temperatura donde se presenta dicho cambio. Adicionalmente, una transición de segundo orden incluye también los cambios polimórficos de las formas cristalinas característicos de materiales tales como los lípidos.

## **7. Transiciones de fase relevantes en sistemas alimentarios.**

Los cambios en el estado físico de los componentes de los alimentos incluyen transiciones de fase de primer orden tales como la cristalización y la fusión y cambios de fase de segundo orden en los que ocurren la transición vítrea de un material amorfo y las transformaciones polimórficas. La estabilidad química, física, bioquímica y microbiológica del alimento están relacionadas a las transiciones de primer y segundo orden, y esta última con la movilidad molecular en las diferentes fases del estado amorfo (Roos, 1995a; Simatos et al., 1995). A su vez, el estado físico y la movilidad molecular se definen por la composición de los alimentos, principalmente el agua y el tiempo de relajación ( $\tau_0$ ) del sistema sólido. A este nivel es importante subrayar la constante relación que las investigaciones recientes han establecido entre la limitada movilidad molecular observada de los componentes del alimento a temperaturas menores a  $T_g$  y la estabilidad de los mismos. Igualmente, se asocia el decremento en la estabilidad del alimento con el incremento en la movilidad molecular observado a

temperaturas mayores a  $T_g$  (Roos, 1995a; Chinachoti, 1993; Simatos et al., 1995).

A los compuestos sólidos de los alimentos se les puede clasificar de acuerdo a su solubilidad como solubles en lípidos y solubles en agua. De su perfil de solubilidad dependerá su comportamiento de transición de fase, ya que éste difiere entre los dos grupos. Así, el estado físico de los lípidos en los alimentos se relaciona predominantemente a las transiciones de primer orden, cristalización / fusión, así como a las transiciones de segundo orden asociadas a cambios polimórficos en el estado cristalino (Fennema, 1985; Roos, 1995a). Por otro lado, los carbohidratos y las proteínas, en general altamente solubles en agua, pueden existir en el alimento en estado amorfo no cristalino, en estado cristalino o en solución (Roos y Karel, 1991a, b; Roos, 1995a). Sin embargo, en este caso en particular el estado físico de los sólidos solubles en agua, así como las temperaturas de transición de fase de estos, se ven afectadas significativamente por el contenido de agua del alimento (Levine y Slade, 1992; Roos y Karel, 1991a, b; Slade y Levine, 1991a, b; Roos, 1995a). Además, a medida que el contenido de agua se incrementa, la movilidad molecular de los sólidos solubles en agua también se incrementa (Lillford, 1988; Slade y Levine, 1991a; Roos, 1995a; Simatos et al., 1995), lo cual resulta en una disminución de la viscosidad y en una más baja estabilidad del alimento. El estado amorfo es típico de los componentes alimenticios solubles en agua que poseen bajos contenidos de humedad y en alimentos congelados (White y Cakebread, 1966; Levine y Slade, 1986; Slade y Levine, 1991a; Roos, 1995a).

### **7.1. Cristalización y fusión.**

La cristalización y la fusión son transiciones de fase que ocurren entre el estado sólido y el líquido. El calor latente liberado durante el proceso de cristalización es igual a la cantidad de calor requerido para el proceso de fusión. La cristalización puede ocurrir a partir de un fundido del material a cristalizar, o bien a partir de una solución de este material. La cristalización a partir de un fundido se lleva a cabo a

temperaturas,  $T$ , por debajo de su temperatura de fusión de equilibrio,  $T_m$ , conociéndose a ese gradiente de temperatura,  $T_m - T$ , como súper - enfriamiento. En los alimentos con organización amorfa con bajos contenidos de agua, la cristalización de los sólidos ocurre a partir de un fundido a una temperatura por encima de  $T_g$  pero por debajo de  $T_m$  (Roos, 1995a).

La cristalización es un proceso que lleva al desarrollo de una estructura sólida termodinámicamente estable en por lo menos tres etapas: la nucleación, la propagación o el crecimiento del cristal y la maduración o el perfeccionamiento del cristal (Levine y Slade, 1990; Slade y Levine, 1991a, Roos, 1995a). Para que la nucleación ocurra debe existir un estado de súper - saturación o súper - enfriamiento, el cual es la fuerza termodinámica que impulsa a que las moléculas en solución o las moléculas de un fundido formen embriones o agregados moleculares, que posteriormente se desarrollan en núcleos y después en cristales (Hartel, 1992).

La forma inicial de organización cristalina en el estado sólido recibe el nombre de núcleo (Özilgen y Reid, 1993). El efecto que tiene la fuerza termodinámica de súper - saturación o súper - enfriamiento sobre la solución o el fundido se puede expresar de la siguiente manera: una solución de concentración ( $C$ ), mayor a la concentración de saturación ( $C_s$ ), o un fundido a una temperatura  $T$ , por debajo de  $T_m$ , disminuye su energía libre por medio de la nucleación (Hartel, 1992); esto es porque, bajo estas condiciones, el estado sólido posee una menor energía libre que el estado líquido. La nucleación se considera como el resultado de la adición de monómeros a los agregados moleculares de menor magnitud hasta alcanzar un tamaño llamado crítico, el cual está definido como el radio mínimo que debe tener un núcleo para que un grupo de moléculas pueda desarrollarse en un cristal (Hartel, 1992). Cuando se alcanza el tamaño crítico, los núcleos tienen una gran probabilidad de transformarse en un cristal; sin embargo, si los núcleos grandes repentinamente se disocian en sus monómeros, el sistema se puede considerar estable y la cristalización no ocurre (Boistelle, 1988).

Una vez formado el núcleo, el crecimiento del cristal puede ocurrir por una serie de etapas en las cuales las moléculas de las especies involucradas en el proceso de cristalización se transforman de la fase líquida a la fase sólida cristalina. Estas etapas pueden incluir:

- 1). La difusión de las moléculas de la solución general, es decir el “bulk” de la solución hacia la superficie del cristal.
- 2). La remoción del agua de hidratación o su disociación de las moléculas complejas.
- 3). La difusión de las especies no cristalizables lejos de la superficie del cristal.
- 4). La orientación de las moléculas de las especies cristalizando en la forma apropiada para su incorporación en el látice del cristal.
- 5). La remoción del calor latente de formación liberado durante el proceso de cristalización.

Cualquiera de estas etapas o una combinación de ellas podría afectar la velocidad total de crecimiento en cualquier situación particular (Hartel, 1992).

La cristalización es una transición de fase que debe ser tomada en cuenta para la conservación de los alimentos por medio del proceso de congelación y además en el proceso de manufactura de azúcares, sales, grasas y alimentos untables. Varios materiales también cristalizan durante las etapas de procesamiento y de almacenamiento de los alimentos, como es el caso del proceso de retrogradación del almidón durante el almacenamiento de productos de panificación. La cristalización o la falta de un control adecuado de su cinética puede ser un fenómeno deseado (ej, desarrollo de mantequillas) o peligroso (ej, cristalización de la alfa lactosa en helados)

dependiendo del producto y de sus atributos de calidad (Roos, 1995a).

## 7.2. Transición vítrea.

Es bien conocido en la ciencia de los polímeros que la fusión de un polímero cristalino produce la formación de un fundido, el cual puede ser súper - enfriado a un estado plástico con características viscoelásticas, o bien a un estado vítreo sólido. El estado físico de los materiales amorfos, plástico o vítreo, define sus propiedades mecánicas; por ejemplo, estas propiedades en los materiales vítreos se parecen a aquellas de los materiales sólidos cristalinos, sin embargo las moléculas no tienen un orden definido, tal como los sólidos en el estado cristalino el cual es un sistema en equilibrio (Sperling, 1986; Roos, 1995a). La transición de fase que ocurre entre el estado vítreo al plástico, conocida como la transición vítrea (Slade y Levine, 1991a; Levine y Slade, 1992; Roos, 1995a; Simatos et al., 1995), determina un cambio dramático en las propiedades mecánicas del sistema; por ejemplo, una mayor difusión molecular asociada a la drástica disminución de la viscosidad del medio. En el caso de los alimentos, las propiedades físicas de sus componentes en estado vítreo, ocasionan una alta viscosidad en el medio y por lo tanto una baja difusión molecular, produciendo estabilidad fisicoquímica, bioquímica y microbiológica en los alimentos a temperaturas menores a  $T_g$ .

Una descripción más detallada de las características de un sistema amorfo y los eventos que ocurren alrededor de  $T_g$  se hace a continuación. Una característica común de los materiales amorfos es que contienen excesos de  $G$  y de  $S$  en comparación a sus contrapartes cristalinas a las mismas condiciones de temperatura y presión. A bajas temperaturas los materiales amorfos son duros y frágiles, es decir están en estado vítreo (Sperling, 1986). Un incremento en la temperatura puede causar la transformación de tales materiales a un estado plástico, menos viscoso que el estado anterior, este proceso ocurre en  $T_g$ . El valor de  $T_g$  de los polímeros, se define como la temperatura, en la cual, el material se ablanda debido al inicio del movimiento molecular

coordinado de amplio intervalo (Sperling, 1986). Sin embargo, es importante notar que el comportamiento físico de los alimentos puede diferir substancialmente del de los polímeros sintéticos (Roos, 1995a), sistema donde se han investigado más estos procesos.

### **7.3. Transiciones de fase de los componentes del almidón.**

Las transiciones de fase de los componentes individuales del alimento alteran sus propiedades físicas en general. Esto es, su estado físico está gobernado por las transiciones de fase de sus principales componentes, carbohidratos, lípidos, proteínas y agua (Roos, 1995a) y de la interacción entre estos en la matriz del alimento. El comportamiento de las transiciones de fase de los alimentos sólidos tiene similitudes con el de los polímeros sintéticos.

Varias transiciones de fase de primero y segundo orden ocurren en los alimentos durante su procesamiento, almacenamiento y distribución. Sin embargo, al considerar que los alimentos son sistemas multicomponentes, el establecer la relación entre las propiedades fisicoquímicas de sus componentes y el estado físico del alimento es bastante complicado. Por ejemplo, azúcares, grasas y agua, en su forma químicamente pura, cristalizan por debajo de su valor de  $T_m$  (Fennema, 1985); sin embargo, dado el gran número de compuestos químicos dentro de los alimentos, los azúcares, grasas y agua no siempre desarrollan tales estados de equilibrio altamente ordenados a  $T < T_m$  (Moreyra y Peleg, 1981; Hartel, 1992; Roos, 1995a). Además, el estado físico de los alimentos puede ser difícil de detectar y es extremadamente sensible a variaciones en la temperatura, el tiempo y el contenido de agua. En los alimentos el agua es el solvente más común que afecta el estado físico y las propiedades fisicoquímicas de los otros componentes del alimento (Slade y Levine, 1991a; Levine y Slade, 1992; Roos, 1995a).

Los carbohidratos pueden existir como compuestos en estado cristalino, semi –

cristalino o totalmente amorfo. Sin embargo, los azúcares de bajo peso molecular, químicamente puros pueden existir en el estado cristalino, pero la formación de estas estructuras de equilibrio en los alimentos puede estar restringida, debido a las interacciones con el resto de los componentes de los alimentos que no cristalizan (Moreyra y Peleg, 1981). Esto es el resultado de que los componentes que no cristalizan afecten la fuerza termodinámica (súper - saturación o súper - enfriamiento) necesaria para que ocurra el proceso de cristalización, la velocidad de transferencia de calor y de masa, o afectar el mecanismo específico de cristalización en una manera tal que la cinética de cristalización se modifica dramáticamente (Hartel, 1992; Roos, 1995a). Las transiciones de fase de los azúcares de bajo peso molecular, también como las de los carbohidratos en forma polimérica, son útiles para establecer las propiedades de los alimentos, ya que a través de los fenómenos de cristalización, fusión, vitrificación o plastificación afectan las propiedades reológicas del sistema alimenticio.

Las transiciones de fase de primer orden de los carbohidratos en los alimentos incluyen la fusión y la cristalización. La gelatinización del almidón no es otra cosa que la fusión del almidón en estado semi – cristalino y la retrogradación la cristalización del almidón previamente fundido. De particular importancia en la estabilidad de los alimentos ricos en carbohidratos, principalmente almidón con bajo contenido de agua (ej., cereales extruidos, productos de panificación, tortillas, etc), son las transiciones entre el estado meta – estable (estados vítreo y plástico) y el estado de equilibrio (líquido o cristalino) con los subsecuentes cambios fisicoquímicos observados (ej., elasticidad; Roos y Karel, 1991a; Roos, 1995a).

Como se menciono anteriormente, el almidón es el carbohidrato más común en los alimentos. Este está compuesto principalmente de amilosa y amilopectina, dos homopolisacáridos de D-glucosa. La amilosa y la amilopectina, pueden existir en un estado cristalino, parcialmente cristalino o amorfo (vítreo) una vez que son purificadas. En los gránulos de almidón nativo la amilosa existe en un estado amorfo, mientras que la amilopectina exhibe una cristalinidad parcial con zonas de limitada organización

molecular (ej., zonas amorfas, donde están localizados los enlaces glucosídicos  $\alpha$ -1-6). De acuerdo a Whittam et al. (1991) los valores de  $T_m$  y  $T_g$  son los parámetros más importantes para caracterizar las propiedades físicas de los polímeros del almidón en un amplio intervalo de temperatura.

La fusión de los gránulos de almidón nativo se observa cuando estos son calentados en presencia de agua e incluyen dos procesos de fusión; primero, la fusión de las zonas no organizadas de las moléculas que componen el almidón y segundo, la fusión de las regiones cristalinas del mismo (Hikone, 1994). Estas transiciones ocurren en un intervalo de temperaturas que es referido como la temperatura de gelatinización del almidón (Figura III.8). La gelatinización del almidón ocurre en los procesos de panificación, nixtamalización, extrusión y en la elaboración de salsas, donde el almidón se utiliza para proporcionar cuerpo / textura al alimento (Levine y Slade, 1992; Roos, 1995a; Slade y Levine, 1994; 1995).

Donovan (1979) reportó la presencia de dos transiciones durante el proceso de gelatinización del almidón de papa a diferentes contenidos de humedad (Figura III.5). A contenidos de humedad mayores del 70% (% p/p de agua) se observó una transición,  $M_1$ , a una temperatura de 66 °C mientras que a contenidos de humedad intermedia (del 45 al 70%) se observó la presencia de dos transiciones en los termogramas, una aproximadamente a 66 °C y la segunda,  $M_2$ , a temperaturas de transición que se incrementaban a medida que el contenido de humedad se reducía (Figura III.5). Por otro lado, a bajos contenidos de humedad (menores del 45%) se observó solamente la transición  $M_2$ . Dentro del intervalo de contenido de agua donde se observó la endoterma  $M_1$  (Mayores al 45%), su localización no fue afectada por el contenido de agua; este comportamiento no se presentó para la temperatura en la cual se obtuvo el pico  $M_2$ , el cual si fue afectado por la concentración de agua en el almidón (el valor de la temperatura para la localización de  $M_2$  varió en un intervalo de aproximadamente 50

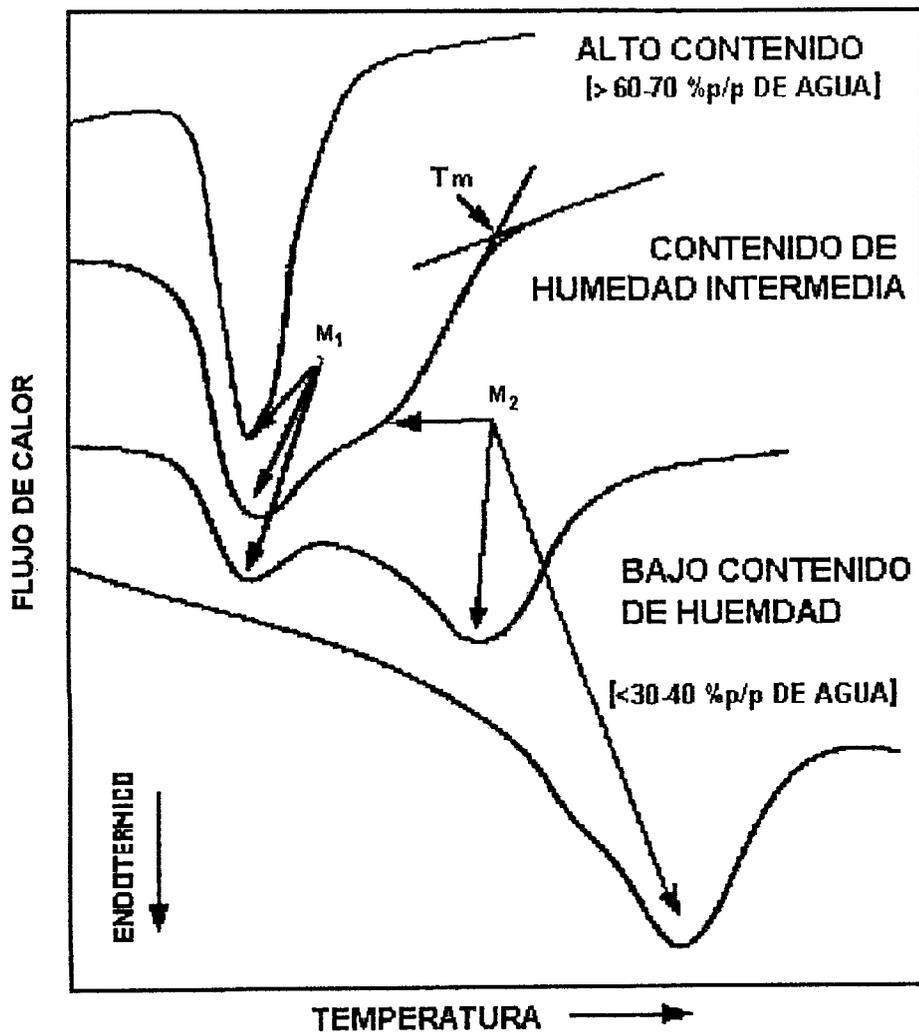


Figura III.5. Representación esquemática de termogramas del almidón de papa a diferentes contenidos de agua obtenidos por calorimetría diferencial de barrido. A altos contenidos de agua el calentamiento mostró una endoterma simple,  $M_1$ . A contenidos de agua intermedios se observó una segunda endoterma,  $M_2$ , la cual se puede observar como un hombro de la endoterma  $M_1$  o como un pico endotérmico separado. A bajos contenidos de agua solamente se obtuvo el pico  $M_2$ . La temperatura de fusión,  $T_m$ , se incrementó a medida que se disminuyó el contenido de agua (Tomado de Donovan, 1979).

°C). El autor interpretó a la endoterma  $M_1$  como la fusión de los cristales pequeños del gránulo de almidón facilitados por el exceso de agua y la endoterma  $M_2$  como la fusión de los mismos cristales a diferentes temperaturas debido a la falta de agua que hidratara las regiones amorfas del gránulo de almidón (Donovan, 1979). En otro estudio llevado a cabo por Biliaderis et al. (1986), el cual fue realizado en almidones de ocho variedades distintas de arroz a diferentes contenidos de humedad, los resultados obtenidos para las muestras de almidones cerosos (bajo contenido de amilosa) fueron similares a los resultados obtenidos para el almidón de papa reportados por Donovan (1979) (Figura III.6). El comportamiento de las endotermas obtenidas con los almidones cerosos en este estudio fue atribuido al mismo fenómeno descrito por Donovan (1979), es decir a la fusión e hidratación de los gránulos de almidón. Al analizar, por otro lado, los termogramas de los almidones de tipo normal o no cerosos se observó además de las endotermas anteriormente descritas, la presencia de un tercer pico endotérmico a mayor temperatura ( $T_{p3}$  en Figura III.6); dicha transición fue atribuida al proceso de disociación de un complejo formado entre la amilosa y los diferentes lípidos (principalmente lisofosfolípidos y ácidos grasos libres) de la harina de arroz (Biliaderis et al., 1986). Con respecto a las entalpías aparentes de gelatinización, las cuales estuvieron comprendidas en el intervalo de 8.6 a 17.1 J/g (Tabla III.2), los autores concluyeron dos cosas; primero que los almidones cerosos eran más resistentes a la gelatinización y por tanto tenían los más altos requerimientos energéticos para lograr la desorganización de su estructura. En segundo lugar, se observó que los almidones normales tenían valores de entalpías de gelatinización menores que los almidones cerosos que poseían valores similares de temperatura de gelatinización (Tabla III.2). Este punto fue explicado al considerar que la formación del complejo amilosa – lípido, el cual fue un proceso exotérmico, se realizó simultánea e inmediatamente después del comienzo del evento térmico de fusión (evento endotérmico) de los gránulos de almidón (Biliaderis et al., 1986); esta explicación implicaba que el perfil térmico obtenido

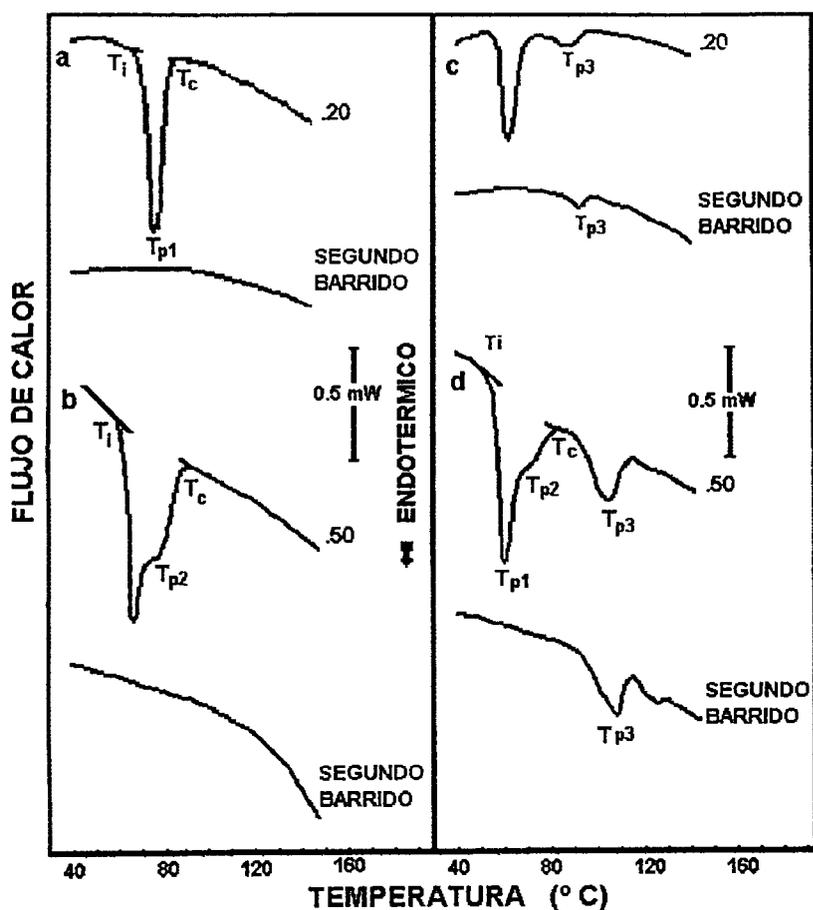


Figura III.6. Termogramas obtenidos por DSC, de almidones de arroz a una velocidad de barrido de 10 °C/min. Los números en el gráfico designan la fracción en peso del almidón en relación al contenido de agua. Identificación de las muestras y el peso de almidón (mg): a) RD 4, 2.06 (ceroso); b) IR 29, 4.77 (ceroso); c) IR 8, 1.88 (no ceroso); d) IR 480, 4.98 (no ceroso). El segundo barrido fue realizado para identificar el complejo amilosa – lípidos formado durante el calentamiento del almidón (Tomado de Biliaderis et al., 1986).

Tabla III.2. Temperaturas y entalpías de transición de fase para ocho variedades de almidón de arroz

MUESTRA	TEMPERATURA DE TRANSICIÓN (°C)					ENTALPÍA DE TRANSICIÓN J/g	
	T <sub>i</sub>	T <sub>p1</sub>	T <sub>p2</sub>	T <sub>c</sub>	T <sub>p3</sub>	ALMIDÓN	COMPLEJO ALMIDÓN-LÍPIDO
IR 29 <sup>a</sup>	60 <sup>c</sup> (60) <sup>d</sup>	68.9 (67.8)	(77)	78 (93)		13.8 ± 0.6 (15.5)	
RD 4 <sup>a</sup>	65 (63)	77.6 (77.0)	(87)	86 (100)		17.1 ± 0.3 (18.7)	
IR 24 <sup>b</sup>	60 (61)	68.7 (68.9)	(79)	77 (92)	93 (109)	11.8 ± 0.1 (13.2)	2.2 ± 0.2 (2.2)
IR 2071 <sup>b</sup>	67 (68)	79.4 (81.6)	(88)	87 (98)	94 (108)	15.3 ± 0.3 (16.4)	0.7 ± 0.3 (1.7)
IR 480 <sup>b</sup>	54 (53)	61.5 (61.9)	(74)	70 (87)	91 (108)	8.6 ± 0.1 (11.5)	2.8 ± 0.1 (3.2)
C4 63G <sup>b</sup>	68 (67)	76.3 (75.8)	(86)	85 (97)	94 (109)	13.6 ± 0.3 (15.2)	1.3 ± 0.1 (2.5)
IR 8 <sup>b</sup>	56 (55)	64.9 (64.7)	(78)	77 (91)	92 (107)	10.2 ± 0.4 (11.7)	2.1 ± 0.2 (2.7)
IR 5 <sup>b</sup>	66 (61)	73.1 (73.1)	(83)	82 (95)	94 (107)	11.6 ± 0.3 (13.3)	1.4 ± 0.1 (1.8)

<sup>a</sup> almidón ceroso

<sup>b</sup> almidón normal

<sup>c</sup> determinados al 80% (p/p) de agua

<sup>d</sup> determinados al 50% de agua.

T<sub>i</sub>, Temperatura en el inicio de la transición endotérmica; T<sub>p1</sub>, Temperatura máxima de la primer endoterma observada; T<sub>p2</sub>, Temperatura máxima de la segunda endoterma observada; T<sub>c</sub>, Temperatura del final de la segunda endoterma y T<sub>p3</sub>, Temperatura de la tercer endoterma asignada al proceso de disociación del complejo amilosa – lípido (Tomado de Biliaderis et al., 1986)

representara el efecto térmico aditivo de los dos eventos térmicos (Biliaderis et al., 1986).

De los almidones de las ocho variedades de arroz examinados por Biliaderis et al. (1986) solamente en la variedad IR-2071 se observó evidencia de una transición de segundo orden (Figura III.7). La cual se detectó mediante la presencia de un cambio en el  $C_p$  antes de que el pico principal de la endoterma de fusión se presentara; esto se observó para mezclas de almidón – agua en distintas proporciones y fue posible detectar esta variación, ya que al obtener la primera derivada del flujo de calor con respecto a la temperatura se obtuvo el cambio en el  $C_p$  (Biliaderis et al., 1986). Estos mismos autores observaron que las temperaturas correspondientes a las transiciones de primer y segundo orden observadas en el almidón de arroz IR 2071, se incrementaban con la disminución del contenido de humedad y convergían en una región de alta temperatura en el intervalo de 240 °– 250 °C, el cual correspondía a la temperatura de transición de primer orden de la muestra de almidón de arroz anhidro utilizado en el experimento (Biliaderis et al., 1986) (Figura III.8). De manera particular se observó un incremento constante de los valores de  $T_g$  (Figura III.8) a contenidos de agua menores del 30% (% p/p). Se detectó también que por encima de este nivel de humedad, el valor de  $T_g$  se mantuvo constante a 68 °C; esta observación fue interpretada por los autores como el proceso de ablandamiento o la concentración de agua a la cual se obtenía el máximo efecto plastificante sobre las partes amorfas de los gránulos de almidón, ya que esto se realizaba únicamente después de exceder este valor de temperatura y concentración de agua (mayor al 30%; Biliaderis et al., 1986).

Desde una perspectiva general, las transiciones de fase que están asociadas con la gelatinización y la pérdida de la estructura del almidón granular, definen y explican las diferencias en las propiedades físicas de los almidones y su comportamiento en los productos alimenticios. La importancia principal del comportamiento del almidón, es debido a que en la mayoría de los alimentos que lo

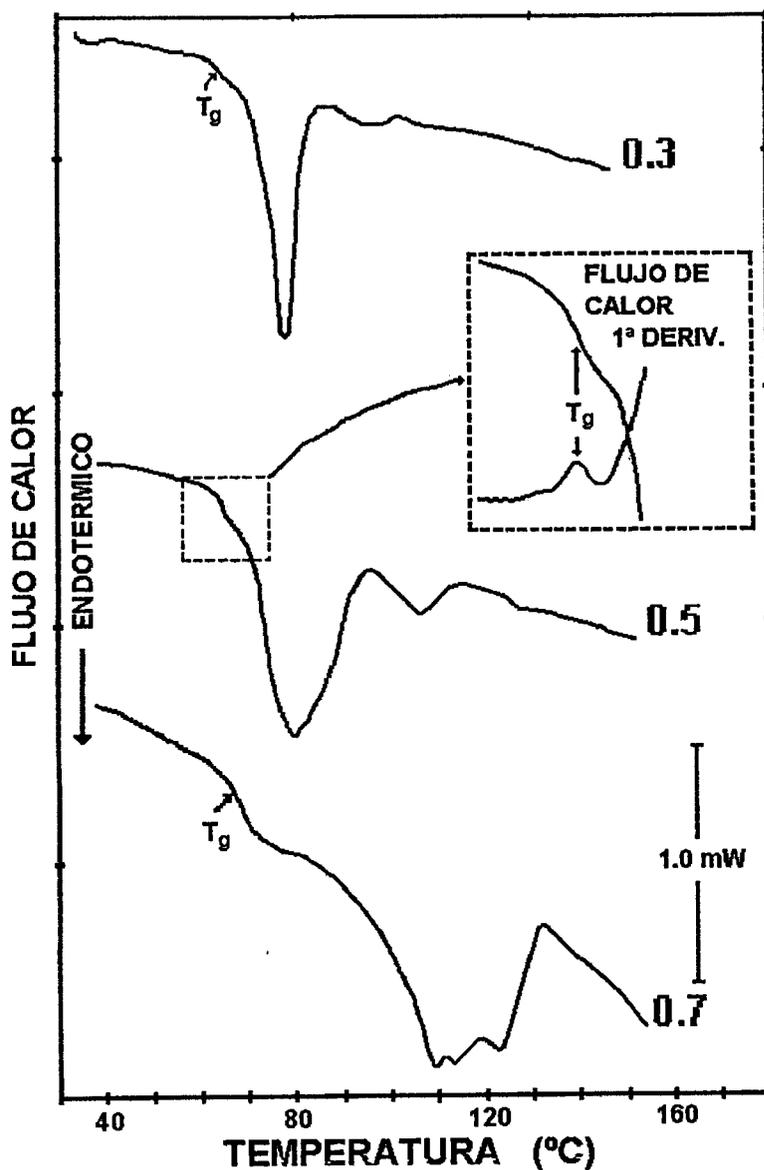


Figura III.7. Termogramas obtenido por DSC del almidón de la variedad IR 2071 de arroz a diferentes contenidos de humedad. Velocidad de calentamiento 10 °C/min. El número designa la fracción en peso del almidón respecto al contenido de agua. El peso del almidón en orden decreciente de las muestras analizadas fue de 3.06, 5.35 y 7.54 (Tomado de Biliaderis et al., 1986).

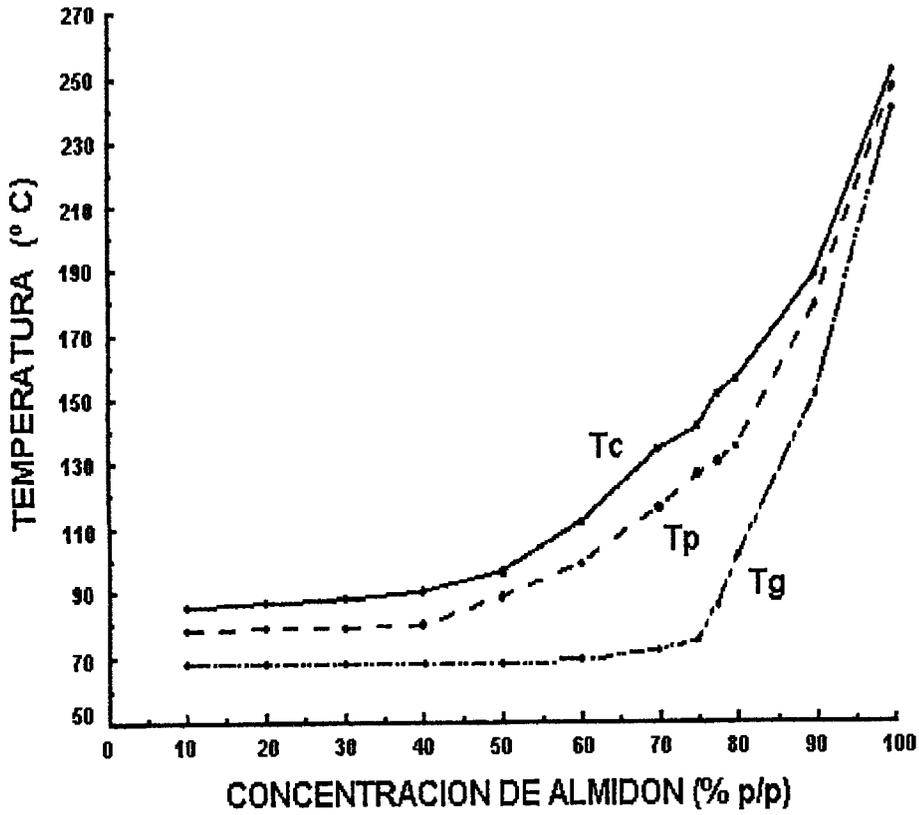


Figura III.8. Temperatura de transición características obtenidas por medio de DSC ( $T_c$ ,  $T_{p2}$  y  $T_g$ ) de la muestra de almidón de arroz (IR 2071), en función de la concentración de almidón utilizado (Tomado de Biliaderis et al., 1986).

contienen, éste es el principal componente y sus propiedades, así como las propiedades derivadas de su interacción con el agua, influyen significativamente las del alimento, particularmente a la estabilidad y a la textura. Así las transiciones de fase de los almidones son de significativa importancia en el establecimiento del estado físico de los alimentos elaborados a base de productos con alto contenido de almidón (Slade y Levine, 1994).

De acuerdo a Biliaderis (1994), las mediciones viscoelásticas dinámicas han provisto un excelente medio para estudiar los cambios reológicos ocurridos durante los procesos de gelatinización y de retrogradación de dispersiones acuosas de almidón. Eliasson (1986) estudió los cambios inducidos por el calor en las propiedades viscoelásticas de dispersiones de almidón de trigo, maíz, papa y ceroso de cebada utilizando condiciones de calentamiento similares a las utilizadas en el viscoamilografo. En la Figura III.9 se muestran los cambios inducidos en dispersiones acuosas de almidón de trigo y maíz. El valor de  $G'$  y  $G''$  (definiendo  $G'$  como el módulo de almacenamiento de energía, representando el carácter sólido y  $G''$  como el módulo de pérdida de energía, representando el carácter viscoso, ambos parámetros proporcionan las características viscoelásticas del sistema) de las diferentes dispersiones de almidón aumentaron repentinamente en la temperatura (60 °C para el almidón de trigo y 72 °C para el almidón de maíz) donde inició el proceso de gelatinización (Figura III.9). El incremento en ambos módulos fue atribuido al hinchamiento de los gránulos, así como al hecho de que al mismo tiempo se produce la liberación de pequeñas cantidades de amilosa en almidones no cerosos. El calentamiento posterior de las dispersiones de almidón, causó una disminución en los valores de  $G'$  y  $G''$ , proceso que fue interpretado como el ablandamiento de los gránulos debido a la fusión de las zonas cristalinas del almidón. Por otro lado las dispersiones acuosas del almidón de papa y el ceroso de cebada mostraron un decrecimiento continuo en ambos módulos (el valor de  $G'$  para la dispersión de almidón de papa disminuyó de  $6 \times 10^2$  a  $3.5 \times 10^2$ ) durante esta última fase de calentamiento, los perfiles viscoelásticos de las dispersiones de almidón

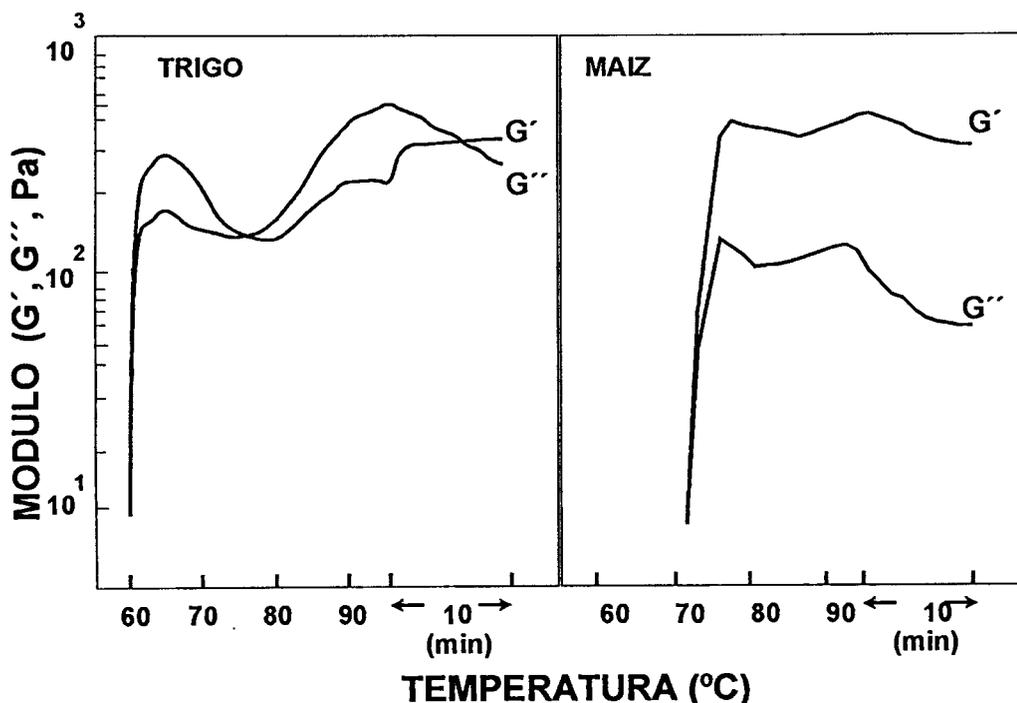


Figura III.9. Cambios en el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y el módulo de pérdida ( $G''$ ) en función del calentamiento (de 25 a 95 °C a 1.5 °C/min y mantenidas a 95 °C 10 min) en dispersiones de almidón al 10%. Las mediciones se realizaron con una frecuencia de 10 rad/s, 10 % de deformación. A) almidón de trigo y b) almidón de maíz (Tomado de Eliasson, 1986)

de trigo y de maíz se caracterizaron por un segundo pico alrededor de 90 a 95 °C (Figura III.9), lo cual fue explicado en base al tercer pico endotérmico que se observa en el perfil térmico de los almidones de trigo y maíz, ya que los almidones de papa (Figura III.5) y ceroso de cebada no presentan perfiles térmicos similares a los obtenidos para los almidones de trigo y de maíz. Además, las pastas de almidón de trigo tenían un carácter más viscoso que las de maíz en el intervalo de temperaturas de 75 ° a 95 °C, ya que  $G''$  fue más grande que  $G'$  para el almidón de trigo, lo cual resultó de manera contraria en el almidón de maíz. De manera interesante resultó el hecho de que la cantidad de amilosa lixiviada fue más alta en el almidón de trigo que en el almidón de maíz. Eliasson (1986) sugirió que las diferencias en la respuesta reológica se debía a las diferencias entre los gránulos de almidón de maíz y de trigo y la forma de los gránulos gelatinizados en la matriz del gel, así como también a las interacciones ente las fases continua y dispersa.

## **8. Agua en los alimentos.**

El agua es el líquido más abundante en la tierra y es esencial para todos los organismos vivos. La cuantificación del agua en los alimentos es una de las mediciones más importante y más utilizada (Pomeranz, 1991). El contenido de agua varía ampliamente en los alimentos, los cuales se clasifican en tres diferentes grupos en función de su actividad acuosa ( $A_w$ ). Los alimentos de baja humedad (ABH) poseen valores de  $A_w < 0.65$ , los de humedad intermedia (AHI) entre 0.65 y 0.95 y, por último, los alimentos de alta humedad (AAH) con valores de  $A_w$  mayores de 0.95 (Fennema, 1985; Slade y Levine, 1991a).

La mayoría de los compuestos de los sistemas derivados de moléculas naturales están propensos a sufrir procesos de degradación y deterioro químico, físico y microbiológico. El papel del agua en estos procesos es complejo ya que puede actuar como una fase continua (solvente, medio de dispersión), como reactante (hidrólisis,

protonación, etc) y como un plastificante de la estructura de biopolímeros (ej., almidón). Sin embargo, estos sistemas pueden mantenerse estables por espacios de tiempo prolongados a través del control de su contenido de humedad.

La disponibilidad de agua, la temperatura y pH son los factores más importantes para controlar la degradación bioquímica y el crecimiento de microorganismos en los alimentos. Estos factores son importantes, individualmente y en conjunto, en el desarrollo de productos alimenticios ya que proporcionan criterios para predecir la relación que existe entre la composición de un producto y sus propiedades fisicoquímicas, y de cómo estas determinan las condiciones de almacenamiento del alimento para alcanzar una vida de anaquel específica. Por ejemplo, el crecimiento de microorganismos en alimentos con alto contenido de humedad se controla por medio del efecto combinado de la temperatura y el pH. Por otro lado, al reducir el contenido de agua en un alimento, generalmente se incrementa la vida de anaquel de este, debido a una disminución en la disponibilidad de agua, esto es su movilidad, requerida para el crecimiento microbiano. Por otro lado, disminuyendo el contenido de agua en los alimentos, se incrementa la concentración de compuestos solubles en agua. Este incremento en la concentración tiene el efecto de disminuir la presión parcial del agua, la cual está termodinámicamente relacionada al potencial químico del agua. Esta disminución en la disponibilidad del agua para actuar como medio de reacción o de difusión, incrementa la vida de anaquel de los productos alimenticios.

### **8.1. Efecto plastificante e interacciones del agua en los componentes del alimento.**

El agua actúa como fase dispersante, como medio de difusión y de reacción, pero además tiene la propiedad de actuar como un plastificante sobre los diferentes compuestos hidrosolubles del alimento. Esta propiedad, se define como aquella que

tienen los solventes de disminuir el valor de la temperatura de la transición vítrea ( $T_g$ ) de manera proporcional al contenido de solvente en la solución (Figura III.8), en este caso el contenido de agua en el alimento (Slade y Levine, 1991a, 1994; Roos, 1995a).

En el área de la ciencia de polímeros sintéticos, el efecto plastificante es un aspecto tecnológico clave (Sears y Darby, 1982; Slade y Levine, 1994), ya que gracias a este efecto se pueden obtener materiales que sean más fáciles de manipular. La definición clásica de un compuesto plastificante en el área de los polímeros sintéticos, es la de un material incorporado al polímero para mejorar su maleabilidad, su flexibilidad o su extensibilidad (Sears y Darby, 1982; Slade y Levine, 1994). De manera característica, el valor de  $T_g$  de un polímero sin diluir, es mucho más alto que el valor de  $T_g$  de un diluyente típico (ej., plastificante) de bajo peso molecular. Así, a medida que la concentración del diluyente se incrementa en la solución con el polímero, el valor de  $T_g$  de la mezcla disminuye monotónicamente, esto debido a que el peso molecular promedio de la mezcla homogénea de polímero – plastificante disminuye y el volumen libre, es decir el volumen de la mezcla que no es ocupado por las moléculas se incrementa (Ferry, 1980). En otras palabras, la plastificación a nivel molecular, lleva a un incremento en el espacio intermolecular o volumen libre, lo que disminuye la viscosidad local e incrementa la movilidad molecular concomitantemente (Ferry, 1980). La plastificación implica el mezclado íntimo y la compatibilidad molecular, tal que el plastificante esté homogéneamente mezclado en el polímero o el polímero en el plastificante (Sears y Darby, 1982; Slade y Levine, 1994). Cabe notar que un solvente verdadero capaz de disolver cooperativamente los cristales ordenados, que posea alta compatibilidad termodinámica y sea miscible en todas sus proporciones con el polímero, es también siempre un plastificante, pero un plastificante no es siempre un solvente (Sears y Darby, 1982; Slade y Levine, 1994).

Es bien conocido que el agua actúa como un plastificante en los componentes de los alimentos, afectando el valor de  $T_g$  para los polímeros completamente amorfos y el valor de  $T_g$  y de  $T_m$  para los polímeros parcialmente cristalinos (Levine y Slade, 1988;

Slade y Levine, 1991a, b, 1994). El agua, al disminuir el valor de  $T_g$  por debajo de la temperatura de almacenamiento, produce cambios en el estado amorfo de los componentes reflejados en las propiedades mecánicas y estructurales del alimento (Slade y Levine, 1991a, 1994, 1995; Roos, 1995a). De acuerdo a los datos reportados por Hansen et al. (1991), el módulo complejo ( $G^*$ ), el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y el módulo de pérdida ( $G''$ ) determinados en dispersiones de almidón preparadas a diferentes concentraciones (g de almidón / g de agua) previamente gelatinizados, presentan una tendencia a aumentar (Tabla III.3) a medida que la concentración de almidón se incrementaba en las dispersiones analizadas, es decir a medida que la concentración de agua era reducida. El módulo de almacenamiento y el módulo de pérdida se ven afectados por el contenido de humedad, ya que esta tiende a incrementar la movilidad molecular de los polímeros presentes (Chinachoti et al., 1991). El agua es un compuesto que al solubilizar a los otros componentes incrementa la movilidad de estos, esto se debe a su bajo peso molecular, lo que ocasiona, como ya se mencionó, el incremento en el volumen libre y la disminución en la viscosidad (Ferry, 1980). El efecto plastificante directo de incrementar el contenido de humedad a temperatura constante es equivalente al efecto de incrementar la temperatura a contenidos de humedad constante, lo que produce un incremento en la movilidad de los segmentos en las regiones amorfas en las cadenas de los polímeros un incremento en la movilidad en el estado vítreo o parcialmente cristalino, ocasionando una transición de la estructura asociada a una relajación de dicha estructura por efecto de la mayor movilidad de los segmentos de las cadenas en el estado amorfo a valores menores del valor de  $T_g$  original (Sears y Darby, 1982; Slade y Levine, 1994).

El efecto plastificante del agua sobre el almidón ha sido tema de bastantes estudios reportados en la literatura (Donovan, 1979; Biliaderis et al., 1986; Roos y Karel, 1991a, b; Slade y Levine, 1991a), en los cuales, se ha investigado solo el efecto plastificante que presenta el agua sobre el almidón puro obtenido de diferentes fuentes

Tabla III.3. Propiedades reológicas de almidones gelatinizados a 86 °C, con diferentes concentraciones de agua.

CONCENTRACIÓN (% de almidón)	G* (dinas/cm <sup>2</sup> )	G' (dinas/cm <sup>2</sup> )	G'' (dinas/cm <sup>2</sup> )
5	5734 ± 334	2828 ± 317	4974 ± 381
7	17204 ± 237	13180 ± 340	11034 ± 676
10	72794 ± 5648	47104 ± 3584	44976 ± 5852

G\*, Módulo complejo; G', Módulo de almacenamiento y G'', Módulo de pérdida (Tomado de Hansen et al., 1991).

(ej., trigo, papa y arroz principalmente). En la Figura III.8 se observa dicho efecto sobre el comportamiento de  $T_g$  del almidón de arroz, el cual es similar independientemente de la fuente de obtención del almidón; sobre estos aspectos no se han realizado estudios sobre el almidón de uno de los cereales más consumido en nuestro país, el de maíz normal, el cual es preparado para su consumo principalmente a través del proceso de nixtamalización para la elaboración de tortillas.

Los carbohidratos son las moléculas biológicas más abundantes y están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Estas moléculas están involucradas en una variedad de funciones biológicas, tanto como azúcares, monoméricos, como oligosacáridos o como polisacáridos. Por ejemplo, los azúcares son el principal producto de la fotosíntesis, convirtiéndose en la principal fuente de energía de la biosfera. Aún así, estas moléculas están limitadas en su capacidad de almacenamiento de energía relativo a hidrocarburos simples, ya que estos están parcialmente oxidados. Sin embargo, esta limitación es esencial para su funcionalidad, debido a que la presencia de su gran número de grupos hidroxilo ( $OH$ ) permite la solubilidad de los azúcares en un medio acuoso. De la observación anterior, se puede derivar la siguiente conjetura: las interacciones de las moléculas de los azúcares con el agua son muy importantes y están íntimamente relacionadas con el papel biológico de estas moléculas (Schmidt et al., 1994). Muchas de las funciones especializadas de carbohidratos específicos, tales como su habilidad para modificar la viscosidad de las soluciones o para servir como crioprotectores (Levine y Slade, 1990; Roos y Karel, 1991a), resultan del efecto de sus interacciones con las moléculas del agua en el alimento. Más aún, como es el caso con otros biopolímeros tales como las proteínas, el agua afecta la conformación de los carbohidratos, particularmente oligosacáridos y polisacáridos (Schmidt et al., 1994).

La importancia tecnológica de los lípidos en panificación ha sido reconocida por muchos autores y la química que gobierna estos efectos ha recibido atención

considerable (Pomeranz, 1985; Carr et al., 1992; Jovanovich et al., 1992; Morrison, 1988, 1995). Los lípidos son un componente relativamente menor en el trigo y constituyen entre el 2.5% y 3.3% del grano completo (Carr et al., 1992). Estos lípidos son relativamente ricos en triacilglicéridos, aunque otras 20 especies de lípidos han sido identificadas. La composición de ácidos grasos es típica de semillas de reserva de los cereales, con grandes cantidades de ácido linoléico, el cual aporta aproximadamente el 60% de los ácidos grasos totales. Aproximadamente una quinta parte de los lípidos totales se encuentran acomplejados con la amilosa presente en los gránulos de almidón y se conocen como lípidos ligados al almidón (Carr et al., 1992; Jovanovich et al., 1992). Estos lípidos se componen en su gran mayoría por lisofosfatidilcolina, los cuales pueden afectar las propiedades tecnológicas del almidón, pero por efecto de su localización es improbable que influyeran en el comportamiento de otros componentes. Los lípidos que no están acomplejados dentro del gránulo de almidón, son los lípidos que están presentes en el germen y el endospermo que forman parte de los esferosomas (cuerpos de almacenamiento de lípidos), los cuales están cubiertos de una membrana de lípidos polares, además de los lípidos de las membranas celulares y de organelos, aunque podrían existir interacciones de estos con la superficie del gránulo de almidón (Carr et al., 1992). Estas clases de lípidos se componen principalmente de lípidos neutros (ej, triacilglicéridos y diacilglicéridos), ácidos grasos libres, glucolípidos y poca cantidad de fosfolípidos.

De acuerdo a Jovanovich et al. (1992), la formación del complejo entre la amilosa y L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina [principal fosfolípido presente en el trigo (Carr et al., 1992)], se ven influenciadas por el contenido de agua. En la Figura III.10-I se observan los termogramas del complejo amilosa – L- $\alpha$ - lisofosfatidilcolina aislado con el 22.7% de agua (Figura III.10-I, curva a); a este contenido de agua no se observó transición alguna durante el segundo periodo de calentamiento. Sin embargo, después de adicionar agua destilada a la misma muestra calentada, a un nivel del 70% de agua, se observó el pico correspondiente a la disociación del complejo durante el primer y

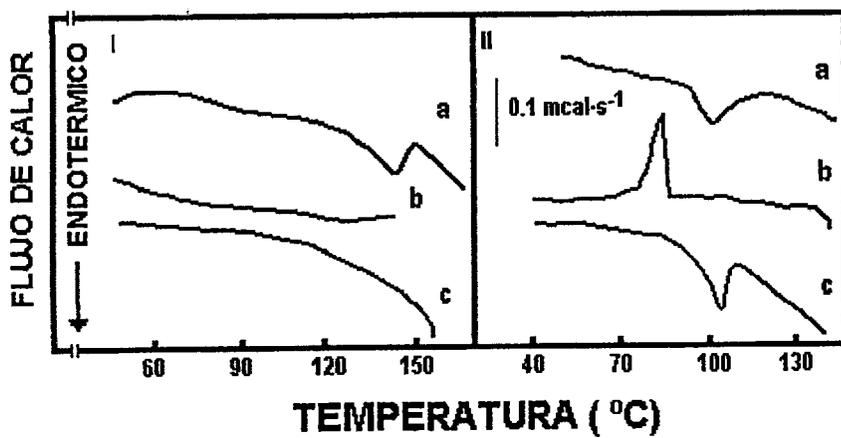


Figura III.10. (I) Termogramas obtenidos del complejo amilosa – (L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina), peso del complejo 2.48 mg, 22.7% de humedad. (II) termogramas del complejo aislado, obtenidos después de la adición de agua a la muestra anterior, 2.48 mg de complejo y 70% de agua. (a) calentamiento, (b) enfriamiento y (c) recalentamiento (Tomado de Jovanovich et al., 1992).

segundo periodo de calentamiento de la muestra (Figura III.10-II). De acuerdo a estos resultados Jovanovich et al. (1992) concluyeron que el proceso de formación del complejo amilosa – lípido es reversible a altos contenidos de humedad y es significativamente influenciado por el contenido de humedad de la harina o del almidón de trigo, ya que a contenidos de humedad del 22.7% no se encontró el pico endotérmico correspondiente en el segundo periodo de calentamiento. Debido al carácter hidrofóbico de las diferentes fracciones de lípidos presentes en la harina de trigo, la presencia de agua en ésta propicia la formación de complejos de dichos compuestos con los componentes del almidón o con el gluten (Pomeranz, 1985), lo cual soporta los resultados obtenidos por Jovanovich et al. (1992).

Los emulsificantes son usados frecuentemente en cereales y en alimentos elaborados a base de almidones, debido a su capacidad para retardar la retrogradación del almidón y por lo tanto el endurecimiento del pan. Estos emulsificantes afectan la estabilidad estructural y el comportamiento reológico del almidón durante el proceso de gelatinización por efecto de la formación de complejos cristalinos con la amilosa (Ghiasi et al., 1982). Los cuales presentan el patrón de difracción de rayos X tipo V.

## **9. Enfoque de la ciencia de polímeros en los alimentos.**

La mayoría de los procesos físicos y químicos, que ocurren en los sistemas alimentarios de humedad intermedia, están bajo control cinético (Labuza, 1980), es decir estos procesos están limitados por la velocidad de difusión de las especies reactantes a través de la matriz, la cual puede corresponder a una velocidad de difusión muy pequeña (estado vítreo) o muy grande (estado plástico); por tanto, la estabilidad del producto corresponde a un estado meta – estable, pero no de equilibrio (van den Berg, 1986; Slade y Levine, 1991a, b), es decir un estado meta – estable debido a las condiciones que determinan la cinética (Simatos et al., 1995; Roos, 1995a; Slade y Levine, 1995).

La heterogeneidad física de los alimentos, proviene de la coexistencia de varias fases, comúnmente una fase cristalina puede coexistir con una fase sólida amorfa, por ejemplo, en el almidón. La manera, fácil o difícil, en la que se realiza la migración del agua a través de un material de fases múltiples depende de si el componente amorfo está en estado vítreo o plástico y además, sobre las propiedades interfaciales de las regiones cristalinas y amorfas (Piazza y Masi, 1995). A temperaturas menores de  $T_g$  los procesos limitados por difusión son inhibidos durante un periodo de tiempo real, de esta manera el agua en la región amorfa empieza a ser esencialmente "indisponible", es decir, inmovilizada, para las reacciones de deterioración típicas dentro del periodo de tiempo práctico de almacenamiento de los diferentes tipos de alimentos (Levine y Slade, 1986; Slade y Levine, 1988a, 1991a, b; van den Berg, 1986). Este periodo de tiempo práctico puede ser inclusive de años.

El efecto del agua en cambios de textura en los alimentos de baja humedad, se considera importante debido a la capacidad plastificante del agua. En las Figuras III.14 y III.15 se presentan los resultados obtenidos por Nicholls et al. (1995) a partir de barras de gluten, almidón de trigo y almidón de maíz ceroso en el estado amorfo, sometidas a una prueba de presión en tres puntos. En la Figura III.14 se puede observar el efecto que tiene el agua sobre las propiedades de flexibilidad de los diferentes materiales analizados; así a contenidos de humedad menores los diferentes materiales necesitaron una mayor presión para su rompimiento en un desplazamiento relativamente menor que sus contrapartes con mayor cantidad de humedad. En la Figura III.15 se muestra el módulo de flexibilidad en la región lineal de las curvas de presión – deformación de la Figura III.14; así, se aprecia que el módulo de flexibilidad de los almidones de trigo y el de maíz ceroso analizados disminuyó de 5000 MPa (5% de humedad) hasta un valor de 2000 MPa (16 –17% de humedad), de manera similar se observó el comportamiento del gluten solo que éste se vio afectado más rápidamente, es decir a menores porcentajes de humedad. Esta disminución en el módulo de

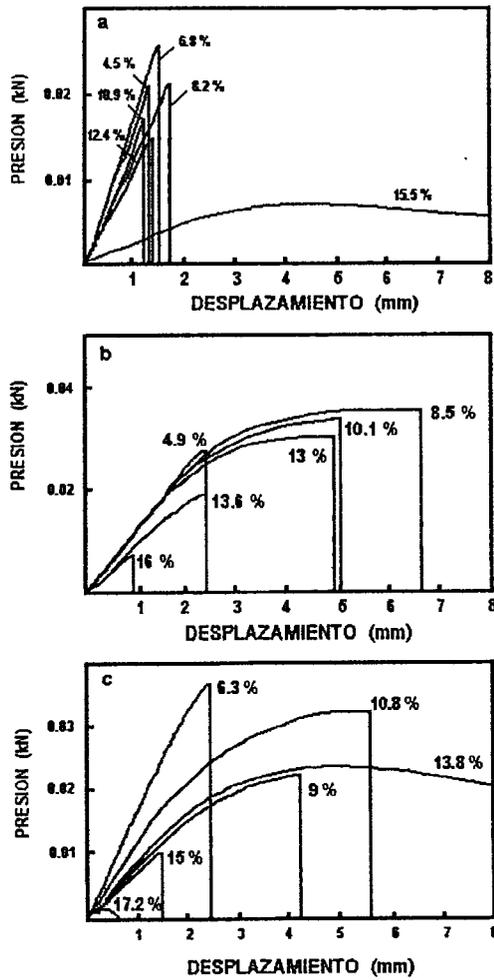


Figura III.11. Curva de presión – deformación obtenida a diferentes contenidos de humedad usando la prueba de flexión de tres puntos para a) gluten, b) almidón de trigo, y c) almidón de maíz ceroso (Tomado de Nicholls et al., 1995).

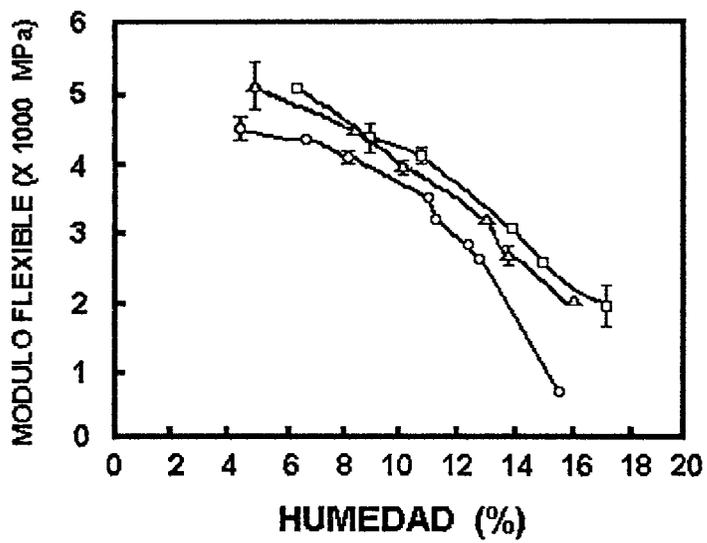


Figura III.12. Representación del módulo de flexibilidad como una función del contenido de humedad. gluten, (o); almidón de trigo, (Δ) y almidón de maíz ceroso, (□); (Tomado de Nicholls et al., 1995).

flexibilidad determinado en muestras de gluten y almidón de trigo, así como en almidón de maíz ceroso llevaron a los autores a concluir que era por el efecto plastificante del agua. Atkins (1987) ha establecido sucintamente la observación de que el agua actúa como un plastificante, disminuyendo el valor de  $T_g$  de la mayoría de los materiales biológicos de aproximadamente 200 °C, para polímeros anhidros, por ejemplo, almidón (Figura III.8), gluten, gelatina, etc., a cerca de -10 °C o menos, a la concentración de agua presente a las condiciones fisiológicas. En caso contrario, estos compuestos estarían en estado vítreo. Por lo tanto, el contenido de agua que tiene la capacidad de disminuir el valor de  $T_g$  del sistema, por debajo de la temperatura ambiente se puede considerar como el valor crítico para la estabilidad de los alimentos (Roos, 1993). Esto demuestra el efecto que tienen la temperatura y el contenido de agua en el estado físico de los alimentos y que proporciona una herramienta importante para la predicción del comportamiento en las etapas del procesamiento y almacenamiento (Roos, 1995b). El hecho de que varios alimentos se encuentren en un estado amorfo y que su estado físico se relacione al valor de  $T_g$ , debido a las propiedades mecánicas que presenta el alimento a valores de temperatura mayores o menores a  $T_g$  (Roos y Karel, 1991a; Slade y Levine, 1991a; Levine y Slade, 1992; Roos, 1995a, b), le confiere relevancia a esta propiedad fisicoquímica, ya que por este hecho se puede seleccionar la temperatura ideal para el procesamiento del alimento de acuerdo al tipo de equipo a utilizar. Como se mencionó anteriormente a valores de  $T < T_g$ , se ven inhibidos los procesos físicos y químicos que son controlados por la difusión molecular dentro del alimento (Roos y Karel, 1991a; Slade y Levine, 1991a, b; Levine y Slade, 1992; Roos, 1993, 1995a, b; Simatos et al., 1995), lo cual indica una menor movilidad del agua, debido a la alta viscosidad del sistema (Roos, 1993, 1995a, b; Slade y Levine, 1991a; Chinachoti, 1993). Por otro lado, a valores de  $T > T_g$ , se observa en el sistema alimenticio, una disminución dramática de la viscosidad alrededor de 3 ó 4 ordenes de magnitud aproximadamente (Slade y Levine, 1991a; Simatos et al., 1995), con el subsecuente incremento en la velocidad de las reacciones deteriorativas.

El estado físico de los componentes de un alimento afecta sus propiedades durante las etapas del procesamiento, del almacenamiento y su consumo (Pérez, 1994; Slade y Levine, 1991a; Simatos et al., 1995). El estado amorfo es el resultado frecuente de la eliminación del agua por medio de los procesos de evaporación o de congelación (Levine y Slade, 1990; Roos y Karel, 1991a), esto depende de la velocidad de evaporación o congelación, ya que si la velocidad en estos dos procesos es lo suficientemente rápida, se propicia la formación de dicho estado amorfo, pero por el contrario si la velocidad es suficientemente lenta la cristalización del material puede ocurrir. Es obvio que la caracterización del estado físico de la materia en los alimentos en función de las condiciones de proceso y formulación es un factor de primordial importancia en el establecimiento de la calidad y estabilidad del sistema.

Se ha puesto ya de manifiesto que la concentración de agua afecta el comportamiento de las temperaturas de transición de fase de primer y segundo orden del almidón y de otros componentes del alimento solubles en agua. Por esta razón, el estudio de las propiedades fisicoquímicas del agua en su interacción con componentes del sistema alimenticio debe continuarse. En este estudio en particular las interacciones del agua con almidón de maíz y de este con lípidos, se investigarán en referencia a sus posibles efectos en la determinación de las propiedades funcionales de un sistema alimenticio de importancia a la población mexicana, la tortilla.

## **IV. OBJETIVOS.**

### **1. Objetivo general.**

Investigar las interacciones moleculares que ocurren entre el almidón de maíz y lípidos polares a concentraciones de agua de interés, bajo efecto del proceso de nixtamalización industrial, durante la preparación de harinas instantáneas.

### **2. Objetivos específicos.**

1. Estudiar el efecto de los lípidos endógenos (ej., acilglicéridos, ácidos grasos libres y fosfolípidos) y exógenos (L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina) en los procesos de fusión y retrogradación del almidón de maíz.

2. Investigar el desarrollo del complejo almidón – lípidos polares mediante técnicas calorimétricas, reológicas y de microscopia electrónica de barrido.

## V. MATERIALES Y METODOS.

### 1. Materiales.

Se utilizó maíz en grano y harina instantánea de maíz nixtamalizado, esta última procesada industrialmente a partir del mismo lote de maíz en grano. Estos materiales fueron donados por MASECA (Guadalajara, Jal.). A partir de estos materiales se obtuvo el almidón bajo las condiciones descritas posteriormente en la sección V.2.1.3.

La harina nixtamalizada fue preparada industrialmente bajo las siguientes condiciones: el maíz en grano se calentó en un cocedor continuo con una suspensión de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  al 3% usando el siguiente perfil de tiempo y temperatura: 8 min a 74 °C, 8 min a 89 °C, 16 min a 93 °C y 8 min a 83 °C, una vez cocido se lavó con agua a 60 °C en una tina de lavado para eliminar el nejayote, se dejó reposar por 3.2 h en un silo de reposo para alcanzar una mejor distribución de la humedad interna, posteriormente se sometió a un proceso de molienda en un molino de piedra y de secado en un secador tipo "flash" con aire a una temperatura de 186 °C, enfriándose en un túnel giratorio. Finalmente se molió en un molino de martillos hasta pasar por una malla 50 y los gruesos hasta pasar una malla 40.

La mayoría de los reactivos utilizados fueron marca J.T. Baker (México). El CsCl fue J. T. Baker (Phillipsburg, E.U.A.), el kit de ensayo para la determinación del porcentaje de amilosa y la concentración de almidón fue de Megazyme International (Ireland Ltd, Irlanda) y la L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina marca Sigma (Saint Louis, MO., E.U.A). Para el análisis de cromatografía de gases se usó una mezcla de metil - esteres como estándar (GLC 15A, Nu-Chek-Prep, Inc, MN., E.U.A).

## **2. Métodos.**

### **2.1. Métodos químicos.**

#### **2.1.1. Molienda y extracción de los lípidos libres.**

El maíz se molió en un molino de martillos (Pulvex 200, Pulvex, México) de 10 Kg de capacidad provisto con una malla de 0.8 mm de abertura. Porciones de la harina obtenida y de la harina nixtamalizada se sometieron a un proceso de extracción de lípidos con éter de petróleo a temperatura ambiente (relación 1:25 de sólido / líquido), en contacto directo por 24 h en agitación continua a temperatura ambiente (Addo y Pomeranz, 1991; 1992). La mezcla de solvente y aceite se separó de la harina por filtración. El solvente se removió del extracto bajo vacío en un rotavapor y se calculó el porcentaje de lípidos extraídos por diferencia de peso. El extracto se almacenó bajo ambiente de nitrógeno a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis. A los lípidos así extraídos se les definió como lípidos libres. A la harina parcialmente desgrasada se le eliminó el contenido de solvente permitiendo su evaporación a temperatura ambiente durante 24 h y se almacenó a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior uso en la purificación del almidón respectivo.

En esta etapa se obtuvieron 4 tipos de harinas:

Harina de maíz con lípidos libres (HLL).

Harina de maíz sin lípidos libres (HSLL).

Harina de maíz nixtamalizado con lípidos libres (HNLL).

Harina de maíz nixtamalizado sin lípidos libres (HNSLL).

#### **2.1.2. Determinación del perfil de ácidos grasos.**

El perfil de ácidos grasos se determinó en un cromatógrafo de gases (Modelo

GC-9A; Shimadzu Corp., Kyoto, Japón) con un detector de ionización de flama siguiendo la técnica de Bannon et al. (1982). Se empleó una columna de vidrio (2.6 m x 2.1 mm) empacada con GP 10% SP 2330 sobre Chromosorb 100/120 (Supelco, Bellafonte, PA., E.U.A.). La temperatura en la columna fue de 200 °C y en el inyector de 215 °C, utilizando helio de alta pureza como gas acarreador (20 mL/min). La composición fue determinada por normalización de las áreas del cromatograma de acuerdo a la técnica de Ackman y Sipos (1964) e identificación de los picos de los ácidos grasos con un estándar con la siguiente concentración: metil palmitato (6%), metil estearato (3%), metil oleato (35%), metil linoleato (50%), metil linolenato (3%) y metil araquidato (3%), utilizando un integrador Shimadzu Modelo C-R1B Chromopac (Shimadzu Corp., Kyoto, Japón).

### **2.1.3. Purificación del almidón.**

La extracción y purificación del almidón se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Tester y Morrison (1990). La harina se sometió a una etapa de maceración en agua desionizada (relación de sólido / líquido 1:4) a una temperatura de 4 °C ( $\pm$  1 °C) por un periodo de 3 h. Posteriormente, la mezcla se molió a baja velocidad en una licuadora obteniendo así una suspensión de almidón que se filtró a través de una malla de 75  $\mu$ m (malla 200) de apertura. El almidón se recuperó por centrifugación (1550 x g / 15 min, Centrífuga CU-5000 Damon/IEC Division, E.U.A.) y se le agregó agua desionizada suficiente para resuspenderlo. A esta suspensión se le adicionaron 30 mL de solución de CsCl al 80% (p/v) y se depositó en tubos de 70 mL, la mezcla se centrifugó a 15 °C a 30000 x g durante 20 min (Centrífuga Sorvall RC-5B, Du Pont Instruments, Norwalk, CT., E.U.A.), eliminando el sobrenadante. Este procedimiento se repitió dos veces y el almidón así obtenido se lavó seis veces con agua desionizada, centrifugando a temperatura ambiente en cada caso por 5 min a 1550 x g para recuperar el almidón. El almidón purificado se liofilizó a -50 °C y 50 mbar (Liofilizadora Lymph-Lock 6, Labconco Corporation, Kansas, E.U.A.) y el material así obtenido se

almacenó a 4 °C hasta su utilización en análisis posteriores.

En esta etapa se obtuvieron cuatro almidones distintos:

Almidón de maíz nativo (ALL).

Almidón de maíz nativo sin lípidos libres (ASLL).

Almidón de maíz nixtamalizado con lípidos libres (ANLL).

Almidón de maíz nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL).

#### **2.1.4. Concentración de almidón y amilosa.**

Para la determinación de la pureza del almidón y de la concentración de amilosa en cada uno de estos se utilizó la metodología descrita por Gibson et al. (1997) utilizando el kit de ensayo de Megazyme (Megazyme International, Ireland Ltd., Irlanda).

Esta determinación se basa en la propiedad específica de la lectina, concanavalina A (Con A), para formar complejos de inclusión con la amilopectina. Bajo condiciones definidas de pH, temperatura y fuerza iónica la Con A específicamente se acompleja con polisacáridos ramificados conteniendo estructuras repetitivas (unidades  $\alpha$ -D-glucopiranosil o  $\alpha$ -D-manopiranosil) en grupos múltiples de azúcares terminales no reductores, lo cual provoca la formación de un precipitado. De esta manera la Con A forma un complejo con la amilopectina pero no con la amilosa, la cual tiene una estructura primaria principalmente lineal (Gibson et al., 1997; Yun y Matheson, 1990).

##### **2.1.4.1. Reactivos utilizados.**

- 1). Amiloglucosidasa (3300 U a pH 4.5 y 40 °C) y  $\alpha$ -amilasa fúngica (500 U a pH 5.0 y 40 °C), disueltas en buffer de acetato de sodio 100 mM, pH 4.5.

2). Solución de Concanavalina A. Se disolvieron 200 mg de Con A en 50 mL del solvente 5, para obtener una concentración final de 4 mg/mL.

3). Reactivo para determinación de glucosa (GOPOD). La mezcla enzimática se disolvió en buffer de acetato de sodio 0.2 M, pH 5.0, para obtener una concentración final de:

Glucosa oxidasa >12000 U/litro.

Peroxidasa >650 U/litro.

4-aminoantipirina 0.4 mM.

4). Buffer de acetato de sodio (100 mM, pH 4.5). 5.9 mL de ácido acético glacial ( $\rho = 1.05 \text{ g/mL}$ ) se adicionan a 900 mL de agua desionizada. Esta solución se ajustó a un pH de 4.5 con NaOH 1 M. Se le adicionó azida de sodio (0.2 g) y se aforo a un litro con agua desionizada.

5). Solvente para Con A. Acetato de sodio anhidro (49.2 g), NaCl (175.5 g),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.5 g),  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.7 g) y  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (0.7 g) se disolvieron en 900 mL de agua desionizada. El pH se ajustó a 6.4 adicionando gotas de ácido acético glacial y se diluyó a un litro con agua desionizada. Para su empleo se toman 30 mL y se diluyen a 100 mL con agua desionizada.

#### **2.1.4.2. Pre acondicionamiento de las muestras.**

Se pesaron  $25 \pm 0.1$  mg de muestra en un tubo de vidrio con tapón de rosca, se le adicionó 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) agitándolo suavemente en un mezclador de tubos Vortex. El tubo se tapó y se calentó en un baño de aceite a  $110 \text{ }^\circ\text{C}$  hasta que

la muestra se dispersó completamente (aproximadamente 1 min), asegurándose de que no se formaran grumos gelatinosos de almidón. Se mezcló vigorosamente el contenido del tubo en el Vortex a máxima velocidad y se colocó nuevamente en el baño de aceite por 15 min adicionales con mezclado vigoroso intermitente. El tubo se dejó enfriar a temperatura ambiente (5 min) y se le adicionaron 2 mL de etanol al 95% con agitación continua. Posteriormente se adicionaron otros 4 mL de etanol mezclándolo vigorosamente. En esta etapa se formó un precipitado blanco. Se dejó reposar la solución por media hora, al término de la cual se centrifugó a temperatura ambiente (Centrifuga CU-5000 Damon/IEC Division, E.U.A.) a  $2000 \times g$  por 5 min; se descartó el sobrenadante y el precipitado se secó sobre papel filtro hasta que se evaporó en su totalidad el alcohol. Para la utilización de este precipitado en la determinación de la concentración de amilosa y de almidón total, se le adicionó 1 mL de DMSO con agitación continua en el Vortex a baja velocidad y se colocó en el baño de aceite a  $110^\circ\text{C}$  por 15 min con agitación intermitente, asegurándose de que no se formaran grumos gelatinosos. Una vez disuelto se le adicionó 2 mL de solvente para Con A y el contenido se transfirió cuantitativamente por lavados repetidos con el solvente a un matraz, aforando a 25 mL (solución 1).

#### **2.1.4.3. Determinación del contenido de amilosa.**

Se transfirió 1 mL de la solución 1 a un tubo de microcentrifuga Eppendorf de 2 mL. Se le adicionaron 0.5 mL de solución Con A (4 mg/mL), se tapó el tubo y se mezcló suavemente invirtiéndolo repetidamente, evitando calentar la solución. El sistema se dejó reposar 1 h a temperatura ambiente y posteriormente se centrifugó 10 minutos a  $20000 \times g$  a  $20^\circ\text{C}$  (Centrífuga refrigerada modelo Z382K, Labnet, Woodbridge, NJ., E.U.A.). Se transfirió 1 mL del sobrenadante a un tubo de centrifuga de 15 mL, se le adicionaron 3 mL de buffer de acetato de sodio 100 mM, pH 4.5, con lo cual se redujo el pH a aproximadamente 5. Una vez mezclado el contenido del tubo, se tapó y calentó por 2 min en un baño de aceite a  $110^\circ\text{C}$  para desnaturalizar la Con A. Posteriormente

se colocó el tubo en un baño de agua a 40 °C y se equilibró a esta temperatura por 5 min, se le adicionó 0.1 mL de amiloglucosidasa /  $\alpha$ -amilasa y se incubó a 40 °C por 30 min, procediendo a centrifugar a 2000 x g durante 5 min. A 1 mL del sobrenadante se le adicionaron 4 mL del reactivo GOPOD. Se incubó el tubo a 40 °C por 20 min. Conjuntamente con la muestra se analizó un blanco de reactivos y un blanco de glucosa de concentración conocida (100  $\mu$ g/0.1 mL).

Se determinó la absorbancia de las muestras y del blanco de glucosa a 510 nm en un espectrofotómetro UV-Vis modelo UV-2101PC (Shimadzu Corp., Kyoto, Japón), calibrando a cero el equipo con el blanco de reactivos.

#### **2.1.4.4. Determinación del almidón total.**

Se tomaron 0.5 mL de la solución 1 y se mezclaron con 4 mL de buffer de acetato de sodio 100 mM (pH 4.5). Se le adicionó 0.1 mL de solución de amiloglucosidasa /  $\alpha$ -amilasa y se incubaron a 40 °C por 10 minutos. Se transfirió una alícuota de 1 mL de esta solución a un tubo y se adicionaron 4 mL del reactivo GOPOD. Se incubó nuevamente a 40 °C por 20 min. Se determinó la absorbancia de las muestras y el blanco de glucosa a 510 nm.

#### **2.1.4.5. Cálculo del porcentaje de amilosa y la concentración de almidón.**

1). El contenido de amilosa se calcula como la relación entre la glucosa derivada del sobrenadante después del tratamiento con "Con A" y la glucosa derivada de la solución del almidón total, expresada como porcentaje:

$$\% \text{ Amilosa} = \frac{A_{510} \text{ Sobrenadante de Con A}}{A_{510} \text{ Almidón Total}} \times \frac{6.15}{9.2} \times 100 \quad [5.1]$$

donde 6.15 y 9.2 son los factores de dilución para los extractos del sobrenadante de

Con A y el almidón total, respectivamente.

2). El almidón total puede calcularse por separado, expresado como un porcentaje del peso total de la muestra haciendo la corrección por el contenido de humedad, determinando así el almidón en base a peso seco.

$$\% \text{Almidón (b.h.)} = A_{510} \times F \times 230 \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} \quad [5.2]$$

donde F = 150, factor de ajuste de la curva de calibración [( $\mu\text{g}$  de estándar de glucosa) /  $A_{510}$  para 100  $\mu\text{g}$  de glucosa], 230 es el factor de dilución, 1/1000 es el factor de conversión de  $\mu\text{g}$  a mg, 100/W es la conversión a %, W es el peso de la muestra en mg, 162/180 es la corrección del peso molecular de la glucosa libre a glucosa anhidra.

$$\text{Almidón Total (\% b.s.)} = \% \text{Almidón (b.h.)} \times \frac{100}{100 - \% \text{ de humedad}} \quad [5.3]$$

### 2.1.5. Determinación de calcio y fósforo en almidón.

Se pesó 0.5 g de muestra en un tubo para microondas (Rotor; HPR1000-6, Mega Milestone, Microwave Laboratory Systems, Bergamo, Italia), adicionando 10 mL de  $\text{HNO}_3$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$  en una relación de 4:1. Se realizó la digestión de la muestra en un digestor de microondas (MLS 1200 Mega Milestone, Microwave Laboratory Systems, Bergamo, Italia), utilizando el programa de tiempo y potencia que se describe en la Tabla V.1.

Una vez que la muestra se digirió, se aforo a 50 mL y se analizó por emisión por plasma acoplado inductivamente en un equipo Thermo Jarrel Ash, Modelo IRIS/AP (Thermo Jarrel Ash Corp., Franklin, MA., E.U.A.) utilizando un valor de  $\lambda = 317.933$ , orden = 83 para el Ca y para el fósforo un valor de  $\lambda = 214.914$ , orden = 122.

Tabla V.1. Programa de digestión utilizado en la preparación de las muestras para la determinación de calcio y fósforo en almidón.

Etapa	Tiempo (min)	Potencia (W)	Temp (°C)
1	1	250	110
2	1	0	110
3	5	250	110
4	5	400	110
5	5	650	110

### **2.1.6. Determinación de fósforo en lípidos.**

Se procedió como en la sección anterior, aforando en este caso a 25 mL y analizando por emisión por plasma acoplado inductivamente utilizando una  $\lambda = 214.914$  y el orden de 122.

### **2.1.7. Determinación de proteína.**

Se utilizó el método 2.060 de la AOAC (1980), el cual se modificó para el sistema micro-Kjeldahl de la siguiente manera. Se colocaron 100 mg de cada almidón seco ( $130\text{ }^{\circ}\text{C} / 1\text{ h}$ ) en un matraz micro-Kjeldahl y se adicionó 1 g de sulfato de potasio y 2.5 mL de ácido sulfúrico concentrado. El matraz con la muestra se colocó en el digestor y se calentó gradualmente con una resistencia eléctrica hasta obtener una solución transparente. A la solución así obtenida se le adicionaron 55 mL de agua desionizada y se transfirió a uno de los tubos del destilador (Labconco Rapid Kjeldahl System, Labconco Corp., Kansas, E.U.A.); se le agregaron 10 mL de una solución de hidróxido de sodio (0.6 g/mL) - tiosulfato de sodio (50 mg/mL) en relación 39:3.25 y se sometió a destilación. El destilado se recibió en un matraz que contenía 5 mL de ácido bórico al 5% y 4 gotas de azul de metileno, continuándose con la destilación hasta alcanzar un volumen de 75 mL el cual se tituló con ácido clorhídrico 0.1 N. Para los cálculos se utilizó un factor de conversión de 5.7 (Inglett, 1970).

## **2.2. Métodos físicos.**

### **2.2.1. Microscopia electrónica de barrido.**

La muestra se depositó en un portamuestra de aluminio, sujetándose con una cinta de carbono de doble cara (Bal-Tec, Fürstentum Liechtenstein, Alemania). Posteriormente se depositó una cubierta de oro sobre la muestra usando un recubridor de oro modelo Polaron SC-7610 (Fison Instruments, California, E.U.A.) utilizando un

vacío de 10 mbar por 90 segundos. La muestra recubierta se observó en un microscopio electrónico de barrido digital tipo Stereoscan S420i marca Leica (Cambridge, Inglaterra).

## **2.2.2. Isotermas de sorción.**

### **2.2.2.1. Preparación de los microambientes.**

En un contenedor hermético de vidrio, se pesó la sal (Tabla V.2) y se agregó la cantidad de agua desionizada necesaria en incrementos de 5 mL bajo agitación constante (Labuza et al., 1985). Una vez alcanzada la sobresaturación de la sal (Tabla V.2) se agitó continuamente por 24 h a temperatura ambiente. Dentro de cada frasco se colocó un soporte de material inerte que permitiera el libre flujo para no interrumpir el intercambio gaseoso entre la muestra y la solución sobresaturada. Posteriormente, el sistema se dejó estabilizar por un periodo de 1 semana a 30 °C, temperatura a la cual se realizó la determinación de las isotermas de sorción.

### **2.2.2.2. Determinación de las isotermas de sorción.**

Se colocaron 3 g de almidón en charolas de aluminio, puestas previamente a peso constante, registrando el peso total inicial; las muestras se colocaron dentro de cada uno de los microambientes y posteriormente se registró el peso de las muestras en función del tiempo para evaluar la ganancia o pérdida de peso de cada muestra en las diferentes soluciones sobresaturadas hasta alcanzar el equilibrio dinámico (ganancia o pérdida no mayor a 0.002g, Labuza et al., 1985). Una vez que el almidón alcanzó el equilibrio se le determinó el porcentaje de humedad (Método 30-11, AACC, 1983), así como también se determinó en las muestras iniciales. Los valores obtenidos se ajustaron al modelo de GAB [Ecuación 5.4] de acuerdo a la metodología descrita por Roos (1993) determinándose las constantes de ajuste utilizando el algoritmo Rosenbrock disponible en el procedimiento de estimación no lineal del paquete

Tabla V.2. Tipo de sales y su concentración en agua para alcanzar la humedad relativa (H.R.) indicada a 30 °C.

SAL	PESO (g)	AGUA (mL)	H.R. (% , 30 °C)
LiCl	150	85	11.0
MgCl <sub>2</sub>	200	25	32.5
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	200	90	43.7
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	200	30	52.1
NaNO <sub>2</sub>	200	55	64.8
KCl	200	50	84.1

STATISTICA versión 5 para Windows (Statsoft, Tulsa OK., E.U.A), una vez realizado el ajuste se graficó el porcentaje de humedad del almidón contra el valor correspondiente de humedad relativa.

$$\frac{M}{M_o} = \frac{C_1 C_2 A_w}{(1 - C_2 A_w)(1 - C_2 A_w + C_1 C_2 A_w)} \quad [5.4]$$

donde M es el porcentaje de humedad de cada muestra, M<sub>o</sub> es el porcentaje de humedad de monocapa, C<sub>1</sub> y C<sub>2</sub> son constantes relacionadas con la energía de interacción entre la primera y demás moléculas sorbidas en un sitio de sorción individual.

### 2.2.3. Difracción de rayos X.

La difracción de rayos X permite estudiar las estructuras repetitivas de tipo cristalino. La periodicidad de los átomos en el cristal es del mismo orden de tamaño que la longitud de onda de los rayos X, por lo que existe un fenómeno de interferencia entre las ondas secundarias difundidas por los átomos del cristal (Godet, 1994).

En el caso de los polvos semi-cristalinos los cristales tienen orientaciones estáticas, los planos de difracción se orientan según un ángulo  $\theta$  con respecto a un haz incidente creando un haz difractado, el cual forma un cono de ángulo sólido  $2\theta$  con respecto al haz incidente. El espectro de difracción es obtenido por el registro de la intensidad difractada en función del ángulo  $2\theta$  (Godet, 1994).

El almidón se analizó de 5° a 50° del ángulo  $2\theta$  con una velocidad de 5 °/min en un difractómetro Rigaku (Tokio, Japón) modelo D-MAX-2200. En un barrido continuo se recolectaron los datos en conteos por segundo (intensidad relativa) como función del ángulo de difracción  $2\theta$  utilizando un voltaje de aceleración de 36 kV y una intensidad de corriente en el filamento de 30 mA.

#### **2.2.4. Microscopia óptica de luz polarizada.**

Esta técnica se utiliza para observar cristales anisotrópicos, los cuales deben mostrar al menos dos índices de refracción (birrefringencia). El fenómeno de birrefringencia consiste en la división del haz de luz incidente en un cristal en dos componentes que viajan a velocidades diferentes y tienen al mismo tiempo direcciones de vibración perpendiculares. Debido a que los componentes siguen dos direcciones de vibración principales que tienen diferentes índices de refracción, se mueven a través del cristal a diferentes velocidades y emergen con una onda retardada por una distancia definida que depende de la diferencia de los dos índices de refracción,  $n_1$  y  $n_2$ , y el espesor (McCrone, 1974).

Se preparó una suspensión al 80% de humedad (p/p) en un tubo de ensaye y se colocó en medio de dos portaobjetos de vidrio en una platina (Metler FP82HT, Metler Toledo, Suiza). La pérdida de birrefringencia se evaluó en el intervalo de temperatura de 35 ° a 110 °C a una velocidad de calentamiento de 5 °C/min grabado en tiempo real en video. Igualmente se obtuvo una gráfica de intensidad de luz transmitida en función de la temperatura utilizando para ello un fotomonitor (Photomonitor ZU FP 82, Metler Toledo, Suiza) colocado en uno de los oculares del microscopio, el cual se conectó directamente a la platina de calentamiento y este realizó un registro del porcentaje de luz transmitida en función de la temperatura de análisis.

La toma de video para seguir la pérdida de birrefringencia de los gránulos de almidón se llevó a cabo en un microscopio de luz polarizada Olympus BX60F (Olympus Optical Inc., Ltd, Tokio, Japón) adaptado a un sistema de exposición de video Hitachi Digital (Modelo KP-DSO Color, Tokio, Japón) y un fotomonitor ZU FP 82 (Metler Toledo, Suiza).

#### **2.2.5. Calorimetría diferencial de barrido.**

Para la determinación de las curvas de fusión y cristalización de los almidones

se utilizó un calorímetro diferencial de barrido DSC-7 (Perkin Elmer, Norwalk, CT., E.U.A.), equipado con cámara seca. La escala de temperatura del equipo se calibró con Indio (temperatura de inicio de fusión  $T_o = 156.6 \text{ }^\circ\text{C}$ ) y Plomo ( $T_o = 327.47 \text{ }^\circ\text{C}$ ). La línea base de referencia fue obtenida con cápsulas de aluminio vacías y selladas. Para la calibración de la escala de temperatura del equipo se determinó el inicio de la fusión para ambos estándares; cuando los valores encontrados presentaron diferencia de más de  $2 \text{ }^\circ\text{C}$  con los establecidos, se calibró el equipo. Una vez calibrada la temperatura se llevó a cabo la calibración para el cambio de energía ( $\Delta H$ ), la cual se realizó con Indio ( $\Delta H = 28.45 \text{ J/g}$ ).

Una vez calibrado el equipo se procedió a realizar las mediciones de las diferentes muestras de acuerdo a las condiciones específicas de cada experimento en particular. En todos los casos se utilizó agua desionizada en la celda de referencia (mismo peso que la muestra) y nitrógeno líquido para controlar la temperatura en el bloque del calorímetro.

#### **2.2.5.1. Velocidad de calentamiento.**

Se obtuvieron líneas base para cada una de las diferentes velocidades de calentamiento analizadas (5, 10, 15 y  $20 \text{ }^\circ\text{C/min}$ ). Para cada velocidad de calentamiento en particular se pesó 1 mg de almidón (Microbalanza Modelo AT20, Metler Toledo, Suiza) en un portamuestras de aluminio para volátiles (Perkin Elmer, Norwalk, CT, E.U.A), posteriormente se le adiciono agua desionizada con una microjeringa (Hamilton Co. Reno, Nevada, E.U.A.) hasta alcanzar un contenido de humedad del 80% (p/p), se selló la cápsula y se analizó en el intervalo de  $30 \text{ }^\circ$  a  $130 \text{ }^\circ\text{C}$  utilizando las diferentes velocidades de calentamiento. Todos los análisis se realizaron usando agua en la celda de referencia. Mediante el paquete de cálculo del DSC-7 se obtuvo la temperatura de inicio ( $T_o$ ; determinada como la temperatura en donde la capacidad calorífica de la muestra mostró una separación significativa de la línea base), el pico máximo ( $T_p$ ) y la temperatura final ( $T_f$ ) de las diferentes transiciones así como la entalpía de transición

( $\Delta H$ ).

### **2.2.5.2. Contenido de humedad.**

Una vez obtenida la línea base a 5 °C/min, las muestras de almidón (1000 µg) más una cierta cantidad de agua desionizada hasta alcanzar el contenido de humedad a evaluar (30%, 40%, 50%, 60%, 80% y 90% p/p), se analizaron en el intervalo de 30 ° a 130 °C. En todos los análisis se usó agua en la celda de referencia, el mismo peso de agua que el de la muestra. De los termogramas se obtuvo la temperatura de inicio ( $T_o$ ), el pico máximo ( $T_p$ ) y la temperatura final ( $T_f$ ) de las diferentes transiciones, así como la energía de transición ( $\Delta H$ ) con el paquete de cálculo del DSC-7.

### **2.2.5.3. Anillado a 30 °C a diferentes humedades relativas (H.R.).**

El almidón se analizó por DSC en función del tiempo de almacenamiento y de H.R. (Ver sección V.2.2.3) dada a 30 °C (0, 39, 98 y 137 días). El equipo se calibró de acuerdo a lo descrito anteriormente, obteniendo la línea base a 5 °C/min.

En un portamuestras de aluminio para volátiles se pesó 1mg de cada muestra previamente acondicionada a una determinada H.R., con una microjeringa (Hamilton Co. Reno, Nevada, E.U.A.) se le adicionaron 4 mg de agua desionizada (80% p/p) y se sellaron. La cápsula sellada conteniendo la muestra se colocó en el portamuestra y agua en la de referencia del calorímetro. Se determinó el termograma de fusión calentando de 30 ° a 130 °C a una velocidad de 5 °C/min. De los termogramas se obtuvo la temperatura de inicio ( $T_o$ ), el pico máximo ( $T_p$ ) y la temperatura final ( $T_f$ ) de las diferentes transiciones, así como la energía de transición ( $\Delta H$ ) con el paquete de cálculo del DSC-7. De la misma manera se determinó el difractograma de rayos X para los almidones después de 0 y 40 días de almacenamiento a cada H.R.

#### **2.2.5.4. Temperatura de transición vítrea.**

Para la determinación de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) se aplicó la siguiente metodología.

Se pesaron 1000  $\mu\text{g}$  de almidón y se adicionaron 4 mg de  $\text{H}_2\text{O}$  desionizada usando una microjeringa y se selló. Se analizó por DSC utilizando el siguiente programa de temperatura: el sistema se calentó inicialmente a una temperatura intermedia entre 30 ° y 130 °C (45 °, 55 °, 60 °, 65 °, 70 °, 80 °, 85 °, 90 °, 100 °, 115 °C) a una velocidad de calentamiento de 5 °C/min, seguido por un enfriamiento rápido (200 °C/min) hasta alcanzar la temperatura inicial (30 °C), manteniendo el sistema 2 min a esta temperatura (estabilización del equipo) para finalmente calentar el sistema hasta 130 °C a una velocidad de 5 °C/min (Slade y Levine, 1988b).

El intervalo donde se localiza  $T_g$ , se identificó como la temperatura donde la línea base del termograma del segundo calentamiento se separó de la línea base del termograma del primer calentamiento, es decir, donde ocurre un cambio de la capacidad calorífica de la muestra en función de la temperatura en la cual se realizó el primer calentamiento (Slade y Levine, 1988b). Este procedimiento se utilizó en almidones no gelatinizados.

#### **2.2.5.5. Efecto de la Lisofosfatidilcolina (LPC) sobre las propiedades térmicas y estructurales del almidón nativo (ALL).**

Se preparó una solución disolviendo 93.2 mg de LPC en agua, obteniendo un peso final de un gramo (9.32% p/p). Esta solución se diluyó con agua desionizada hasta obtener soluciones de 0.46%, 0.93%, 2.33% y 4.66% de LPC (%p/p). En un portamuestras de acero inoxidable (No. de catalogo 319-0218 Perkin Elmer, Norwalk, CT., E.U.A.) se pesaron 5 mg de almidón nativo (ALL) adicionando 20 mg de solución de LPC (80% de agua), obteniendo muestras con concentraciones de LPC de 0%,

2.33%, 4.19%, 10.32%, 20% y 38% de LPC (% p/p en base al peso seco de almidón utilizado). Las muestras se analizaron en un DSC modulado (Modelo 2920 modulated DSC, TA Instruments Inc. New Castle, DE., E.U.A.) en modo estándar, previamente calibrado con Indio de acuerdo a las especificaciones recomendadas por el fabricante. La muestra se analizó con el siguiente programa de temperatura: calentamiento de 30 ° a 130 °C, manteniéndose 1 min a esta temperatura, posterior enfriamiento hasta 30 °C y manteniéndose esta temperatura por 2 min, calentando nuevamente hasta 130 °C. La velocidad de calentamiento y de enfriamiento fue de 5 °C/min en todos los casos. Todas las muestras se analizaron por duplicado. Se calcularon la temperatura de inicio ( $T_o$ ), el pico máximo ( $T_p$ ) y la temperatura final ( $T_f$ ) de las diferentes transiciones, así como la energía de transición ( $\Delta H$ ) utilizando la librería del DSC.

Las muestras se almacenaron por 14 días a 4 °C y después de su almacenamiento se volvieron a analizar por DSC calentándolas de 30 ° a 130 °C a una velocidad de 5 °C/min. Las temperaturas características y el  $\Delta H$  de las transiciones presentes se evaluaron utilizando la librería del DSC.

Adicionalmente, se evaluaron microscópicamente los cambios estructurales del ALL durante el tratamiento térmico aplicado en el DSC. Para tal efecto, muestras adicionales se prepararon de acuerdo a lo descrito anteriormente, para lograr concentraciones de LPC al 0%, 2.33%, 20% y 38% (% p/p en base al peso seco de almidón) y un 80% de agua. El sistema se calentó a una velocidad de 5 °C/min hasta alcanzar una temperatura especificada (45 °, 50 °, 55 °, 60 °, 65 °, 70 °, 75 °, 80 °, 85 °, 90 °, 95 °, 100 ° y 130 °C) dentro del intervalo de 30 ° a 130 °C. Alcanzada esta temperatura, la muestra se enfrió a una velocidad de 200 °C/min hasta 30 °C, se congeló a -20 °C por 3 h, y se liofilizó (Liofilizadora Lyph-Lock 6, Labconco Corp., Kansas, E.U.A) a -40 °C y 50 mbar por 3.5 h. Finalmente, las muestras de almidón se observaron en el SEM siguiendo la metodología descrita en la sección V.2.2.1.

### **2.2.6. Propiedades mecánicas del almidón nativo (ALL).**

Todas las mediciones se realizaron en un espectrómetro mecánico UDS 200 marca Paar Physica (Anton Paar, Graz, Austria) utilizando el paquete UDS 200 versión V1.90 (Physica Mebtechnik GmbH, Stuttgart, Alemania) en modo oscilatorio. Se utilizó una geometría de placas paralelas de 50 mm de diámetro (MP 31, Paar Physica), a una separación de 0.5 mm, una frecuencia angular de  $10\text{s}^{-1}$  y una velocidad de calentamiento o enfriamiento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  en el intervalo de  $25\text{ }^{\circ}$  a  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ . La evaporación del agua durante todos los análisis se evitó colocando una cámara cerrada con ambiente saturado de agua (H.R. 100%) alrededor de la muestra.

Para determinar la región viscoelástica lineal (RVL) del almidón ALL, se realizaron barridos de deformación a diferentes temperaturas, dentro del intervalo de deformación indicado en la Tabla V.3 (RVL). Se preparó la suspensión de almidón en un tubo de ensaye para obtener un 80% de humedad (% p/p) y una concentración de LPC al 0%, 2.33% y 20% (% p/p en base a peso seco de almidón). La dispersión se colocó entre las placas y se realizó el análisis en el reómetro determinando la RVL como la región en la cual se observó un comportamiento lineal de los módulos ( $G'$  y  $G''$ ).

#### **2.2.6.1. Cinética de gelatinización y de retrogradación.**

Una vez obtenidas las RVL correspondientes a cada temperatura en particular, se procedió a programar el equipo para la medición de la cinética de gelatinización y retrogradación del almidón, utilizando el programa de temperaturas y deformaciones, dividido en intervalos mostrados en la Tabla V.3.

Tabla V.3. Temperatura e intervalo de deformación aplicados para determinar la región viscoelástica lineal (RVL) y evaluar la cinética de gelatinización y retrogradación.

Etapa de análisis	RVL		Cinética de gelatinización y retrogradación	
	Temperatura (°C)	Intervalo de deformación (%)	Temperatura (°C)	Deformación aplicada (%)
Calentamiento	50	0.1 – 100	25 – 50	70.00
	60	0.1 – 100	50.1 – 60	60.00
	65	0.01 – 10	60.1 – 65	3.00
	70	0.01 – 10	65.1 – 70	2.00
	80	0.01 – 10	70.1 – 80	1.50
	95	0.01 – 10	90.1 – 95	0.95
Isotérmico	1 min a 95	0.01 – 10	1 min a 95	0.92
Enfriamiento	90	0.01 – 10	95 – 90	0.90
	80	0.01 – 10	89.9 – 80	0.80
	25	0.01 – 10	79.9 – 25	0.75
	1 h a 25	0.01 – 10	1 h a 25	0.62
	2 h a 25	0.01 – 10	2 h a 25	0.50

## **VI. RESULTADOS Y DISCUSION**

### **1. Métodos químicos**

#### **1.1. Extracción de lípidos libres y cuantificación de ácidos grasos.**

El porcentaje de aceite extraído de las harinas antes de purificar los almidones sin lípidos libres y su composición de ácidos grasos se muestra en la Tabla VI.1. Como puede observarse el contenido de aceite es similar en la harina de maíz y en la harina instantánea nixtamalizada. Gómez-Aldapa et al. (1996) reportaron una disminución del 40% al 45% del extracto etéreo en productos obtenidos por medio del proceso de nixtamalización tradicional. En este estudio, el hecho de que ambos productos tengan la misma concentración de aceite puede estar asociado a que el proceso de nixtamalización industrial tiene un efecto menos drástico que el proceso de nixtamalización tradicional empleado por Gómez-Aldapa et al. (1996). Con respecto al perfil de ácidos grasos determinados en ambos aceites, se observa que es similar y que los ácidos grasos encontrados son característicos del aceite de maíz.

#### **1.2. Análisis químico de almidones.**

En la Tabla VI.2 se observan los resultados del análisis químico realizado a los cuatro almidones. El procedimiento para aislar el almidón fue eficiente, ya que se obtuvieron almidones de pureza aceptables (90% al 95%). De manera general, los almidones obtenidos de la harina de maíz no nixtamalizado tuvieron una mayor pureza que los nixtamalizados. El contenido de amilosa en todos los almidones varió entre el 21.5% y el 23.4%. De acuerdo a su contenido de amilosa estos se clasifican como almidones de maíz tipo normal, lo cual era de esperarse ya que este tipo de maíces son preferidos por los productores para elaborar harinas instantáneas de maíz nixtamalizado y en general de cualquier tipo de productos nixtamalizados, a excepción

Tabla VI.1. Porcentaje de aceite extraído y perfil de ácidos grasos<sup>a</sup>.

	Maíz	Harina instantánea <sup>a</sup>
% Aceite en la muestra (% p/p)	5.01 ± 0.17	5.29 ± 0.26
Acidos grasos (%p/p) <sup>b</sup>		
Palmítico	10.63 ± 0.03	10.64 ± 0.06
Estearico	1.58 ± 0.01	1.61 ± 0.00
Oleico	33.60 ± 0.03	33.80 ± 0.05
Linoleico	51.71 ± 0.05	51.60 ± 0.07
Linolénico	0.51 ± 0.25	0.60 ± 0.02
Araquidónico	1.53 ± 0.03	1.43 ± 0.11
Otros	0.33 ± 0.05	0.33 ± 0.05

<sup>a</sup> Media ± desviación estándar.

<sup>b</sup> Expresados en porcentaje en base al aceite extraído.

Tabla VI.2. Análisis químico de los almidones<sup>a</sup>.

Almidón <sup>b</sup>	Almidón (%)	Amilosa <sup>c</sup> (%)	Calcio (μg)	Fósforo (μg)	Proteína (%)	Humedad (%)
ALL	95.6 ± 2.8	22.4 ± 1.1	31.0 ± 2.4	125.4 ± 0.4	nd	6.8 ± 0.1
ASLL	95.0 ± 3.4	23.4 ± 1.6	35.2 ± 3.6	136.2 ± 2.4	1.5 ± 0.0	5.1 ± 0.5
ANLL	90.0 ± 2.2	21.5 ± 0.3	122.0 ± 19.5	419.4 ± 38.9	0.3 ± 0.0	10.1 ± 0.3
ANSLL	94.6 ± 3.1	22.4 ± 1.1	44.7 ± 5.8	194.7 ± 5.7	0.9 ± 0.0	5.6 ± 0.2

<sup>a</sup> Media ± desviación estándar. Todas las determinaciones están reportadas en base seca, con excepción de la humedad.

<sup>b</sup> ALL, Almidón nativo; ASLL, Almidón nativo sin lípidos libres; ANLL, Almidón nixtamalizado con lípidos libres y ANSLL, Almidón nixtamalizado sin lípidos libres.

<sup>c</sup> Determinada a partir del almidón total. La amilopectina puede calcularse por diferencia

nd, no detectado.

del pozole. Este último se elabora principalmente con maíz cacahuaxintle. La concentración de calcio y fósforo en los cuatro almidones se muestra en la Tabla VI.2. Las diferencias encontradas en la concentración de estos dos componentes se atribuyó al proceso de nixtamalización, el cual utiliza cal grado alimentario donde las sales de fósforo son un contaminante común. Así, los almidones ANLL y ANSLL fueron los que presentaron las más altas concentraciones de Ca y P mientras que los almidones ALL y ASLL presentaron las más bajas. La disminución en la concentración de ambos minerales en ANSLL se atribuyó al proceso de extracción de los lípidos libres de la harina nixtamalizada realizado antes de aislar el ANSLL. En los almidones nativos (ALL vs ASLL) no se observó ningún cambio en la concentración del Ca y P por efecto del proceso de extracción de los lípidos libres, ya que estos minerales son parte integral de las macromoléculas que constituyen el almidón o de los lípidos que están asociados al mismo (lípidos dentro del gránulo), los cuales están constituidos principalmente por lisofosfolípidos (lo cual se relaciona directamente con el contenido de P presente en el almidón) y son extraídos solamente usando solventes polares bajo condiciones extremas (ej., alta temperatura). Así, retomando el contenido de P en los almidones nativos (ALL y ASLL) y de acuerdo a Morrison (1988), se tiene que el contenido de lisofosfolípidos (ej., lisofosfatidil - colina) en el almidón esta relacionado directamente al contenido de fósforo presente en el mismo. Así, la concentración de lisofosfolípidos fue de 206 y 223 mg por cada 100 g de almidón en ALL y ASLL, respectivamente. Estos valores fueron calculados utilizando el factor de 16.39 establecido por Morrison (1988) para convertir el contenido de fósforo a contenido de lisofosfolípidos en el almidón de maíz. Estas concentraciones están de acuerdo con las reportadas para el almidón normal de maíz (Morrison, 1988).

La concentración de proteína de los almidones aislados, la cual es un indicativo de la pureza de los almidones obtenidos, se muestra en la Tabla VI.2. Los almidones que se sometieron al proceso de extracción de lípidos libres (ASLL y ANSLL) tienen las más altas concentraciones de proteína, esto puede deberse al hecho de que el proceso

de extracción al eliminar un componente eleva la concentración de los componentes restantes. De manera general puede decirse que el proceso de aislamiento utilizado fue eficiente, ya que se logró obtener almidones con una baja concentración de proteína (<1.5%).

## **2. Métodos físicos.**

### **2.1. Microscopia electrónica de barrido de almidones iniciales.**

Las microfotografías de los cuatro almidones se pueden observar en las Figuras VI.1 y VI.2. La forma poligonal tradicional del almidón de maíz fue aparente en todos los almidones analizados. Sin embargo, en los almidones obtenidos de harinas nixtamalizadas (ANLL y ANSLL, Figuras VI.1B y VI.1D) se observó un cambio en la forma original de los gránulos, es decir fue evidente la presencia de gránulos de almidón que fueron dañados por el proceso de nixtamalización. Lo cual se debe a que durante el proceso de nixtamalización, se lleva a cabo un hinchamiento parcial y la fusión de los gránulos de almidón que se localizan en la parte externa del endospermo del grano de maíz, por efecto del tratamiento hidrotérmico – alcalino del proceso de nixtamalización. El proceso de extracción de los lípidos libres de las harinas no afecta visiblemente la estructura del gránulo de almidón (ALL vs ASLL, Figuras VI.1A y VI.1C). Sin embargo fue evidente una menor aglomeración de los gránulos en los almidones ASLL y ANSLL (Figuras VI.1C y VI.1D) en comparación con la observada en los almidones ALL y ANLL (Figuras VI.1A y VI.1B). Se observó una sustancia particular sobre la superficie de los gránulos en los almidones que contenían lípidos libres (es decir ALL y ANLL, flechas en las Figuras VI.2A y VI.2B), la cual actúo como un agente aglomerante sobre los gránulos de almidón. Esta sustancia podría estar relacionada con los lípidos que no están asociados al almidón (es decir, lípidos libres), los cuales podrían estar interaccionando con pequeñas cantidades de material proteínáceo del endospermo sobre la superficie de los gránulos, promoviendo su aglomeración. Esta

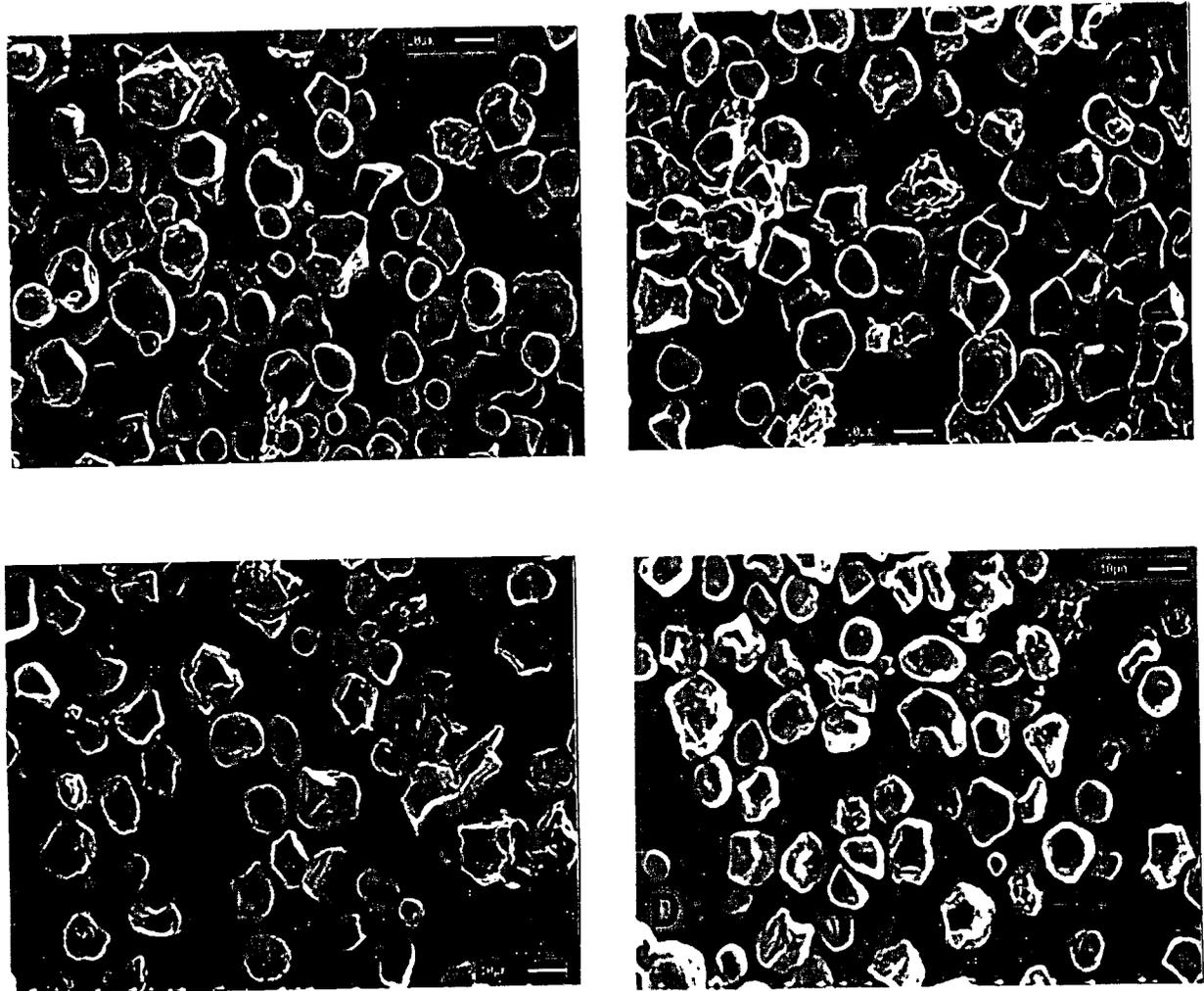


Figura VI.1. Microfotografías de los cuatro almidones a 800 aumentos. A, Almidón nativo (ALL); B, Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL); C, Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL) y D, Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL).

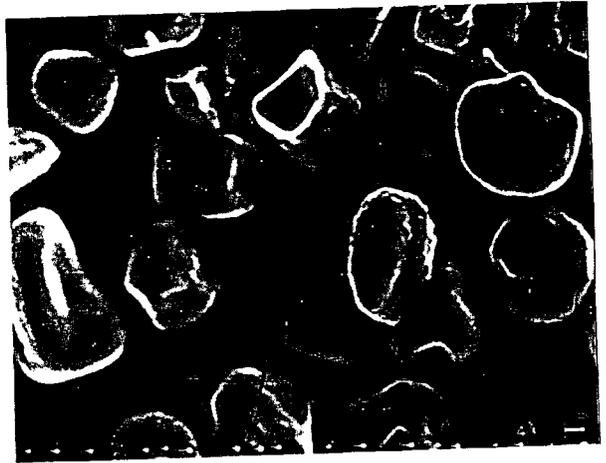
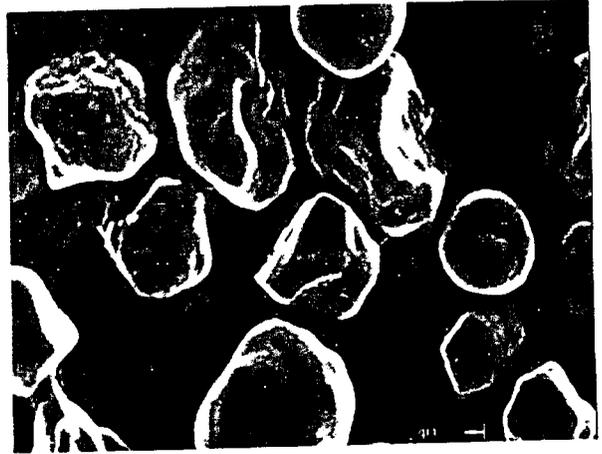
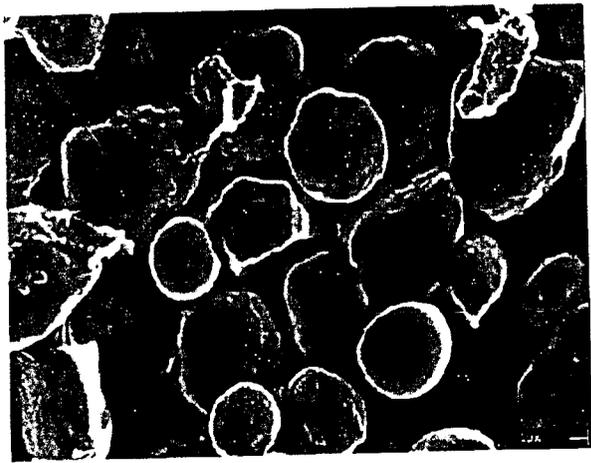


Figura VI.2. Microfotografías de los cuatro almidones a 2000 aumentos. A, Almidón nativo (ALL); B, Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL); C, Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL) y D, Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL).

sustancia no fue evidente en la superficie de los almidones donde se extrajeron los lípidos libres (ASLL y ANSLL, Figuras VI.2C y VI.2D), aunque una ligera cantidad de material fue visible en varios gránulos de almidones ANSLL. Sin embargo, en este caso el material podría estar asociado a la amilosa que es lixiviada de los gránulos parcialmente gelatinizados (almidón dañado) por efecto del proceso de nixtamalización.

## **2.2. Isotermas de sorción.**

Las isotermas de sorción de todos los almidones se muestran en la Figura VI.3. La ecuación de GAB ajusta los datos experimentales (Tabla VI.3) de manera adecuada, lo cual es evidente con los valores de  $R^2$  obtenidos, ya que estos fueron mayores que 0.987. En general, los valores de  $C_1$  y  $C_2$  están dentro del intervalo de valores reportado por Lewicki (1997), en el cual, los valores calculados para la concentración de agua en la monocapa no difieren por más de  $\pm 15.5\%$  del valor real. El proceso de extracción de los lípidos libres disminuyó el valor de la monocapa ( $X_0$ ) y aumentó el valor de las constantes de la ecuación de GAB; particularmente el valor de  $C_2$  de los almidones sin lípidos libres (ASLL y ANSLL) en comparación con los valores obtenidos para los almidones sin extracción de estos. De esta manera, se puede apreciar que el proceso de extracción de los lípidos libres tiene un efecto similar sobre el valor de  $X_0$  de los almidones nativo y nixtamalizado (Diosady et al., 1996), esto es, que las moléculas de agua de la monocapa están más fuertemente ligadas en los almidones sin lípidos libres (ASLL y ANSLL) en que en los almidones con lípidos libres (ALL y ANLL)

## **2.3. Difracción de rayos X.**

Los almidones de maíz presentan el patrón de difracción tipo A típico de los almidones de cereales (Figura VI.4; Zobel, 1988a, b). La extracción de los lípidos libres no afectó el grado de cristalinidad en los almidones ASLL y ANSLL al compararlos con los almidones a los cuales no se les extrajeron los lípidos libres (Figura VI.4). Sin

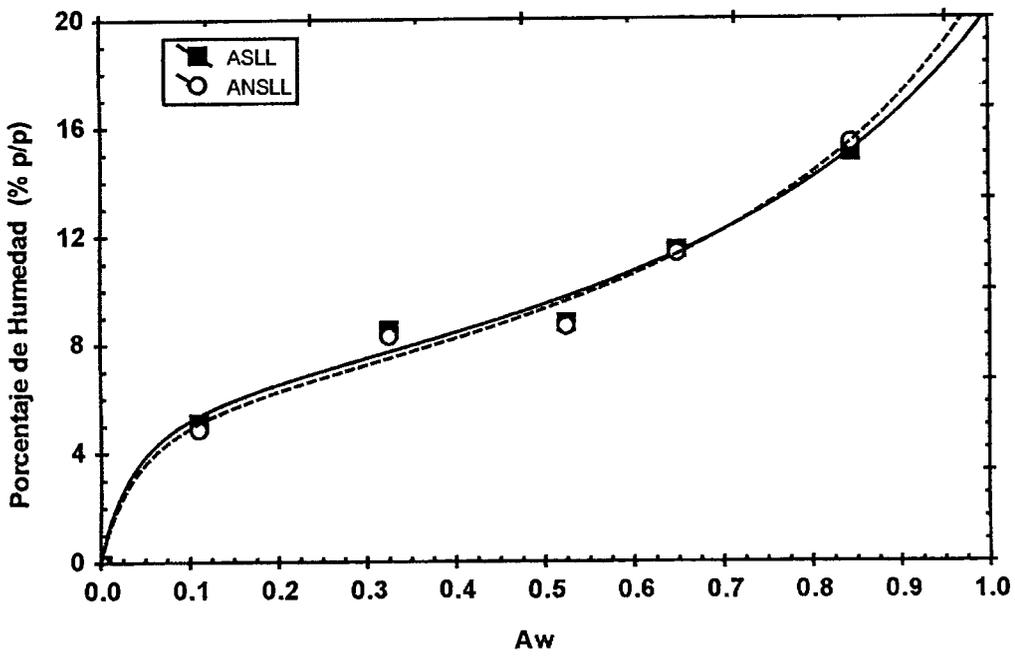
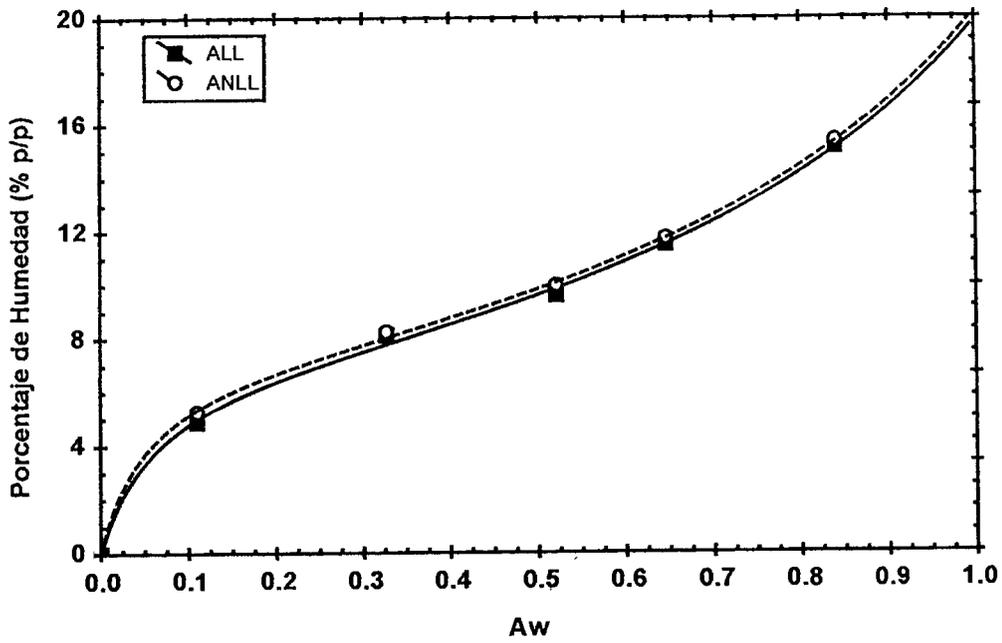


Figura VI.3. Isothermas de sorción de los cuatro almidones Almidón nativo (ALL), Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL), Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL) y Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL).

Tabla VI.3. Contenido de humedad de monocapa ( $X_0$ ) y las constantes de GAB ( $C_1$  y  $C_2$ ) para las isotermas de sorción (30 °C) de los almidones de maíz.

Almidón <sup>a</sup>	$X_0$ (% p/p)	$C_1$	$C_2$	$R^2$
ALL	7.03	0.653	24.896	0.9982
ASLL	6.59	0.679	37.555	0.9874
ANLL	7.10	0.654	29.938	0.9996
ANSLL	6.34	0.707	33.279	0.9896

<sup>a</sup> ALL, Almidón nativo; ASLL, Almidón nativo sin lípidos libres; ANLL, Almidón nixtamalizado con lípidos libres y ANSLL, Almidón nixtamalizado sin lípidos libres.

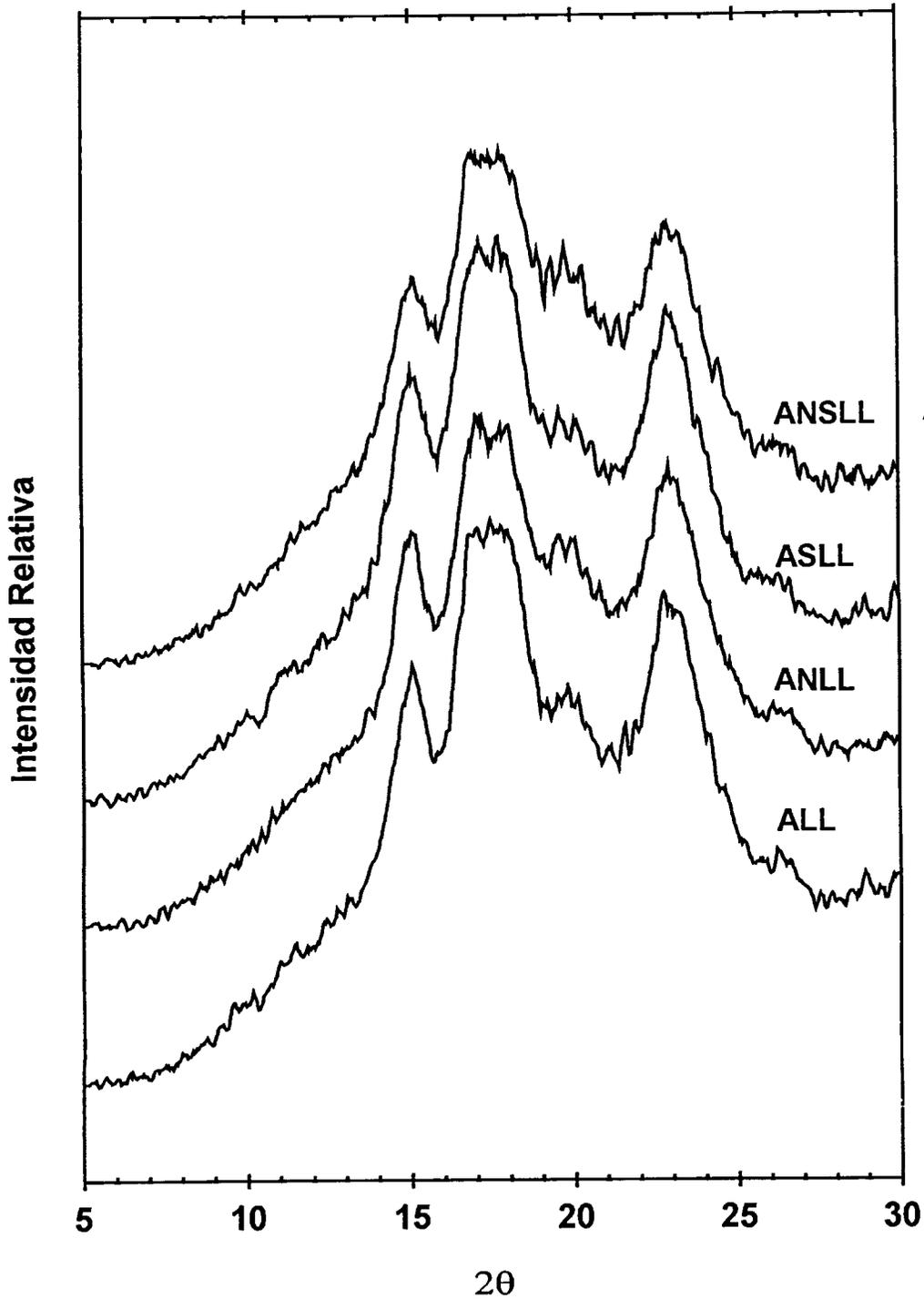


Figura VI.4. Patrón de difracción de rayos X de los cuatro almidones. Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL), Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL), Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL) y Almidón nativo (ALL).

embargo, el proceso de nixtamalización industrial afectó el grado de cristalinidad de los almidones, es decir, tuvo un efecto sobre la organización de las moléculas del almidón. Esto fue evidente al comparar los difractogramas de los almidones nativos contra los de los nixtamalizados. En estos últimos se puede observar una disminución de la intensidad relativa (área bajo el pico) y de definición de los picos de difracción. Por ejemplo, la región de  $14.0^\circ \leq 2\theta \leq 19.0^\circ$  del patrón de difracción de rayos X del ANLL se define menos que en el difractograma del ALL, lo cual puede ser asociado directamente a la cantidad de gránulos de almidón que fueron dañados por efecto del proceso de nixtamalización presentes en ANLL (Figura VI.1B y VI.2B). Por otro lado, no se obtuvo evidencia a partir de los patrones de difracción de rayos X, que muestre que el proceso industrial de nixtamalización, propicie la formación del complejo amilosa – lípidos en los almidones. Es decir, en los difractogramas obtenidos no se observa la presencia del patrón de tipo V correspondiente a dicho complejo. Ya que al incrementarse el contenido del complejo amilosa – lípidos en los almidones con patrones de difracción de rayos X tipo A, se producen cambios significativos en la relación de intensidad en la región de difracción de  $19.0^\circ \leq 2\theta \leq 23.0^\circ$  y se observan dos picos más a valores del ángulo  $2\theta \approx 7.0^\circ$  y  $2\theta \approx 13.0^\circ$  (Gernat et al., 1993). Estos cambios no fueron observados en los patrones de difracción de rayos X correspondientes a los almidones nixtamalizados (ANLL y ANSLL), tampoco en los correspondientes a los almidones nativos (ALL y ASLL). Aunque estos datos no indican que el complejo no se forme, ya que la cantidad de complejo amilosa – lípido formado por el proceso de nixtamalización puede estar por debajo del nivel de detección de la técnica de rayos X. Por ejemplo, Morrison et al. (1993) reportaron la presencia del complejo amilosa – lípido en almidones nativos de cebada detectado por resonancia magnética nuclear de sólidos, a pesar de que estos complejos no fueron detectados por medio de la técnica de difracción de rayos X.

## **2.4. Microscopia óptica de luz polarizada.**

Los almidones analizados en el microscopio óptico de luz polarizada mostraron la cruz de malta (birrefringencia), lo cual es indicativo del orden interno de los gránulos de almidón. Al calentar las suspensiones de los diferentes almidones en la platina desde 35 ° hasta 110 °C a una velocidad de 5 °C/min y graficar el porcentaje de luz transmitida en función de la temperatura, se observó una disminución del porcentaje de luz transmitida. Esta disminución corresponde con la desaparición de la cruz de malta, observada en la mayoría de los gránulos de almidón a temperaturas entre 55 ° y 75 °C (Figura VI.5), esto es, donde ocurre el proceso de gelatinización del almidón de maíz (Biliaderis, 1991a). Ya que al existir una distribución de tamaños de partícula (diferente tamaño de gránulos) cada gránulo en particular tiene una temperatura de gelatinización o de pérdida de birrefringencia en particular (Fisher y Thompson, 1997).

## **2.5. Propiedades térmicas de los almidones.**

En los termogramas obtenidos de las suspensiones de almidón por encima de 80 °C, se observó un pico endotérmico con valores de  $T_p \approx 90^\circ - 94^\circ\text{C}$  y  $\Delta H \approx 18.4 - 52.7 \text{ J/g}$  (Figura VI.6, termograma D). Dicha transición se asoció al proceso de oxidación del aluminio del portamuestra tanto en la celda de muestra como en la de referencia por efecto del oxígeno disuelto en el agua. Esta transición tiene un sentido endotérmico, debido a que es en la celda de referencia donde existe mayor concentración de agua en comparación con el agua presente en la celda de muestra. Cuando no se usa agua en el portamuestras de referencia (Figura VI.6, termograma B), se observa la oxidación correspondiente al portamuestras de aluminio con muestra, en forma de un pico exotérmico. Esta transición fue asociada al proceso de oxidación del aluminio después de analizar los resultados obtenidos para el agua pura. En la Figura VI.6, líneas A, C y E muestran los termogramas del agua, obtenidos en las mismas condiciones que el de los almidones analizados. En estos se puede observar el

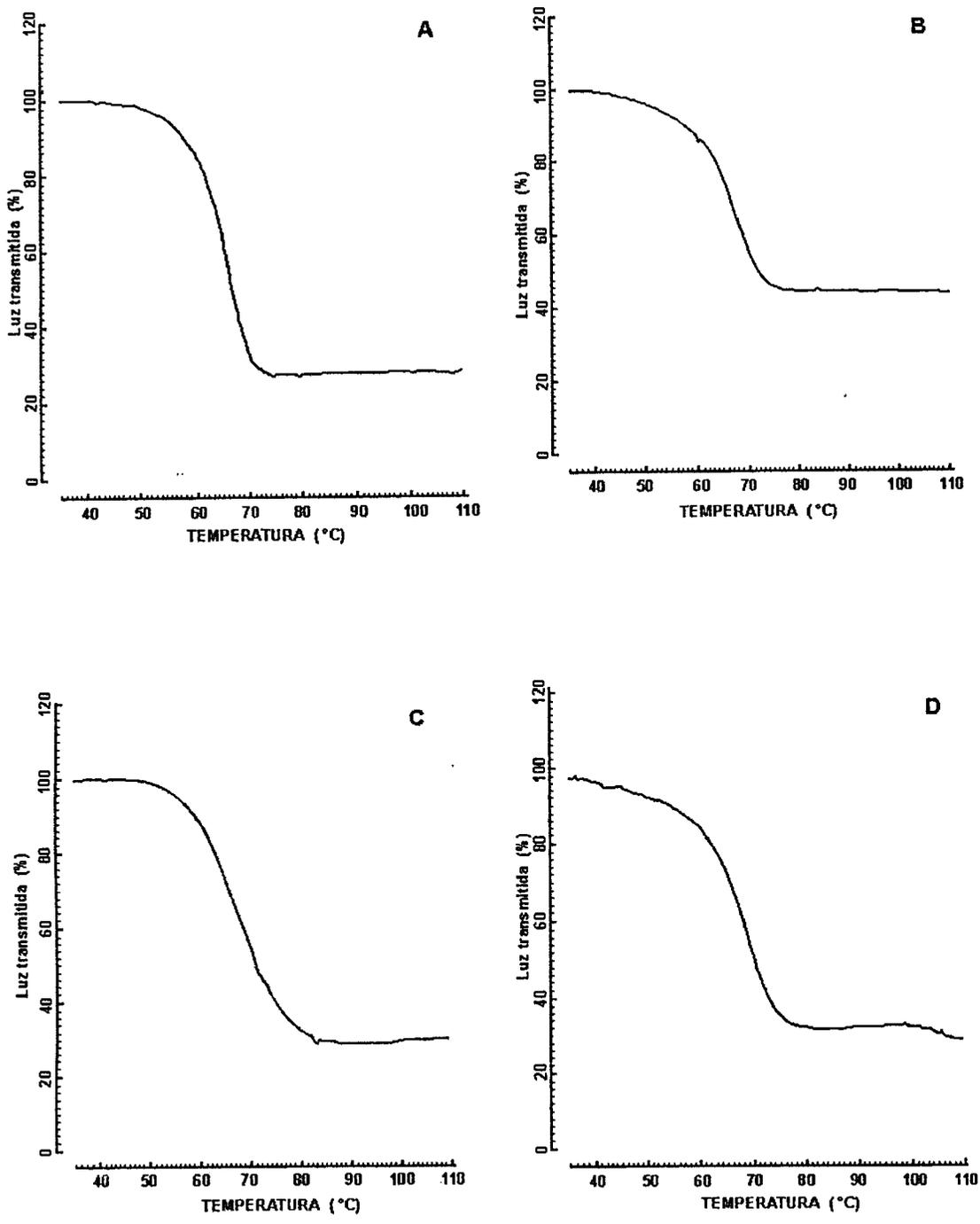


Figura VI.5. Gráficas del porcentaje de luz transmitida en función de la temperatura de los cuatro almidones. A, Almidón nativo (ALL); B, Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL); C, Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL) y D, Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL).

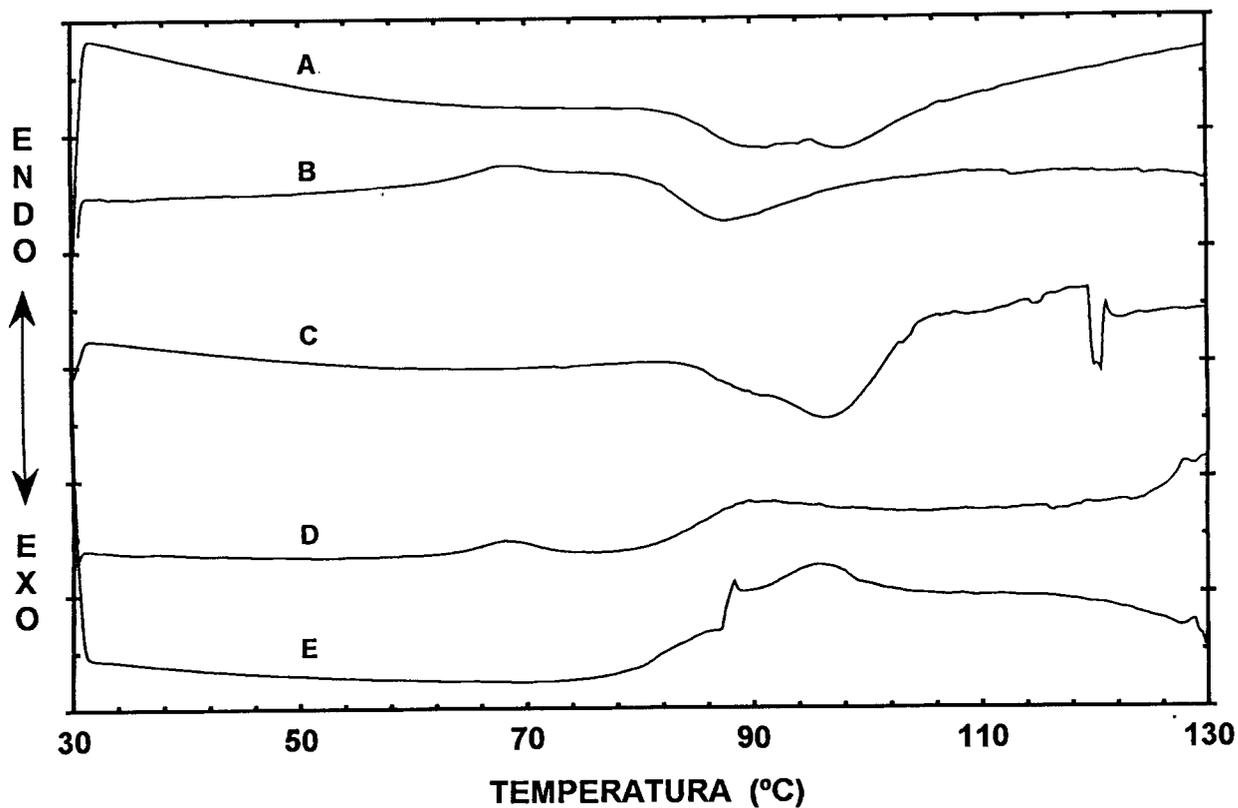


Figura VI.6. Termogramas del agua en portamuestras de aluminio. A, agua en el portamuestras muestra; B, Almidón nativo (ALL) sin agua en la celda de referencia; C, agua colocada en ambos portamuestras; D, ALL con agua en la celda de referencia y E, agua colocada en el portamuestras referencia; .

cambio del sentido de la transición en el termograma por efecto de la oxidación del aluminio en función de la posición del agua durante el análisis. Así, el proceso de oxidación podría dar por resultado la obtención de termogramas con endotermas presentes después de las endotermas asociadas a la fusión de los cristalitas en los gránulos del almidón. En algunos casos, esta endoterma de oxidación del aluminio se ha asociado erróneamente a procesos tales como la disociación del complejo amilosa – lípidos, el efecto de la concentración de agua sobre la fusión del almidón o la presencia de fracciones de almidón de elevado valor de temperatura de gelatinización (Sanders et al., 1990; Seow y Teo, 1993; Grant, 1998). Estos resultados deben ser analizados con las consideraciones pertinentes, para en el futuro no confundir estos resultados de oxidación del aluminio con procesos de fusión o cristalización de cualquier material en el cual exista agua durante su análisis calorimétrico.

### **2.5.1. Velocidad de calentamiento.**

En la Figura VI.7 se muestran los termogramas y en la Figura VI.8 los valores de  $T_o$ ,  $T_p$ ,  $T_f$  y  $\Delta H$  del ALL en función de la velocidad de calentamiento. Como puede observarse existe una relación lineal directa ( $r = 0.99$ ) entre los valores de  $T_o$ ,  $T_p$  y  $T_f$  y la velocidad de calentamiento. Por otro lado, el valor de  $\Delta H$  de gelatinización disminuyó conforme la velocidad de calentamiento decreció hasta alcanzar un equilibrio a una velocidad de 10 °C/min y 5 °C/min. Resultados similares se obtuvieron para los cuatro almidones analizados. Estos resultados están de acuerdo con los valores y las tendencias reportados por Liu y Lelièvre (1991).

Sobre la base del comportamiento de  $\Delta H$  se seleccionó la velocidad de 5 °C/min para realizar los análisis posteriores. En trabajos publicados anteriormente (Donovan, 1979; Biliaderis et al., 1986) se propone el uso de 10 °C/min para realizar los análisis de calorimetría, esto debido a que a velocidades menores el almidón podría sufrir un proceso de anillado (perfeccionamiento de la organización molecular) durante

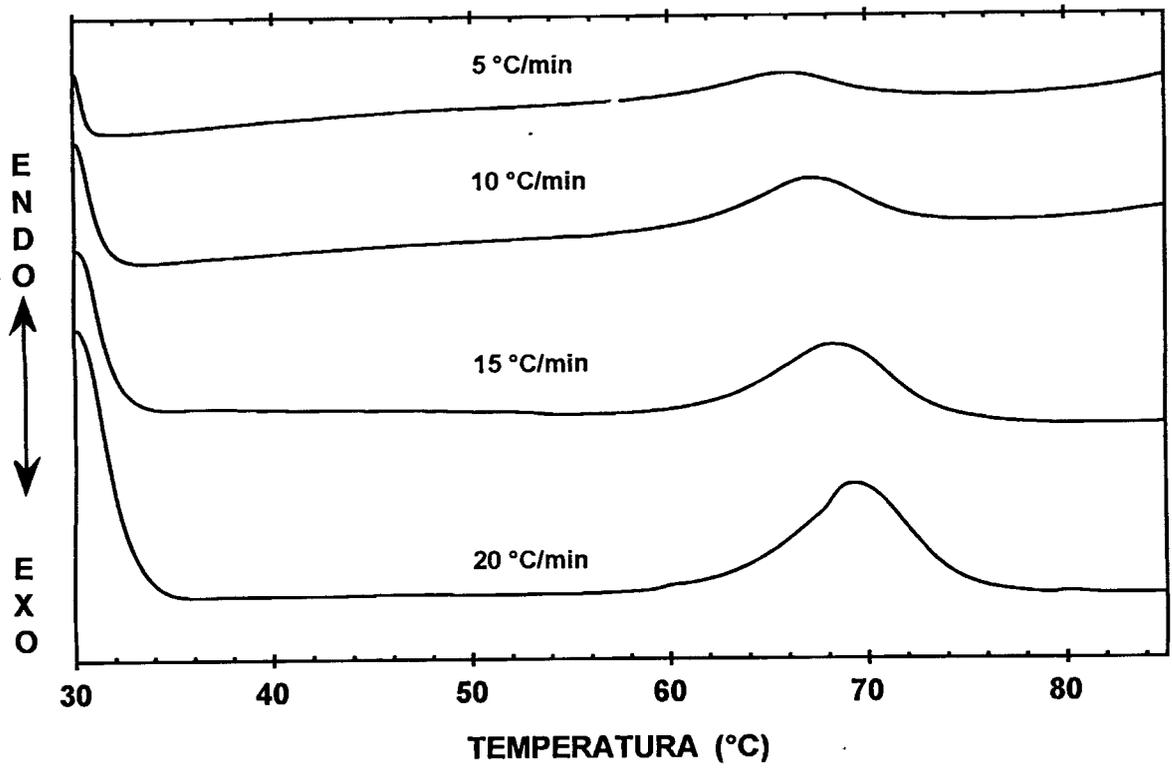


Figura VI.7 Termogramas del almidón nativo (ALL) determinados en función de la velocidad de calentamiento.

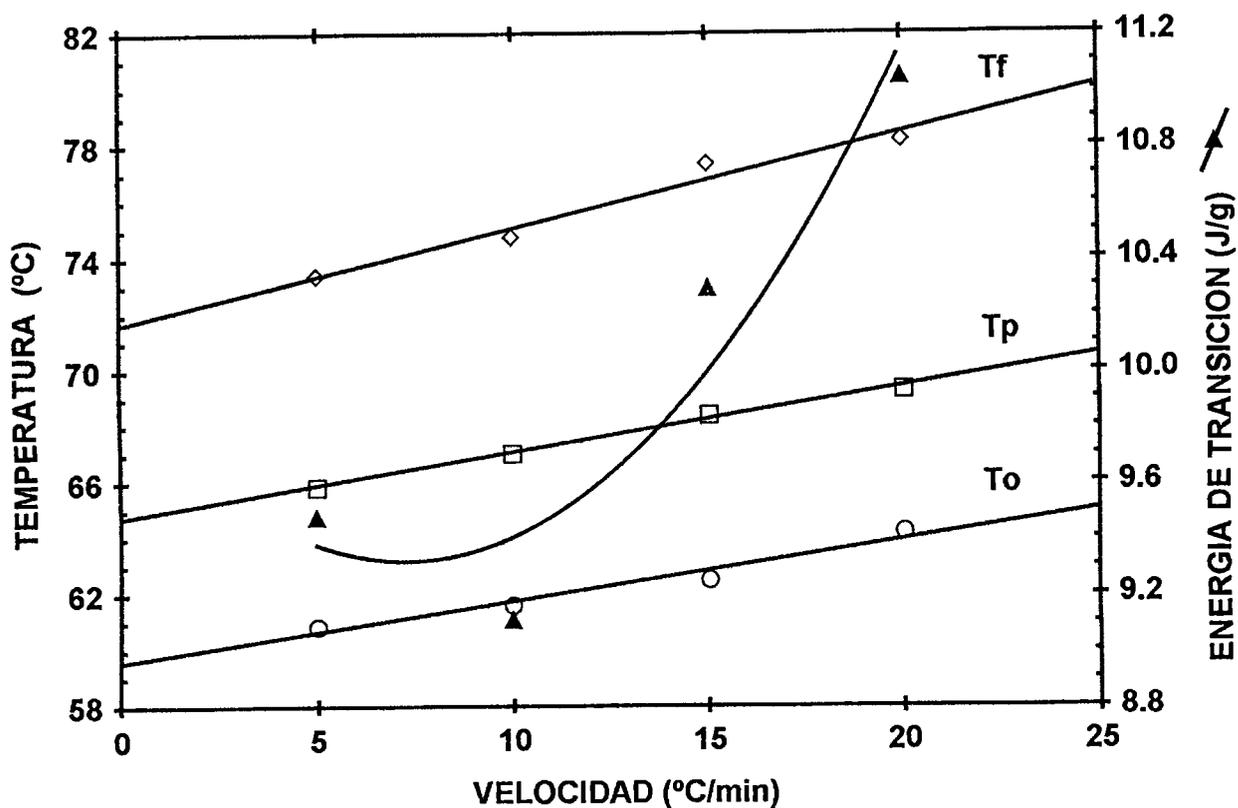


Figura VI.8. Propiedades térmicas del almidón nativo (ALL) determinadas en función de la velocidad de calentamiento. T<sub>o</sub>, Temperatura de inicio; T<sub>p</sub>, pico máximo y T<sub>f</sub>, Temperatura final. Energía de transición reportada en base a peso seco de almidón.

su calentamiento a bajas velocidades permitiendo a las moléculas que componen al gránulo de almidón reasociarse y recristalizar en una forma más estable. De acuerdo con Liu y Lelièvre (1991) tales condiciones fueron resultado de la falta de sensibilidad de los equipos utilizados más que por efecto de la respuesta térmica de las muestras, producidos por cambios en la velocidad a la cual se realizaba el análisis.

Así, los termogramas de los cuatro almidones determinados a una velocidad de 5 °C/min se muestran en la Figura VI.9. Los almidones de maíz obtenidos de diferentes variedades exhiben variaciones significativas en sus propiedades térmicas antes y después de tratamientos de anillado (Brockett et al., 1988; Krueger et al., 1987). Sin embargo, en el desarrollo del presente trabajo de investigación se usó la misma variedad de maíz y además se evitaron las condiciones de anillado durante el proceso de purificación de los almidones. De esta forma se evaluó solo el efecto del proceso de nixtamalización a nivel industrial. En los termogramas se observa una endoterma principal en todos los almidones (Figura VI.9) cuyos valores correspondientes de  $T_o$ ,  $T_p$ ,  $T_f$  y  $\Delta H$  se muestran en la Tabla VI.4. Esta endoterma representa el proceso de gelatinización del almidón (es decir, el hinchamiento y la transición de orden - desorden de la estructura granular del almidón), producida por la temperatura a medida que el agua se difunde desde la parte externa del gránulo hacia las regiones amorfas y cristalinas dentro del gránulo de almidón.

En general, el proceso de nixtamalización incrementó los valores de  $T_o$ ,  $T_p$  y  $T_f$  y disminuyó el valor del  $\Delta H$  de la endoterma de gelatinización del almidón (Tabla VI.4).

Los cambios en las propiedades térmicas de los almidones por efecto del proceso de nixtamalización (ANLL y ANSLL), pueden explicarse desde dos perspectivas diferentes. Primeramente, el proceso de nixtamalización tiene un efecto de anillado (Krueger et al., 1987; Knutson, 1990) sobre los gránulos de almidón dado que los valores de  $T_o$ ,  $T_p$  y  $T_f$  se incrementan como resultado de un proceso de reorganización de los componentes del almidón en una estructura más ordenada. Este proceso ocurre

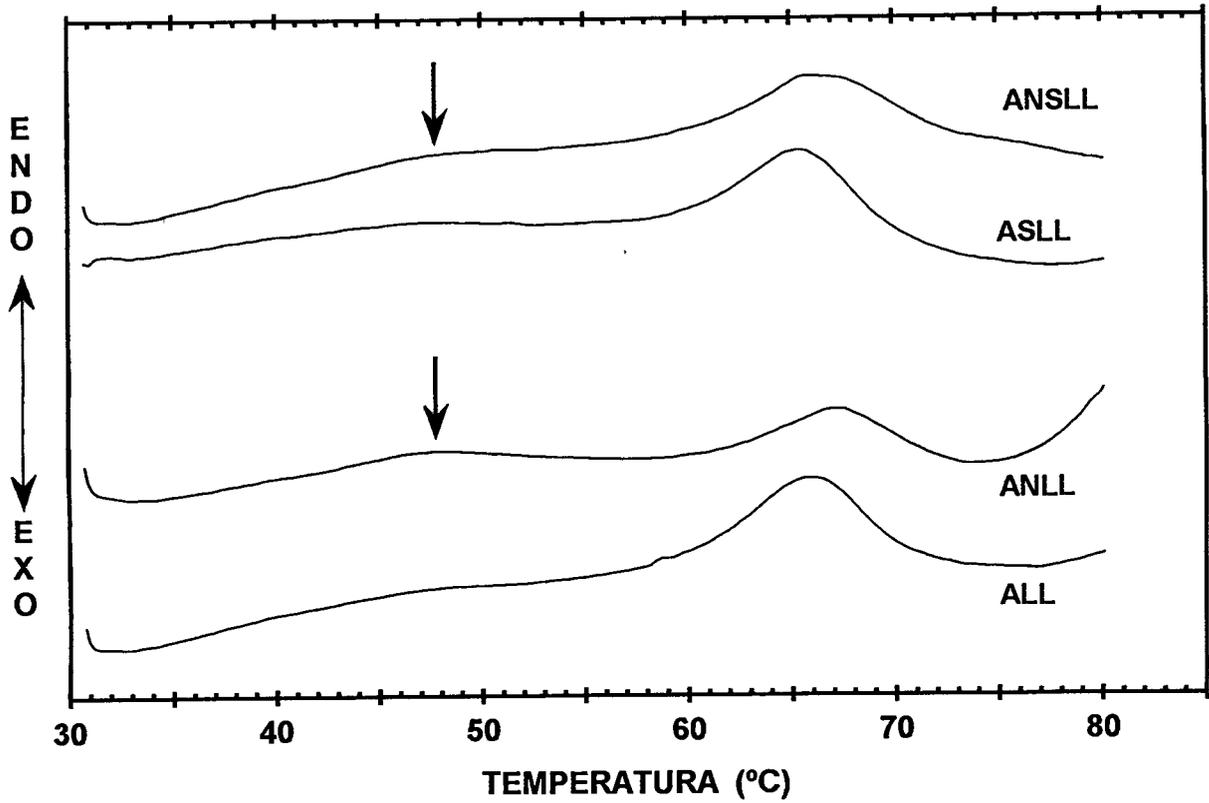


Figura VI.9. Termogramas de los almidones de maíz investigados. Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL), Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL), Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL) y Almidón nativo (ALL)

Tabla VI.4. Propiedades térmicas de los almidones de maíz (80% de humedad) investigados

Almidón <sup>a</sup>	$T_o$ (°C)	$T_p$ (°C)	$T_f$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)
ALL	60.88 ± 0.38	65.89 ± 0.05	73.38 ± 0.28	9.48 ± 0.72
ASLL	60.76 ± 0.15	65.67 ± 0.09	72.78 ± 0.57	7.81 ± 0.88
ANLL	62.22 ± 0.50	67.24 ± 0.05	74.53 ± 0.64	6.73 ± 1.71
ANSLL	61.93 ± 0.08	66.82 ± 0.18	75.03 ± 1.06	6.60 ± 0.21

<sup>a</sup> ALL, almidón nativo; ASLL, almidón nativo sin lípidos libres; ANLL, almidón nixtamalizado y ANSLL, almidón nixtamalizado sin lípidos libres.

$T_o$ , Temperatura de inicio;  $T_p$ , temperatura de pico máximo;  $T_e$ , Temperatura final y  $\Delta H$ , Energía de transición expresada en base peso seco de almidón.

a una temperatura menor a  $T_p$  tal y como lo han demostrado Krueger et al. (1987) utilizando el parámetro PHI (índice de altura de pico). Este valor se define como la relación entre el  $\Delta H/(T_p-T_o)$  por lo que la disminución del  $\Delta H$  observada después del proceso de nixtamalización (esto es, la disminución del valor del  $\Delta H$  de ANLL en contraste con el valor del  $\Delta H$  de ALL, Tabla Vi.4) muy seguramente es el resultado de la fusión de los gránulos de menor estabilidad térmica. En segundo lugar, el proceso de gelatinización se realiza en un intervalo de temperatura de aproximadamente 10 °C, debido a la existencia de gránulos con diferente tamaño (es decir, existe una distribución de tamaños de gránulos, Lineback, 1984; Paredes-López et al., 1990) y temperatura de gelatinización individual. Este proceso puede igualmente ocasionar que los valores de  $T_o$ ,  $T_p$  y  $T_f$  se incrementen al quedar únicamente los gránulos de almidón más resistentes.

Adicionalmente, en los termogramas de los almidones nixtamalizados (ANLL y ANSLL) se observó otra endoterma con valores de  $T_p$  alrededor de 46 ° – 47 °C. Esta endoterma representa el fenómeno de fusión de los gránulos de almidón que fueron dañados (es decir, gránulos de almidón parcialmente gelatinizados) durante el tratamiento térmico – alcalino del proceso de nixtamalización.

### **2.5.2. Contenido de humedad.**

En las Tablas VI.5, VI.6 y en la Figura VI.10 se presentan las propiedades térmicas de los almidones en función del contenido de humedad, utilizando una velocidad de calentamiento de 5 °C/min. Las temperaturas y  $\Delta H$  mostradas en las Tablas VI.5 y VI.6 corresponden a la endoterma del almidón dañado (parcialmente gelatinizado) por el proceso de nixtamalización e indicado con una flecha en los termogramas para ANLL y ANSLL en la Figura VI.9. Los valores de  $T_o$ ,  $T_p$  y  $T_f$  correspondientes a esta transición no se modificaron significativamente por cambios en

Tabla VI.5. Propiedades térmicas del almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL) determinadas a diferentes porcentajes de humedad.

Porcentaje de Humedad	$T_o$ (°C)	$T_p$ (°C)	$T_f$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)
40 %	39.65 $\pm 3.38$	47.14 $\pm 0.19$	52.58 $\pm 0.28$	0.58 $\pm 0.02$
50 %	42.02 $\pm 1.60$	47.43 $\pm 0.64$	52.43 $\pm 0.07$	1.04 $\pm 0.03$
60 %	42.50 $\pm 0.05$	47.04 $\pm 0.06$	52.58 $\pm 0.57$	0.83 $\pm 0.27$
80 %	42.58 $\pm 0.17$	47.36 $\pm 0.03$	53.28 $\pm 0.71$	1.01 $\pm 0.15$
90%	nd	nd	nd	nd

nd, no detectado.

Tabla VI.6. Propiedades térmicas del almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL) determinadas a diferentes porcentajes de humedad.

Porcentaje de Humedad	$T_o$ (°C)	$T_p$ (°C)	$T_f$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)
40 %	42.20 $\pm 4.12$	47.06 $\pm 0.07$	51.43 $\pm 1.91$	0.58 $\pm 0.65$
50 %	42.05 $\pm 0.24$	46.80 $\pm 0.30$	52.43 $\pm 0.07$	1.11 $\pm 0.02$
60 %	41.96 $\pm 0.13$	47.13 $\pm 0.17$	52.73 $\pm 0.35$	1.38 $\pm 0.22$
80 %	42.26 $\pm 0.325$	46.84 $\pm 0.36$	52.33 $\pm 0.21$	1.23 $\pm 0.01$

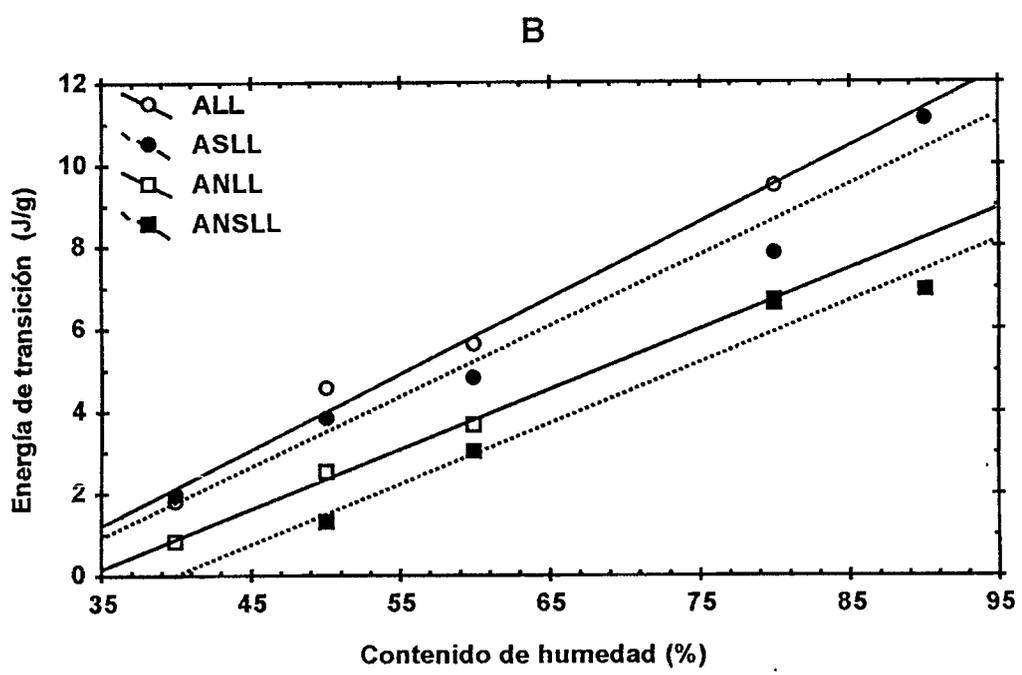
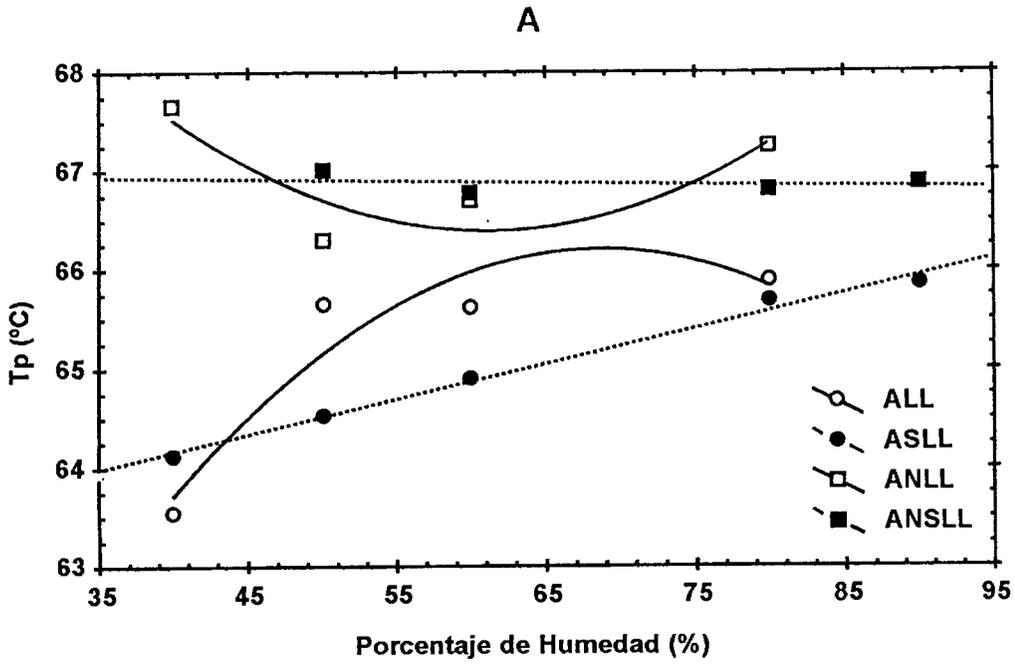


Figura VI.10. Cambios en la temperatura máxima de la endoterma de gelatinización [ $T_p$  (A)] y en la correspondiente energía de transición [ $\Delta H$  (B)] de los almidones en función del porcentaje de humedad. Almidón nativo (ALL), Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL), Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL) y Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL).

la concentración de agua entre el 40% y el 80% (% p/p). Sin embargo, al incrementar la concentración al 90%, esta endoterma desapareció, lo cual pudo deberse a que a esta concentración de agua la transición se llevó a cabo en un intervalo mucho más amplio de temperatura. Es decir, la endoterma fue más amplia y por lo tanto la definición (es decir, la resolución) del equipo no fue lo suficiente para poder realizar los cálculos correspondientes. Por otro lado, la energía de transición ( $\Delta H$ ) mostró sus valores más bajos a contenidos de humedad del 40%. En estas condiciones la cantidad de agua presente estuvo por debajo de la concentración requerida para que el proceso de gelatinización se efectuara en todos los gránulos de almidón dañados.

El efecto del contenido de agua sobre la temperatura máxima ( $T_p$ ) de la endoterma de gelatinización para los almidones investigados y el correspondiente valor del  $\Delta H$  se muestran en la Figura VI.10. A todas las concentraciones de agua se obtuvieron mayores valores de  $T_p$  (Figura VI.10A) en los almidones nixtamalizados (ANLL y ANSLL), lo cual es un indicativo más del efecto de anillado que presenta el proceso de nixtamalización sobre el almidón de maíz. Además, independientemente del proceso de nixtamalización, los valores de  $T_p$  correspondientes a los almidones sin lípidos libres (ASLL y ANSLL) presentaron un menor grado de variación. La aglomeración de los gránulos observados en ALL y ANLL (Figura VI.2A y VI.2B) produjeron un comportamiento térmico inconsistente (es decir, se obtienen temperaturas de pico de gelatinización variables). Además, el carácter hidrofóbico de los lípidos libres, depositados sobre la superficie de los gránulos de almidón podría estar asociado con la variación observada en  $T_p$  en función del contenido de humedad. Por otro lado, los almidones no nixtamalizados, con o sin lípidos libres (ALL y ASLL), mostraron una dependencia del valor de  $T_p$  con el contenido de agua en el sistema, el cual no fue evidente en los almidones nixtamalizados (ANLL y ANSLL) (Figura VI.10A). En los almidones no nixtamalizados, el proceso de gelatinización se vio limitado bajo condiciones de agua restringida. Esto es, a medida que la concentración de agua disminuyó, solo las regiones menos organizadas (es decir, menos cristalinas) de los

gránulos de almidón o solo los gránulos más termolabiles se gelatinizaron. Como resultado los valores de  $T_p$  correspondientes a la endoterma de gelatinización se registraron a más bajas temperaturas a medida que la concentración de agua disminuyó.

Por otro lado, el valor correspondiente al  $\Delta H$  de gelatinización de todos los almidones disminuyó a medida que disminuía el contenido de humedad (Figura VI.10B). Como era de esperarse los valores del  $\Delta H$  de los almidones nixtamalizados fueron menores a los de los no nixtamalizados. Esto independientemente de la presencia o ausencia de los lípidos libres. Sin embargo, todos los almidones mostraron una relación lineal positiva entre el  $\Delta H$  y la concentración de agua en el sistema ( $p < 0.05$ ). Nuevamente, esto mostró como a medida que la concentración de agua disminuye, solo las regiones y/o gránulos termolabiles se gelatinizaron. Resulta también evidente que para una misma humedad (ej., 80%) se requiere menos energía para gelatinizar un almidón nixtamalizado que uno no nixtamalizado; esto independientemente de la presencia o ausencia de lípidos libres.

### **2.5.3. Anillado a 30 °C a diferentes humedades relativas (H.R.).**

Como se mencionó anteriormente los almidones de maíz exhiben variaciones significativas en sus propiedades térmicas antes y después de tratamientos de anillado (Brockett et al., 1988; Krueger et al., 1987). El nivel de perfeccionamiento de las zonas cristalinas alcanzado por una muestra en particular depende de la temperatura, el tiempo y la concentración de humedad del sistema (Krueger et al., 1987; Larsson y Eliasson, 1991). En la Figura VI.11 se muestran los patrones de difracción de los almidones equilibrados 40 días a diferentes valores de  $A_w$  (30 °C, Tabla V.2). Al comparar estos difractogramas con los obtenidos de los almidones con tiempo cero de almacenamiento (Figura VI.4) se notó un cambio en los patrones de difracción de rayos X por efecto del tiempo de almacenamiento y la actividad acuosa empleada. Esto es, se observó un incremento en la resolución de los picos en la región de  $16^\circ < 2\theta < 25^\circ$  de

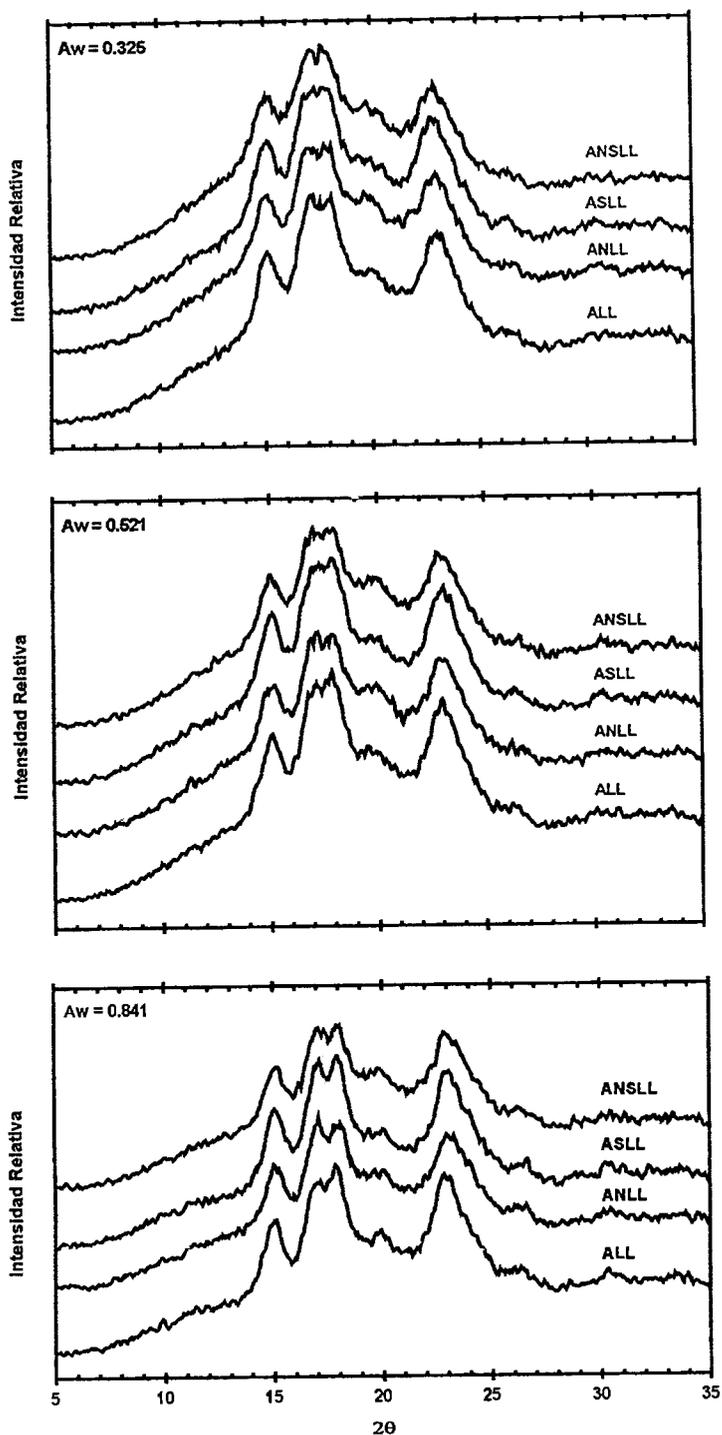


Figura VI.11. Patrón de difracción de rayos X de los almidones analizados después de 40 días de almacenamiento a 30 °C y la actividad acuosa señalada. Almidón nixtamalizado sin lípidos libres (ANSLL), Almidón nativo sin lípidos libres (ASLL), Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL) y Almidón nativo (ALL).

todos los almidones después de 40 días de almacenamiento a cualquier valor de  $A_w$  empleado. Este efecto se vio mas aparente en la región de  $16^\circ < 2\theta < 19^\circ$  en los difractogramas de los almidones almacenados a las más altas  $A_w$ . Estos resultados concuerdan con los datos reportados por Zobel (1988a, b) y por Lin y Czuchajowska (1998) los cuales observaron una mejor definición de los patrones de difracción de rayos X a medida que se incrementó el contenido de humedad. En la presente investigación, cuando la  $A_w = 0.841$  el contenido de humedad fue de aproximadamente 15% (Figura VI.3), mientras que cuando  $A_w = 0.11$  el contenido de humedad fue del 5% (p/p).

En las Tablas VI.7 y VI.8 se presentan las propiedades térmicas de los almidones no nixtamalizados (ALL y ASLL), determinados en función del tiempo de almacenamiento (39, 98 y 137 días) a diferentes valores de  $A_w$  (Tabla V.2). El análisis estadístico se realizó comparando los resultados correspondientes a la muestra control con los resultados obtenidos de las muestras almacenadas en función del tiempo y la humedad relativa. Los cambios observados en las propiedades térmicas de ALL (Tabla VI.7) en función del tiempo y la actividad acuosa muestran que los valores de  $T_o$ ,  $T_p$  y  $\Delta H$  se vieron afectados por el tiempo (tiempo de almacenamiento mayor de 40 días) y la humedad relativa de almacenamiento (diferencias estadísticas encontradas con valor  $p < 0.10$ ), en el valor de  $T_f$  no se observaron cambios significativos. Los datos correspondientes al ASLL se muestran en la Tabla VI.8, en este almidón se observaron diferencias significativas solo en los valores de  $T_p$ . El comportamiento diferente del ASLL en comparación con el de ALL puede explicarse en función de la presencia de los lípidos libres o por efecto del solvente utilizado para su extracción.

Los resultados obtenidos en el almidón nativo pueden servir de base para inferir los cambios que pueden llevarse a cabo por efecto de las condiciones de almacenamiento del grano o la harina en el almidón presente en los mismos, almacenados bajo condiciones controladas o no. De acuerdo a los resultados (Tabla

Tabla VI.7. Propiedades térmicas del almidón nativo (ALL) en función del almacenamiento a diferentes tiempos y valores de Aw.

Tiempo (días)	Aw	T <sub>o</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>f</sub> (°C)	ΔH (J/g)
0	Sin equilibrar	60.88 ± 0.38	65.89 ± 0.05	73.38 ± 0.28	9.48 ± 0.72
37	0.11	62.73* ± 0.16	66.29 ± 0.07	72.68 ± 0.85	6.81* ± 1.43
37	0.32	61.77 ± 1.32	65.56 ± 0.27	72.68 ± 1.27	7.03* ± 1.11
37	0.52	61.47 ± 0.15	66.16 ± 0.40	72.11 ± 1.10	6.71* ± 0.27
37	0.64	60.48 ± 1.65	66.30 ± 0.07	72.68 ± 1.27	5.64** ± 1.93
37	0.84	61.33 ± 0.40	66.43* ± 0.20	72.18 ± 0.07	6.43** ± 0.34
98	0.11	62.28 ± 0.15	66.66** ± 0.24	73.68 ± 0.42	8.13 ± 0.24
98	0.32	61.70 ± 0.35	67.07** ± 0.17	73.73 ± 0.78	7.87 ± 0.41
98	0.52	61.90 ± 0.01	66.83** ± 0.22	73.33 ± 0.35	6.29** ± 2.89
98	0.64	62.58* ± 0.06	67.49** ± 0.10	73.38 ± 1.41	5.84** ± 2.29
98	0.84	63.83** ± 0.87	67.40** ± 0.55	71.98 ± 0.71	6.67* ± 0.50
137	0.11	63.48 ** ± 1.93	66.44* ± 0.14	73.78 ± 0.28	9.35 ± 1.30
137	0.32	62.18 ± 0.83	66.42* ± 0.20	73.38 ± 1.13	6.83* ± 1.48
137	0.52	61.72 ± 0.27	66.90** ± 0.14	72.98 ± 0.57	6.12** ± 1.52
137	0.84	63.09** ± 1.13	67.81** ± 0.57	73.58 ± 0.57	6.93* ± 0.15

\*, diferencia significativa al 90% de confianza; \*\*, diferencia significativa al 95% de confianza.

Tabla VI.8. Propiedades térmicas del almidón nativo sin lípidos libres (ASLL) en función del almacenamiento a diferentes tiempos y valores de  $A_w$ .

Tiempo (días)	$A_w$	$T_o$ (°C)	$T_p$ (°C)	$T_f$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)
0	Sin equilibrar	60.76 ± 0.15	65.67 ± 0.09	72.78 ± 0.57	7.81 ± 0.88
39	0.11	62.34 ± 2.37	65.29 ± 0.06	71.41 ± 0.32	6.16 ± 0.86
39	0.32	60.42 ± 0.09	65.58 ± 0.09	71.73 ± 0.64	6.41 ± 1.08
39	0.52	60.76 ± 0.06	65.54 ± 0.28	72.38 ± 0.64	7.72 ± 0.73
39	0.64	61.36 ± 0.84	66.24 ± 0.32	71.43* ± 0.28	6.12 ± 0.47
39	0.84	61.94 ± 1.72	66.22 ± 1.05	72.38 ± 0.85	7.33 ± 1.10
98	0.11	61.47 ± 0.13	66.49* ± 0.02	74.03* ± 0.07	9.45 ± 1.36
98	0.32	61.31 ± 0.39	66.41 ± 0.32	74.43** ± 0.35	9.07 ± 1.60
98	0.52	62.31 ± 1.67	67.24** ± 0.59	73.33 ± 0.49	7.67 ± 0.30
98	0.64	63.76* ± 4.37	67.02** ± 0.87	73.13 ± 0.21	9.62 ± 0.40
98	0.84	61.86 ± 0.47	66.58* ± 0.34	73.83 ± 0.49	8.31 ± 0.24
137	0.11	61.78 ± 0.40	66.43 ± 0.27	73.08 ± 1.27	7.47 ± 2.86
137	0.32	61.49 ± 0.28	66.54* ± 0.32	73.28 ± 1.27	8.26 ± 0.51
137	0.52	61.04 ± 0.11	66.21 ± 0.15	73.43 ± 0.21	8.91 ± 0.35
137	0.84	61.24 ± 0.25	66.69** ± 0.41	73.13 ± 0.21	6.75 ± 0.98

\*, diferencia significativa al 90% de confianza; \*\*, diferencia significativa al 95% de confianza.

VI.7) se mostró que el proceso de anillado ocurre a tiempos mayores de 40 días a las condiciones probadas (30 °C, diferentes valores de  $A_w$ ) durante el experimento, lo cual también puede ocurrir en las etapas de almacenamiento y comercialización de las harinas instantáneas de maíz nixtamalizado, donde las condiciones de almacenamiento real (temperatura, tiempo y humedades relativas de almacenamiento) son más drásticas y extremosas, inclusive pueden ocasionar un nivel de anillado mayor.

#### **2.5.4. Temperatura de transición vítrea.**

La temperatura de transición vítrea,  $T_g$ , determina la temperatura de inicio de la gelatinización del almidón nativo. Además, se cree que el proceso de anillado ocurre solo cuando el almidón es calentado a temperaturas por encima de  $T_g$  pero no suficientemente altas para producir la gelatinización del mismo (es decir,  $T_g < T < T_p$ ). La temperatura de transición vítrea determinada en los almidones ALL y ANLL sin previa gelatinización se observan en la Figura VI.12. El valor de  $T_g$  para el ALL se determinó entre 60 ° y 62.5 °C, intervalo de temperatura en el cual se produce el cambio en el valor del  $C_p$  de la muestra de almidón. Mientras que en el ANLL se detectaron dos intervalos que se asociaron a transiciones de segundo orden, la primera correspondiente al valor de  $T_g$  de los gránulos de almidón dañados (45 ° – 55 °C) y la segunda al almidón anillado (65 ° – 70 °C), ambos cambios producidos por efecto del proceso de nixtamalización industrial. Sin embargo, el valor de  $T_g$  determinado en este estudio es, en efecto, un  $T_g$  operativo de los almidones aislados establecido por las condiciones de tiempo-temperatura (es decir, la velocidad de calentamiento usada) y el efecto plastificante del agua. La razón de esto es el cambio constante del contenido de humedad dentro del almidón a medida que el agua se difunde del exterior (es decir, 100% de humedad) hacia el interior del gránulo (6.8% para ALL y 10.1% para ANLL).

El valor de  $T_g$  del almidón amorfo completamente plastificado por efecto del agua, el cual es conocido como  $T_g'$  y que es definido por el contenido de humedad del sistema (Slade y Levine, 1988b), determina la velocidad de retrogradación del mismo

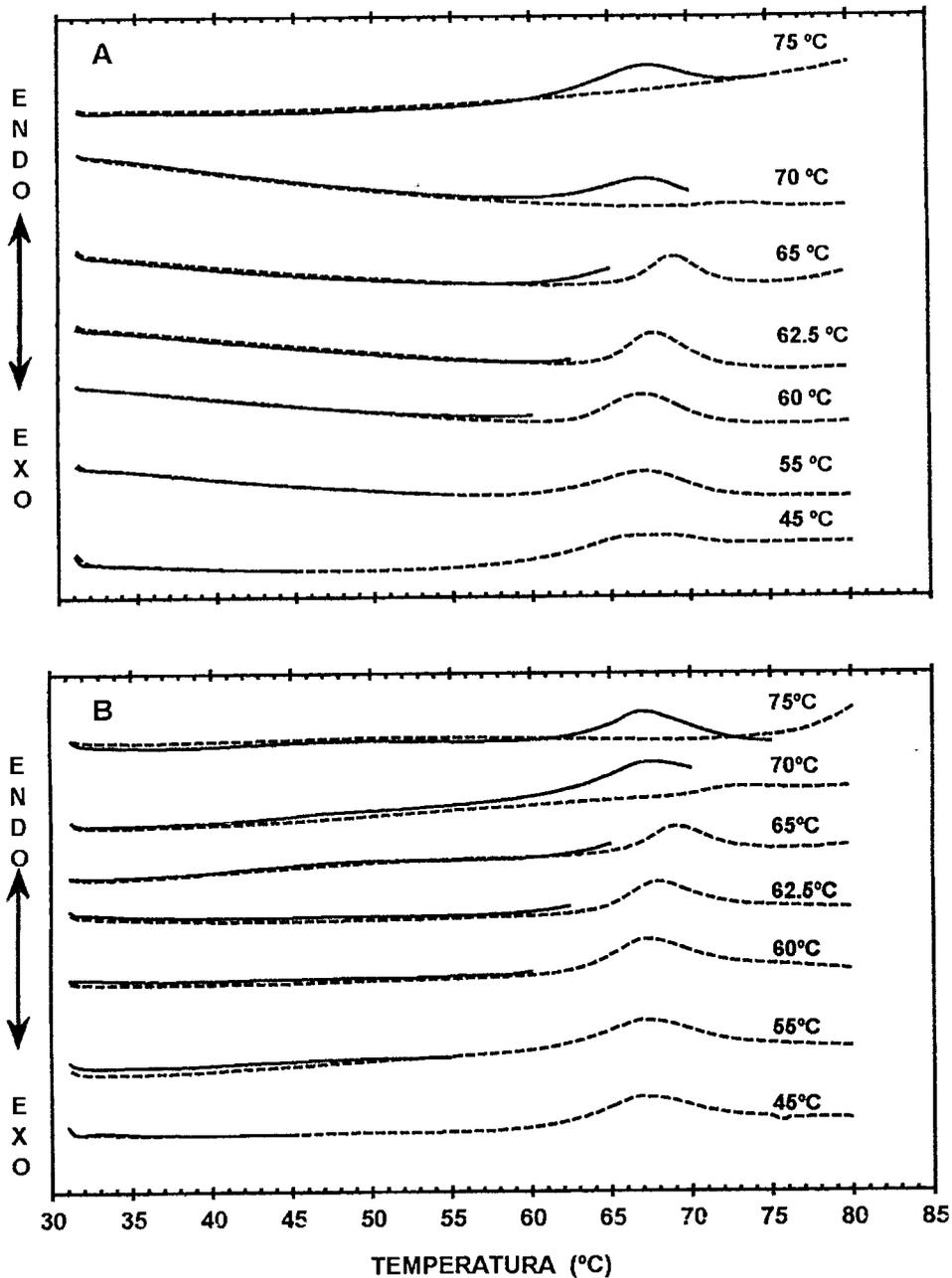


Figura VI.12. Termogramas para la determinación de  $T_g$  en A, Almidón nativo (ALL); B, Almidón nixtamalizado con lípidos libres (ANLL) (80% de humedad). Barrido inicial en línea continua, el recalentamiento en línea discontinua. Se indica la temperatura alcanzada durante el primer calentamiento.

como una función de la diferencia  $T - T_g$ , donde  $T$  es la temperatura de almacenamiento (Jouppila et al., 1996). Así, el  $T_g$  operativo evalúa el efecto del proceso de nixtamalización sobre las regiones amorfas en el almidón de maíz. Sin embargo, no representa el valor de  $T_g$  de las regiones amorfas en el almidón nativo dentro del grano de maíz durante la nixtamalización. En contraste, el valor de  $T_g'$  es un parámetro de valor tecnológico que establece la velocidad de retrogradación después de gelatinizado el almidón y por lo tanto la vida de anaquel de productos tales como las tortillas (35% - 40% de humedad).

Los valores de  $T_g$  operativos aquí encontrados dan un indicio de por que en los experimentos de anillado a 30 °C y diferentes valores de  $A_w$  de almacenamiento se obtuvieron cambios en las propiedades térmicas tan pequeños (cambios en  $T_p$  menores de 2 °C, Tablas VI. 5 y VI.6). De acuerdo a Champion et al. (2000) los procesos de relajación molecular continúan aun a temperaturas por debajo del valor de  $T_g$ . El movimiento molecular persiste en el estado vítreo con una amplitud más baja. De acuerdo a lo anteriormente expuesto y considerando además la temperatura (30 °C) utilizada durante los experimentos de anillado, se entiende por que la magnitud del cambio (anillado) encontrado fue solo significativa a tiempos de almacenamiento largos (137 días).

#### **2.5.5. Efecto de la L- $\alpha$ -Lisofosfatidilcolina (LPC) sobre las propiedades térmicas y estructurales del almidón nativo (ALL).**

Se ha estudiado el efecto de las interacciones almidón – lípidos para tratar de explicar la manera en la cual la formación del complejo influye en los procesos de gelatinización y retrogradación del almidón y en el proceso de envejecimiento de productos elaborados a base de almidón (Biliaderis y Tonogai, 1991; Conde-Petit y Escher, 1994; Eliasson et al., 1988; Eliasson, 1994; Godet et al., 1995; Hibi et al. 1990;

Jovanovich et al., 1992; Keetels et al., 1996; Lin y Czuchajowska, 1998; Liu et al., 1997; Navarro et al., 1996; Raphaelides y Karkalas, 1988). En la mayoría de estos artículos se han reportado las propiedades térmicas del complejo amilosa – lípidos en forma pura, es decir, el complejo se forma a partir de una solución de almidón y lípido sometida a calentamiento por encima de la temperatura de gelatinización del almidón y posteriormente se precipita de la solución el complejo amilosa – lípido. Estos sistemas tuvieron utilidad práctica ya que permitieron establecer la estructura principal del complejo formado, pero en situaciones prácticas el complejo tiene que ser estudiado en el sistema real (almidón), donde puede evaluarse como afecta las propiedades térmicas, estructurales y mecánicas del almidón.

En este estudio se evaluó el efecto de la adición de LPC sobre las propiedades térmicas, estructurales y mecánicas del almidón de maíz. En la Figura VI.13 se presentan algunos de los termogramas del ALL obtenidos en presencia de 0%, 2.33% y 20% de LPC. En estos termogramas puede observarse un cambio en el perfil térmico del almidón por la presencia del fosfolípido. En todos los casos en los que se adicionó LPC, se observó una endoterma adicional a temperaturas superiores a las asignadas al proceso de gelatinización del almidón. Esta endoterma se asoció al fenómeno de disociación (calentamiento) del complejo almidón – fosfolípido. En las Figuras VI.14 a la VI.16 se presentan los valores de  $T_o$ ,  $T_p$ ,  $T_f$  y  $\Delta H$  para las transiciones obtenidas con el ALL en función del contenido de LPC. Estas transiciones corresponden, durante el primer calentamiento, a la gelatinización y disociación del complejo; durante la etapa de enfriamiento, a la cristalización del complejo y durante el segundo calentamiento al proceso de disociación del complejo almidón – LPC. En las Figuras VI.17 a la VI.20 se muestran las microfotografías del ALL en presencia 0%, 2.33%, 20% y 38% de LPC en función de la temperatura (45 °, 55 °, 65 °, 75 °, 80 °, 85 °, 90 °, 95 °, 100 ° y 130 °C).

En primer lugar se analiza el proceso de gelatinización. De acuerdo con los resultados discutidos anteriormente (Tabla VI.4), el proceso de gelatinización para este

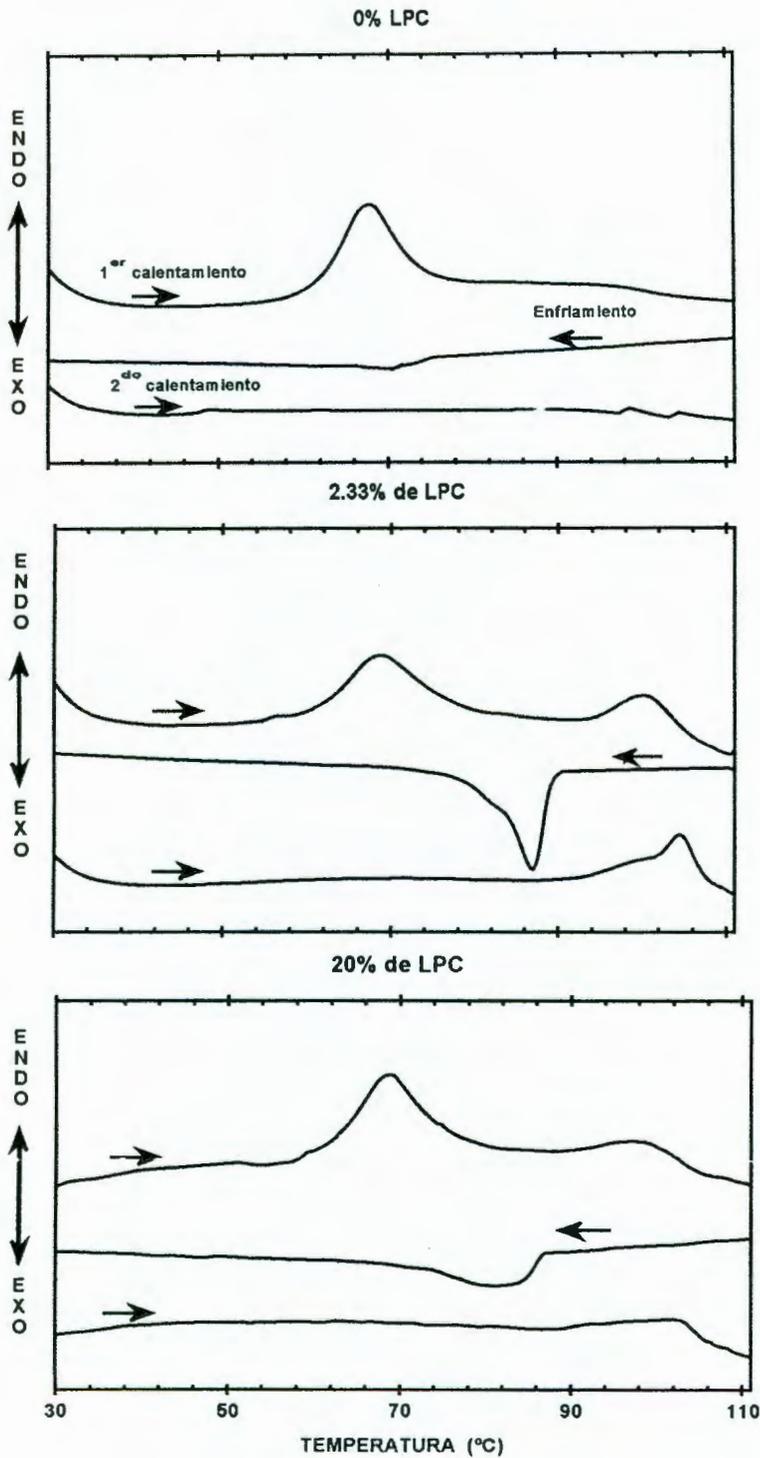


Figura VI.13. Termogramas del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad obtenidos en función de la concentración de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC) 0, 2.33 y 20% a 5 °C/min.

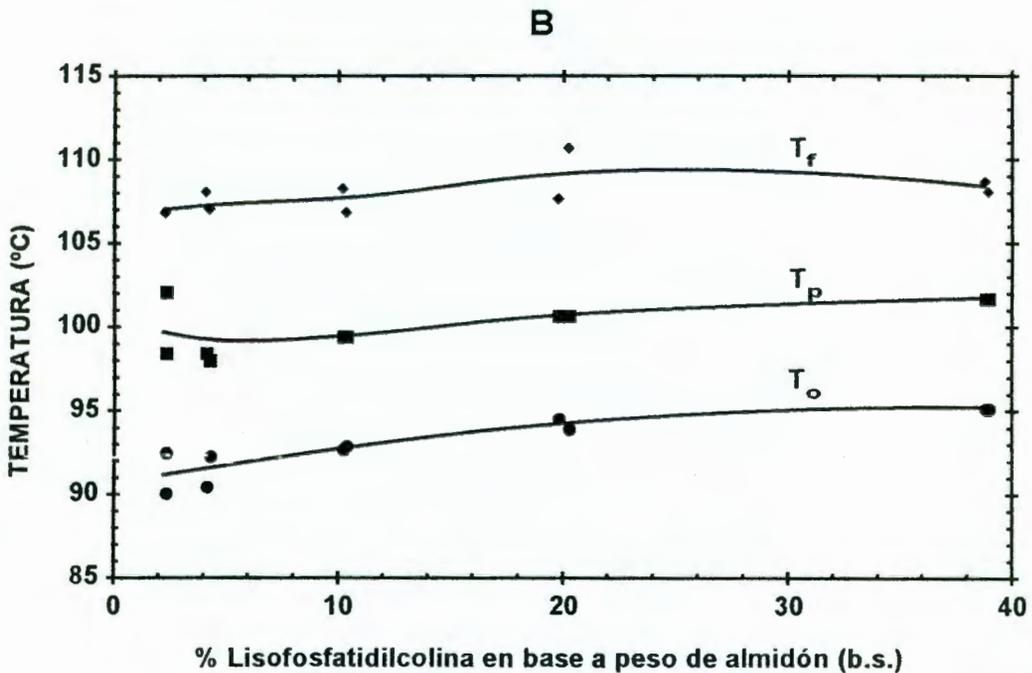
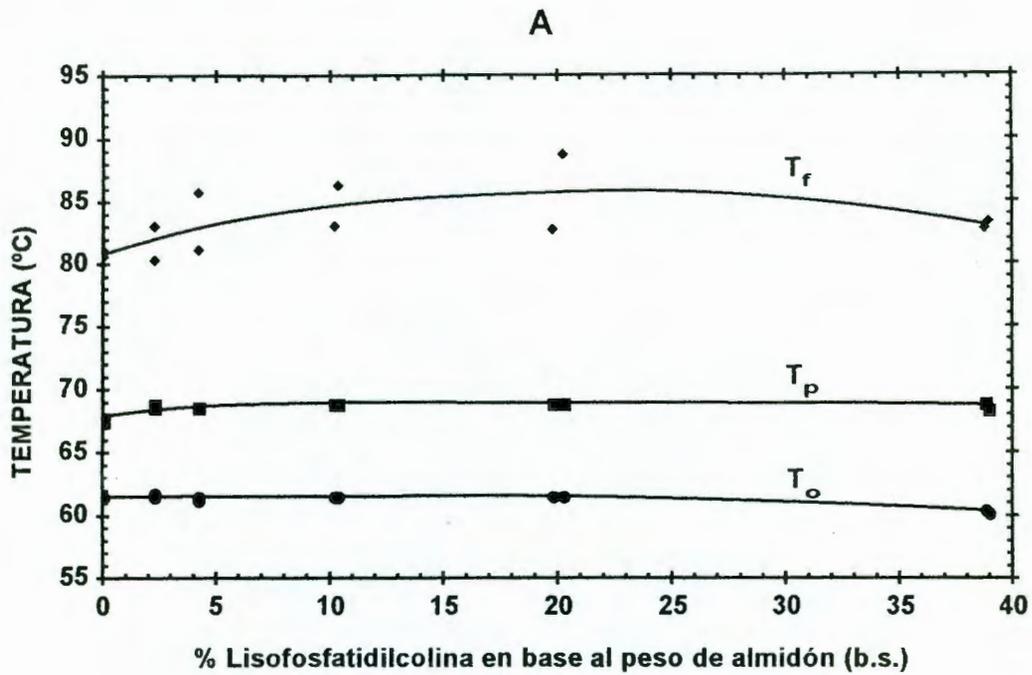


Figura VI.14. Efecto de la concentración de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC) sobre las temperaturas de transición del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad. A, endoterma de gelatinización del almidón; B, endoterma de disociación del complejo almidón - LPC. Ambos durante el primer calentamiento (ver termogramas, Figura V.13), obtenidos a 5 °C/min.

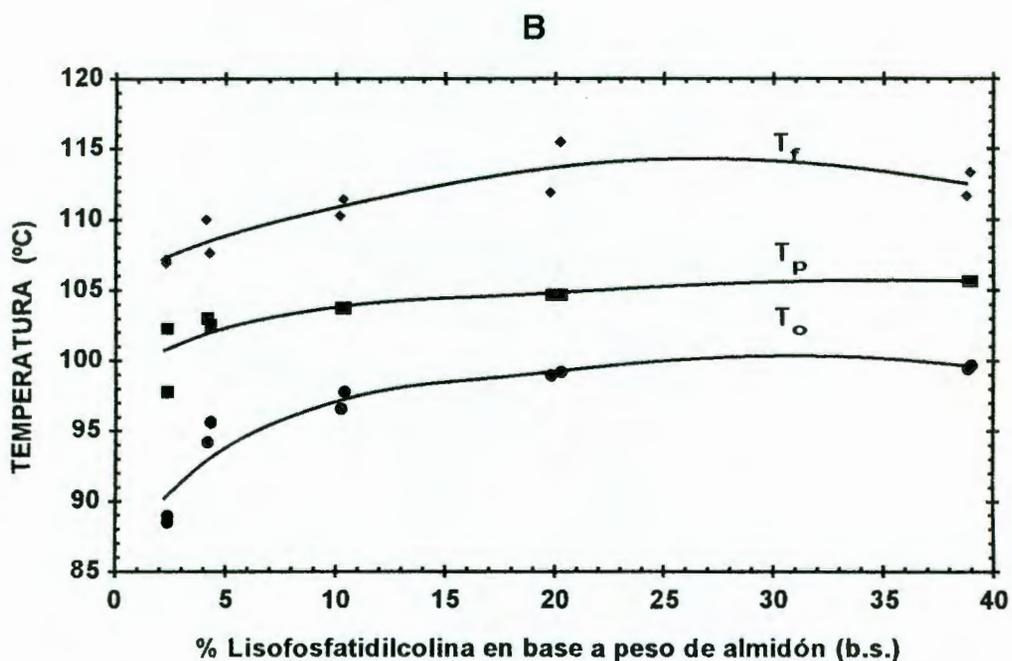
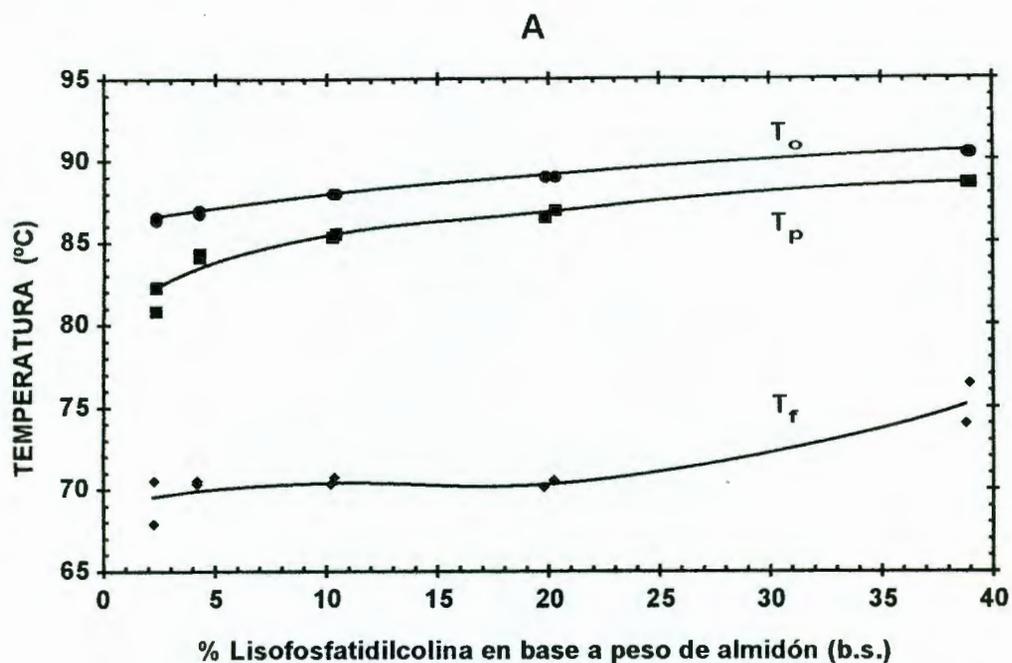


Figura VI.15. Efecto de la concentración de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC) sobre las temperaturas de transición del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad. A, exoterma de formación del complejo almidón - LPC durante el enfriamiento; B, endoterma de disociación del complejo almidón - LPC durante el segundo calentamiento (Ver termogramas, Figura V.13), obtenidos a 5 °C/min.

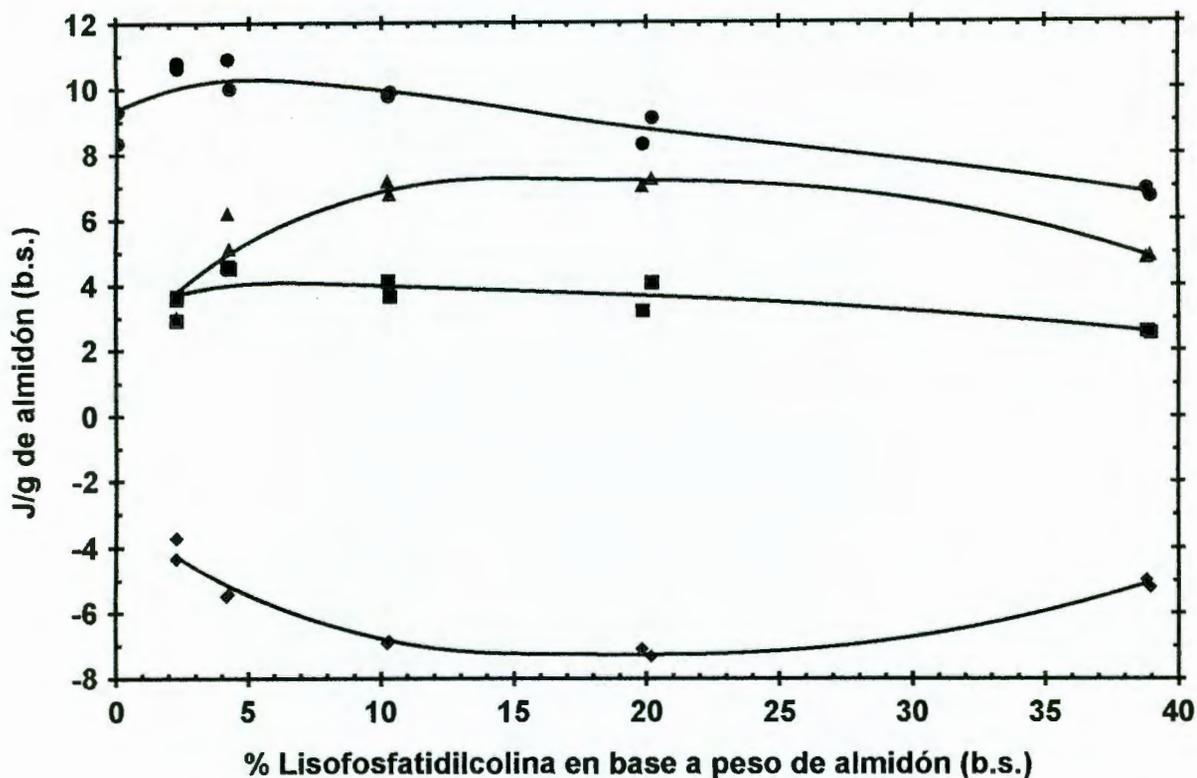


Figura VI.16. Efecto de la concentración de la L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC) en la energía de gelatinización del almidón nativo al 80% de humedad (ALL) (●); disociación del complejo almidón – LPC durante el primer calentamiento (■); formación del complejo almidón – LPC durante el enfriamiento (◆) y disociación del complejo almidón – LPC durante el segundo calentamiento (▲) (Ver termogramas, Figura V.13), obtenidos a 5 °C/min.

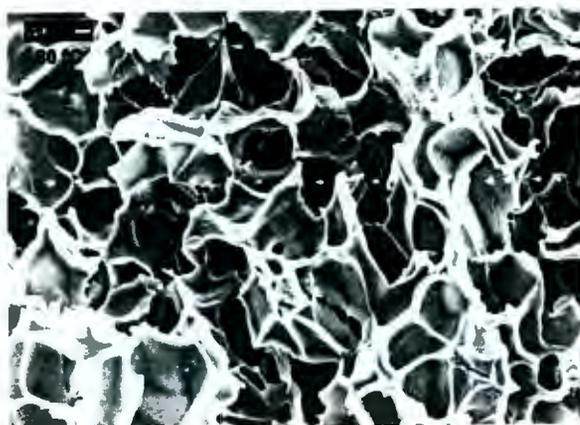
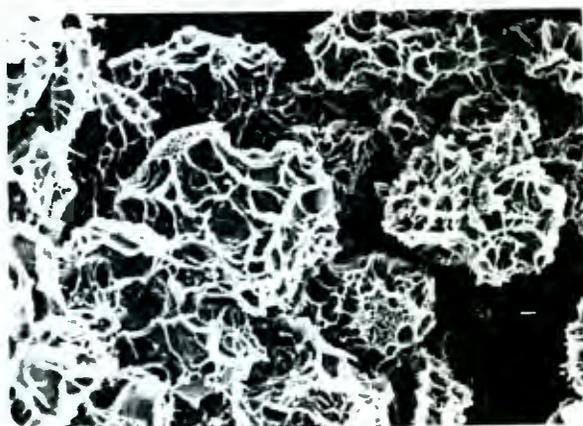
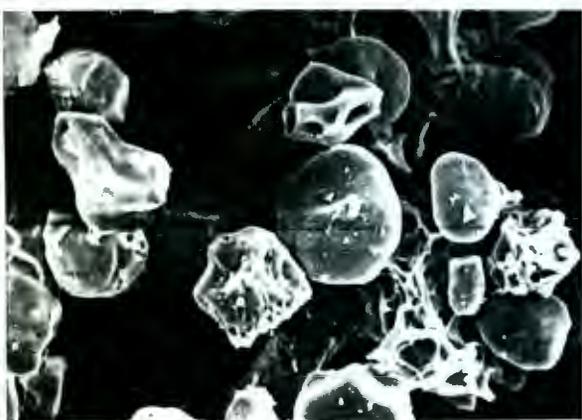
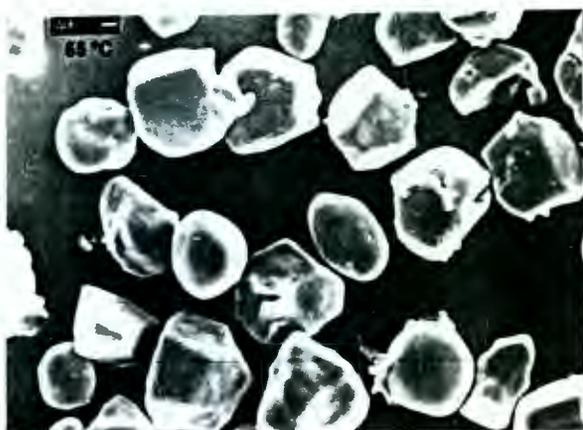
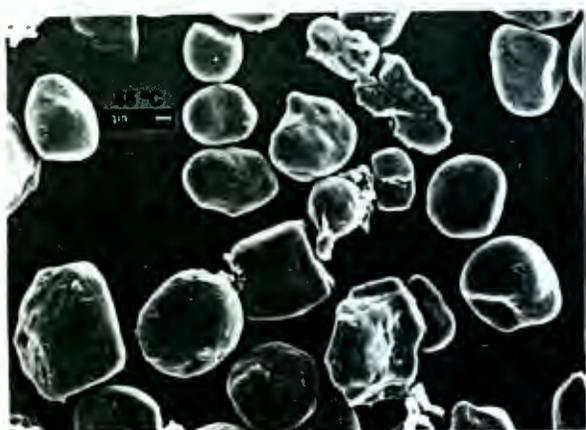
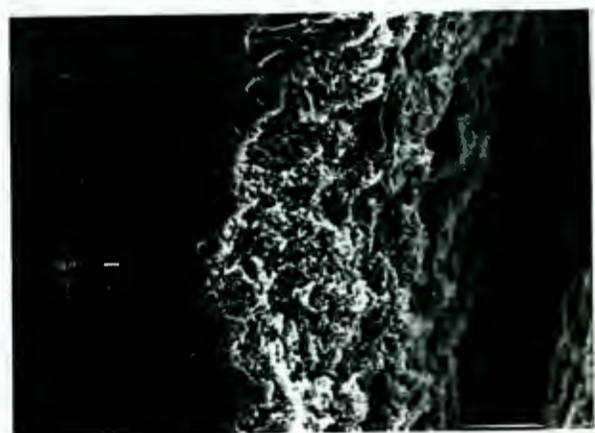
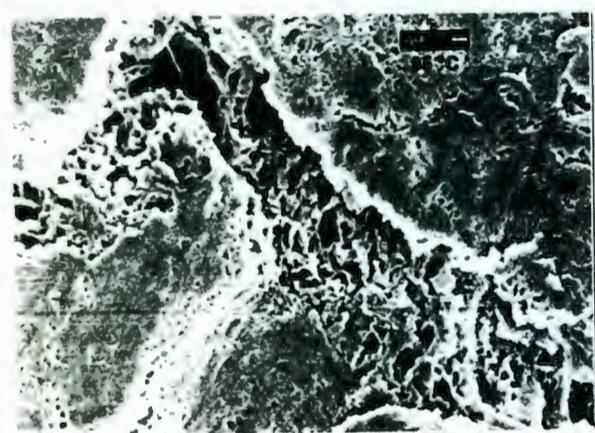
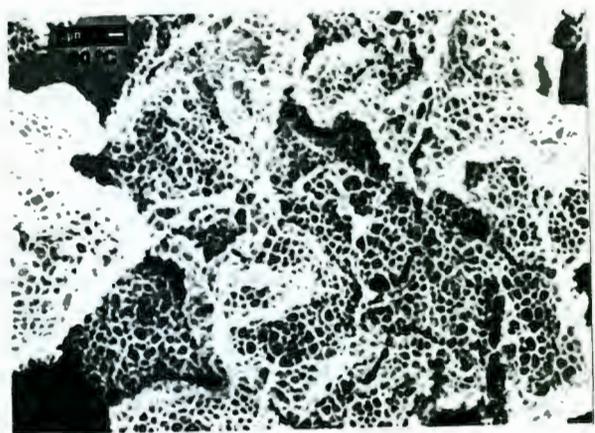
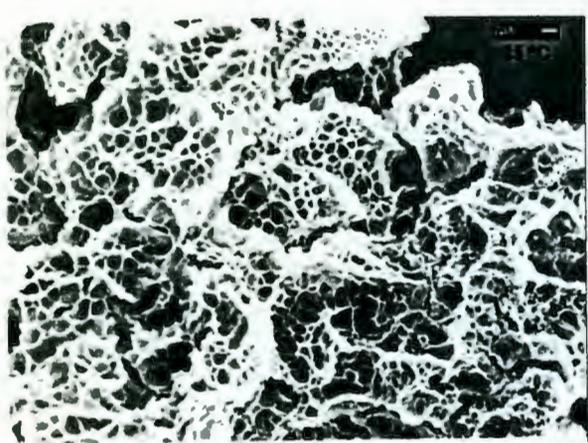


Figura VI.17. Microfotografías del cambio de la estructura del almidón nativo (ALL) al 0% de LPC obtenidos en función de la temperatura indicada (1500 aumentos).



Continuación de la Figura VI.17.

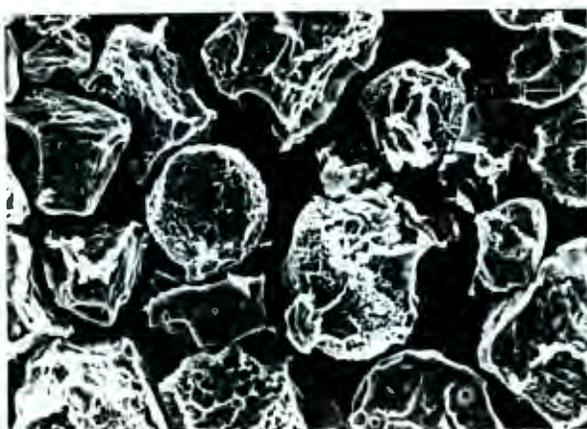
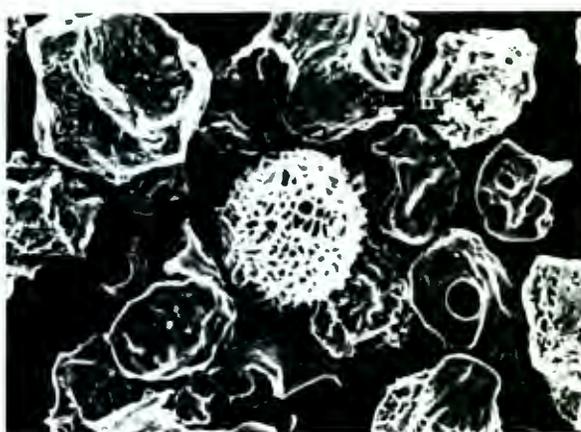
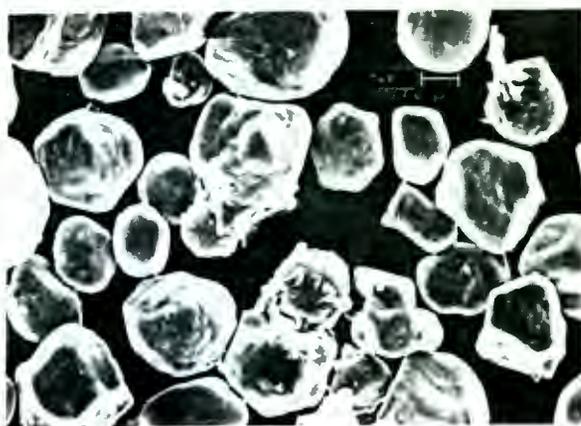
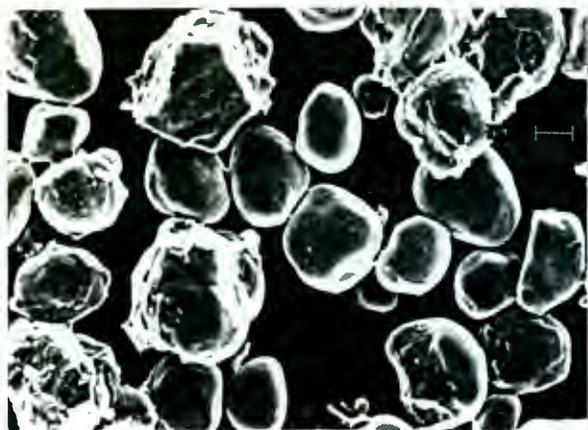
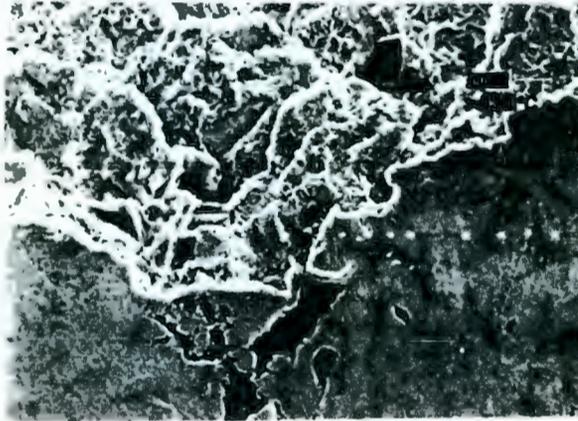
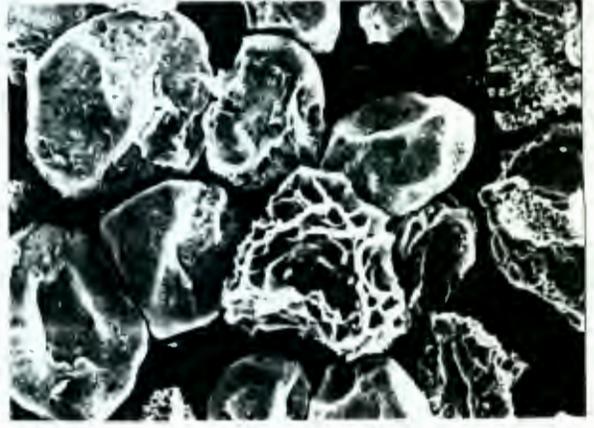
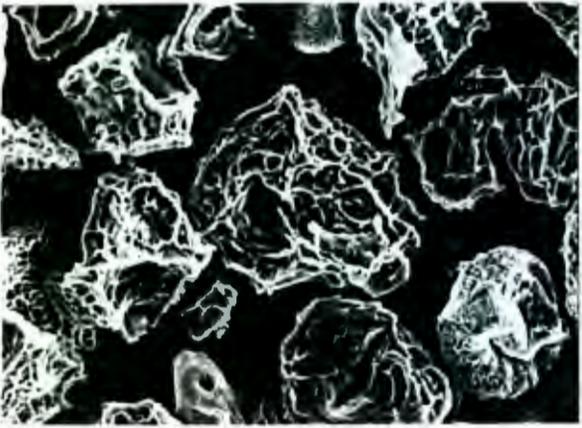
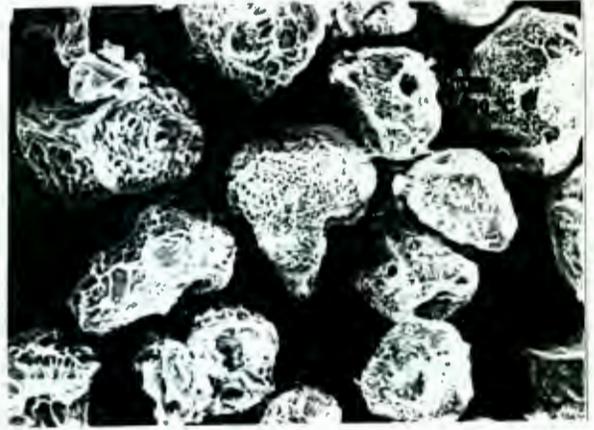
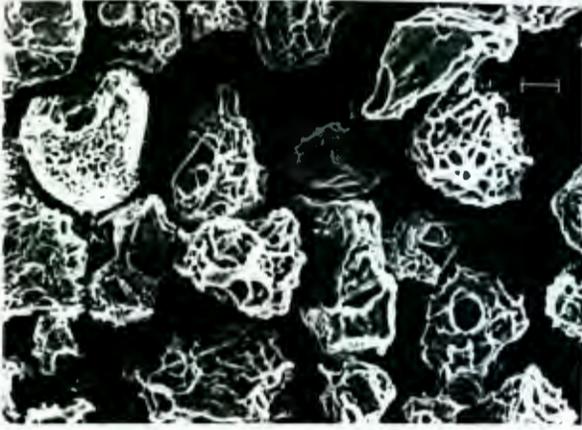


Figura VI.18. Microfotografías del cambio de la estructura del almidón nativo (ALL) al 2.33% de LPC obtenidos en función de la temperatura indicada (1500 aumentos).



Continuación de la Figura VI.18.

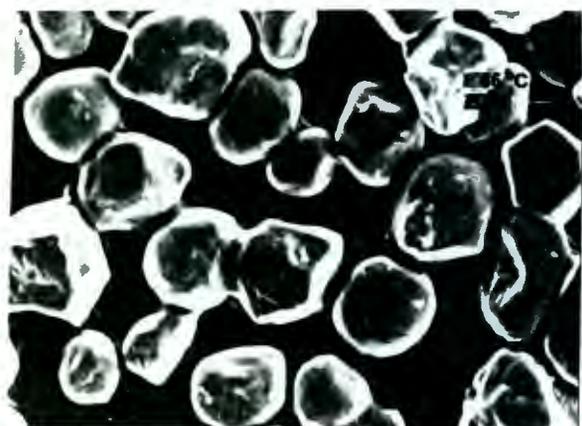
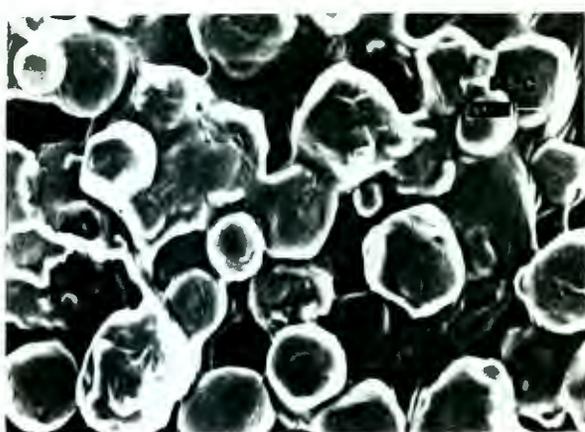
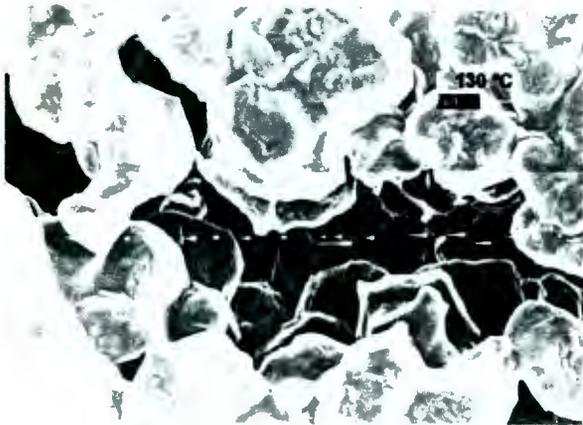
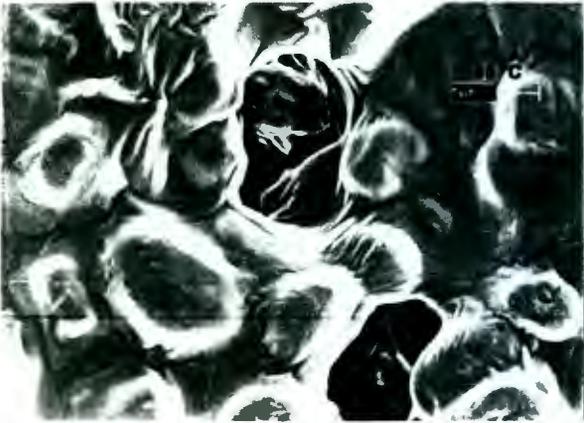


Figura VI.19. Microfotografías del cambio de la estructura del almidón nativo (ALL) al 20% de LPC obtenidos en función de la temperatura indicada (1500 aumentos).



Continuación de la Figura VI.19.

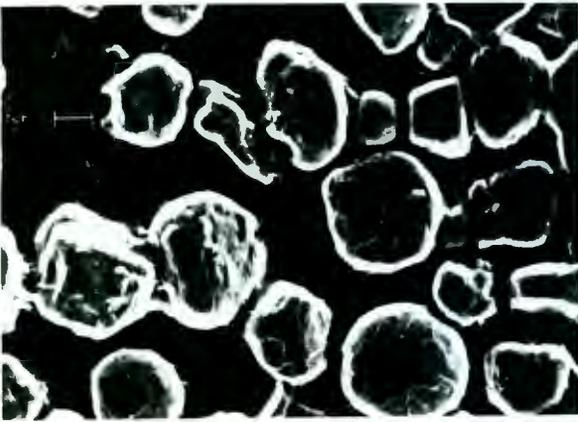
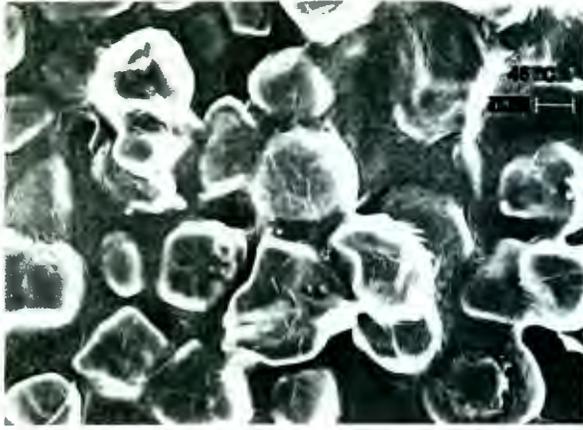
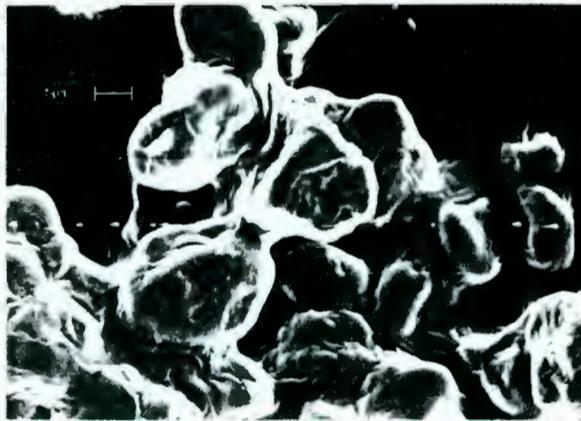
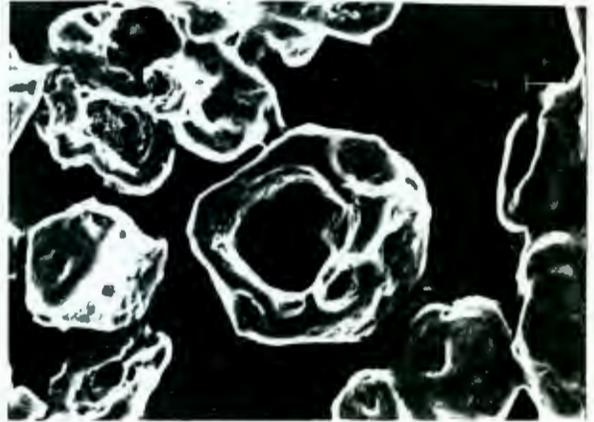


Figura VI.20. Microfotografías del cambio de la estructura del almidón nativo (ALL) al 38% de LPC obtenidos en función de la temperatura indicada (1500 aumentos).



Continuación de la Figura VI.20.

almidón se observó en el intervalo de 60 ° a 75 °C determinado en portamuestras de aluminio, mientras que cuando se utilizaron portamuestras de acero inoxidable para su análisis, la temperatura final del proceso de gelatinización se desplazó aumentando 5 °C en promedio (Figura VI.14A, 0% de LPC), siendo esta la única propiedad que resultó modificada por efecto del cambio de equipo de DSC y portamuestras. En la Figura VI.17 se observan los cambios estructurales ocurridos en el almidón en este intervalo de temperaturas. Se aprecia la pérdida de la estructura granular del almidón entre 75 ° y 80 °C cuando 0% de LPC se utilizó en el sistema. Esta es la temperatura donde se destruyó la estructura granular y se desarrolló una estructura en forma de malla tridimensional, la cual es característica del almidón bajo proceso de gelación (Biliaderis, 1991a; Biliaderis, 1994). Si en estas condiciones se continúa el calentamiento el proceso de gelación continuará hasta el desarrollo de un gel compacto (Figura VI.17, temperatura de 130 °C).

Respecto a los valores de  $T_o$  y  $T_f$  de la endoterma de gelatinización del ALL, estos permanecieron estadísticamente constantes ( $p < 0.05$ ) en todo el intervalo de concentración de LPC investigado (0% al 38%). Únicamente el valor de  $T_p$  se incrementó ligeramente en presencia del 2.33% de LPC ( $p < 0.05$ ) y posteriormente se mantuvo constante (Figura VI.14A y Tabla VI.9). Por su parte, el  $\Delta H$  de gelatinización se incrementó por encima del valor correspondiente al almidón nativo con 0% de LPC, cuando se emplearon concentraciones de LPC entre 2.33% y 10%, para posteriormente disminuir a valores inclusive por abajo al  $\Delta H$  de gelatinización del almidón en ausencia de LPC ( $p < 0.05$ , Figura VI.16 y Tabla VI.9). El aumento en el valor del  $\Delta H$  observado a concentraciones de LPC de 2.33% al 10% puede explicarse al considerar el que la LPC difundió hacia el interior del gránulo de almidón durante su hinchamiento en la etapa previa al proceso de gelatinización (etapa de hinchamiento reversible) y que la interacción de la LPC con los componentes del almidón (principalmente la amilosa y posiblemente las ramificaciones largas de la amilopectina), le confirió estabilidad a la estructura granular del almidón. En tales condiciones, se requirió de una más alta

Tabla VI.9. Temperatura máxima ( $T_p$ ) y energía de transición ( $\Delta H$ ) de la gelatinización, disociación (1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> calentamiento) y formación (enfriamiento) del complejo almidón – LPC. Perfil térmico de acuerdo a los termogramas mostrados en la Figura VI.13.

Muestra	Gelatinización		1 <sup>er</sup> calentamiento		Enfriamiento		2 <sup>do</sup> calentamiento	
	$T_p$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)	$T_p$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)	$T_p$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)	$T_p$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)
Control	67.66 <sup>a</sup> ± 0.14	8.83 <sup>a</sup> ± 0.68	nd	nd	nd	nd	nd	Nd
2.33%	68.78 <sup>b</sup> ± 0.16	10.71 <sup>b</sup> ± 0.13	100.34 <sup>a</sup> ± 2.63	3.32 <sup>a</sup> ± 0.52	81.66 <sup>a</sup> ± 1.01	-4.05 <sup>a</sup> ± 0.44	100.11 <sup>a</sup> ± 3.23	3.26 <sup>a</sup> ± 0.41
4.19%	68.71 <sup>b</sup> ± 0.06	10.48 <sup>b</sup> ± 0.64	98.30 <sup>a</sup> ± 0.33	4.59 <sup>b</sup> ± 0.05	84.29 <sup>b</sup> ± 0.09	-5.45 <sup>b</sup> ± 0.06	102.88 <sup>a</sup> ± 0.21	5.65 <sup>b</sup> ± 0.73
10.00%	68.96 <sup>b</sup> ± 0.04	9.86 <sup>b</sup> ± 0.08	99.49 <sup>a</sup> ± 0.03	3.92 <sup>a</sup> ± 0.33	85.52 <sup>c</sup> ± 0.03	-6.89 <sup>c</sup> ± 0.03	103.87 <sup>b</sup> ± 0.04	6.96 <sup>c</sup> ± 0.29
20.00%	68.88 <sup>b</sup> ± 0.05	8.70 <sup>a</sup> ± 0.56	100.76 <sup>a</sup> ± 0.01	3.66 <sup>a</sup> ± 0.60	86.84 <sup>d</sup> ± 0.18	-7.22 <sup>c</sup> ± 0.15	104.77 <sup>b</sup> ± 0.09	7.12 <sup>c</sup> ± 0.15
38.00%	68.74 <sup>b</sup> ± 0.37	6.80 <sup>c</sup> ± 0.15	101.74 <sup>a</sup> ± 0.11	2.58 <sup>c</sup> ± 0.07	88.63 <sup>e</sup> ± 0.04	-5.07 <sup>d</sup> ± 0.17	105.65 <sup>b</sup> ± 0.01	4.88 <sup>b</sup> ± 0.05

nd, no detectado.

Valores en la misma columna que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

almidón nativo (0% de LPC). La posterior disminución en el valor de  $\Delta H$  de gelatinización observada a concentraciones de LPC mayores al 10%, indicó que la LPC estabilizó aún más la estructura granular del almidón, inhibiendo inclusive el proceso de hinchamiento y gelatinización del almidón. En condiciones de exceso de LPC (> 10%), la interacción amilosa – LPC (y LPC – ramificaciones largas de amilopectina) se realizó, además del interior del gránulo, predominantemente sobre su superficie. Esto le proporcionó a los gránulos aún una mayor termoestabilidad, la cual se manifestó al observar que para el mismo intervalo de temperatura de gelatinización (Figura VI.14A) la mayor estabilidad estructural del gránulo de almidón resultó en un  $\Delta H$  menor que el observado a concentraciones de LPC < al 10%. Esta argumentación se sustentó con las microfotografías mostradas en las Figuras VI.17 a la VI.20. Fue evidente que, contrariamente a los cambios estructurales observados en función de la temperatura en el almidón con 0% de LPC (Figura VI.17), la estructura granular del almidón en presencia de 2.33% de LPC aún se mantiene a temperaturas superiores a los 85 ° – 90 °C (Figura VI.18). Esta temperatura es aproximadamente la  $T_f$  de gelatinización (Figura VI.14A). Este efecto resultó aún más evidente conforme se incrementó la concentración de LPC en el sistema (20% de LPC, Figura VI.19 y 38% de LPC, Figura VI.20). En estas últimas condiciones los gránulos de almidón inclusive se apreciaron recubiertos por una matriz muy seguramente formada por el complejo almidón – LPC o inclusive LPC libre.

Es importante el señalar que esta explicación implica que el desarrollo del complejo amilosa-LPC (y cadenas largas de amilopectina-LPC) no es, como lo han sugerido Biladieris y Tonogai (1991), un proceso exotérmico que se realiza en el mismo intervalo de temperatura en el cual la gelatinización ocurre. En las condiciones experimentales utilizadas en esta investigación, se propone que la LPC tuvo que difundir del exterior y a través del gránulo durante la etapa previa al inicio de la gelatinización. Esto es a temperaturas menores a  $T_o$ , por lo que la interacción inicial de la LPC con los componentes lineales del almidón se realizó bajo condiciones de baja movilidad molecular resultado de la restricción de agua en el interior del gránulo y a la

baja temperatura ( $T < T_0$ ). Como resultado, el complejo de inclusión amilosa – LPC debió ser de un grado diferente de organización molecular al desarrollado bajo condiciones experimentales de alta temperatura y donde la amilosa se encuentra en solución (es decir, exceso de agua) (Conde-Petit y Escher, 1994; Eliasson et al., 1988; Eliasson, 1994; Godet et al., 1995; Hibi et al., 1990; Keetels et al., 1996; Lin y Czuchajowska, 1998; Liu et al., 1997; Navarro et al., 1996; Raphaelides y Karkalas, 1988). La organización molecular desarrollada por el complejo amilosa – LPC en estas últimas condiciones sería similar a la mostrada en la Figura VI.21, el cual ha sido descrito por varios autores como el responsable del patrón de difracción de rayos X conocido como tipo V. Igualmente, la segunda endoterma observada durante el calentamiento de almidones que contienen lípidos endógenos o bien añadidos al medio y bajo condiciones de exceso de agua (ej., > 60%), ha sido asignada a la fusión de complejos amilosa – lípido (ej., ácidos grasos o LPC).

De acuerdo con los resultados de esta investigación se pone en consideración el que el complejo de inclusión amilosa - LPC desarrollado en el almidón en estado granular y bajo condiciones de baja temperatura y de restricción de agua, no involucraría necesariamente un proceso exotérmico durante su formación detectable por medio de DSC. Debido principalmente a que como se ha supuesto anteriormente este proceso de formación del complejo en la etapa inicial depende de la velocidad de difusión de la LPC y de la velocidad de liberación de las moléculas de amilosa de las zonas amorfas dentro del gránulo de almidón. Esta hipótesis concuerda con los resultados publicados por Le Bail et al. (1999), los cuales evaluaron el desarrollo del complejo de la amilosa con los lípidos endógenos en almidón de maíz granular, utilizando una celda especial, para monitorear su formación en función de la temperatura y la concentración de humedad por medio de difracción de rayos X en tiempo real, con el uso de un sincrotrón acoplado a mediciones calorimétricas.

Por otro lado, el valor del  $\Delta H$  de disociación del complejo LPC – amilosa

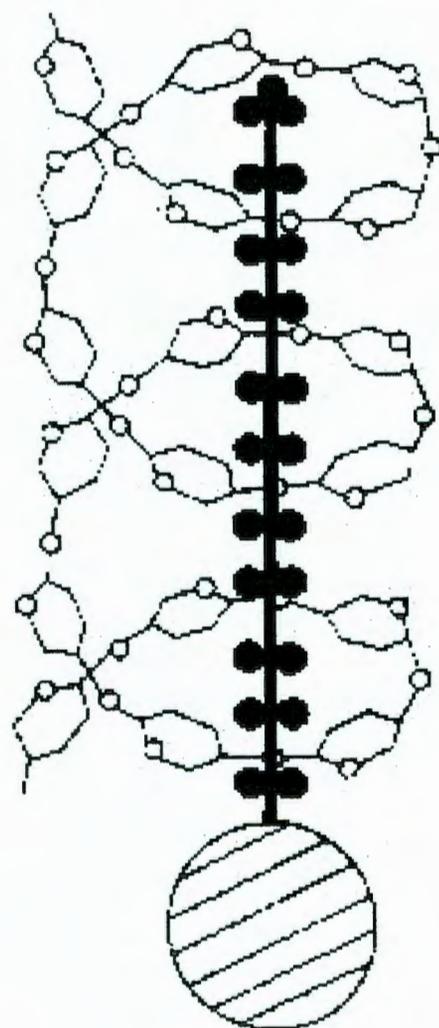


Figura VI.21. Complejo amilosa – monoestearina (Hoover, 1998)

durante el primer calentamiento, observó la misma tendencia que el  $\Delta H$  de gelatinización del almidón para el intervalo de concentración de LPC entre 2.33% y 38% (Figura VI.16). Esto indicó que una menor cantidad del complejo LPC – amilosa fue desarrollado a medida que la concentración de LPC se incrementó en el sistema. Al parecer, el complejo LPC – amilosa se desarrolló más sobre la superficie del gránulo de almidón y menos en su interior a medida que se incrementó la concentración de LPC en el sistema. Esto, como ya se mencionó anteriormente, le confirió una mayor estabilidad estructural al gránulo frente a incrementos de temperatura. Inclusive, después del primer calentamiento hasta 130 °C, la más alta concentración de LPC mostró aún una menor formación del complejo amilosa - LPC que al 10% y 20% de LPC. Esto último evaluado por la correspondiente magnitud del  $\Delta H$  de formación del complejo (durante el enfriamiento) en comparación con el  $\Delta H$  respectivo cuando 10% y 20% de LPC fue utilizado (Figura VI.16). Durante el segundo calentamiento hubo una formación adicional del complejo, ya que el correspondiente  $\Delta H$  de disociación fue superior al obtenido durante el primer calentamiento (Figura VI.16). Después del calentamiento inicial hasta 130 °C y el subsecuente enfriamiento, la formación adicional del complejo amilosa - LPC fue función de la concentración de LPC presente y de la cantidad de amilosa liberada del gránulo durante el primer calentamiento. Así, en la relación entre el  $\Delta H$  de disociación en el segundo calentamiento y la concentración de LPC (Figura VI.22) fue aparente que en el intervalo de 0% a 4.19% de LPC existió una relación lineal significativa [ $\Delta H = 0.035 + 1.351(\%LPC)$ ,  $p < 0.05$ , Figura VI.22). Al 10% y 20% de LPC se alcanzó el acomplejamiento del total de la amilosa presente en el almidón de maíz, la cual fue liberada después del primer calentamiento (Figura VI.22). La disminución observada en el  $\Delta H$  del segundo calentamiento con 38% de LPC tiene la siguiente explicación. Durante el calentamiento inicial del sistema con 38% de LPC, la presencia de almidón aún con estructura granular remanente y protegida por la LPC sobre su superficie fue evidente en las microfotografías inclusive a temperaturas de 130 °C (Figura VI.20). En consecuencia no toda la amilosa fue liberada después del primer

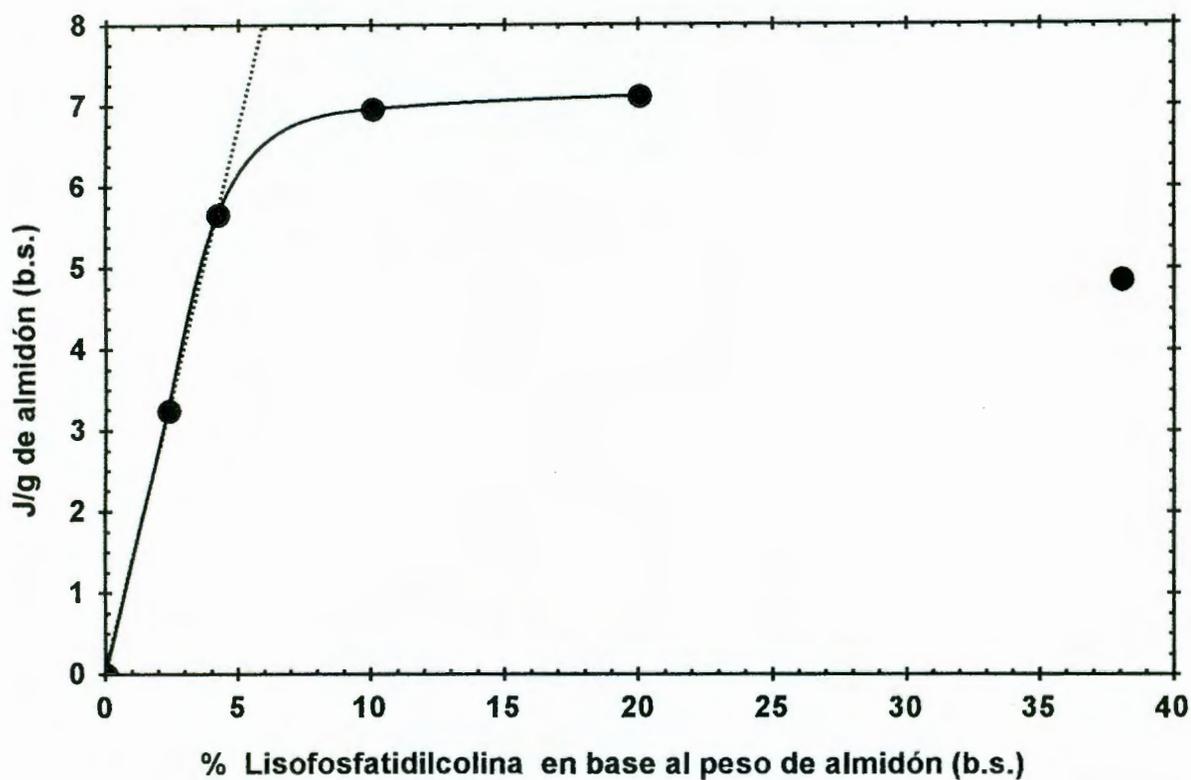


Figura VI.22. Relación observada entre el  $\Delta H$  de disociación del complejo durante el segundo calentamiento y la concentración de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina.

calentamiento como sucedió con concentraciones de LPC < al 38%. Como resultado, en estas condiciones existió una menor disponibilidad de amilosa para la formación del complejo (Figura VI.22). Entonces, el perfil del  $\Delta H$  del segundo calentamiento es congruente con el perfil del  $\Delta H$  de formación del complejo (durante el enfriamiento) (Figura VI.16).

Sievert y Lausanne (1993) establecieron una metodología por DSC para cuantificar el contenido de amilosa en almidón granular, mediante la medición del  $\Delta H$  de disociación del complejo amilosa – LPC durante el segundo calentamiento. Estos autores establecieron una regresión lineal entre la concentración de amilosa en el almidón granular y el  $\Delta H$  de disociación del complejo amilosa – LPC durante el segundo calentamiento. La regresión lineal de la curva estándar establecida por los autores es la siguiente (Sievert y Lausanne, 1993)

$$\% \text{ amilosa} = 3.386(\Delta H) + 0.029, r = 0.98 \quad (\text{VI.1})$$

Así, utilizando la regresión de Sievert y Lausanne (1993) con el  $\Delta H$  de disociación del complejo amilosa – LPC durante el segundo calentamiento para el sistema investigado (Figura VI.16 y Tabla VI.9) se obtuvieron las siguientes concentraciones de amilosa:

% de LPC	$\Delta H$	% amilosa (b.s.)
2.33	3.26	11.07
4.19	5.65	19.16
10.00	6.96	23.60
20.00	7.12	24.14
38.00	4.88	16.55

Recordando que la concentración de amilosa en ALL es de 22.4 ( $\pm 1.1$ ), los resultados anteriores muestran que a las concentraciones de 2.33% y 4.19% de LPC

definitivamente no toda la amilosa se encontraba formando el complejo, estos resultados son congruentes con lo observado en la Figura VI.22. En contraste, a las concentraciones de 10% y 20% de LPC es factible que parte de la LPC se encontrara formando el complejo con las ramificaciones lineales de amilopectina. Finalmente y sustentando observaciones anteriores, a la concentración de 38% de LPC no toda la amilosa fue liberada ya que ha esta concentración la LPC ejerció un efecto protector sobre la estructura granular del almidón aún después de 2 calentamientos hasta 130 °C.

#### **2.5.5.1. Retrogradación del almidón nativo en presencia de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina.**

La retrogradación del almidón es un proceso en donde existen dos eventos cinéticamente diferentes (Biladieris, 1992). Primero, la gelación rápida de la amilosa a través de la formación de hélices dobles que es seguida por una agregación hélice-hélice y, subsecuentemente, la recristalización lenta de las ramificaciones cortas (cadenas A y B) de la amilopectina. Sin embargo, la participación conjunta y/o la interdependencia de cada uno de estos eventos en el proceso total de retrogradación no ha sido elucidada y finalmente se le ha dado más peso a la reorganización de las moléculas de amilopectina dentro del gel del almidón (Biliaderis, 1991a; Biliaderis, 1994). Además, el papel que los lípidos juegan en el proceso de retrogradación es igualmente confuso y lo único cierto es que limitan este proceso sin conocerse el mecanismo principal mediante el cual actúan. Varios de los mecanismos propuestos para explicar el papel de los lípidos durante la retrogradación han sido descritos por Gudmundsson (1994) y Hoover (1998).

Los termogramas obtenidos en los almidones gelatinizados y retrogradados (14 días a 4 °C) se muestran en la Figura VI.23. El perfil térmico del ALL retrogradado en presencia de LPC fue significativamente diferente que en ausencia del fosfolípido. En el almidón con 0% de LPC se obtuvo únicamente la endoterma correspondiente a la fusión

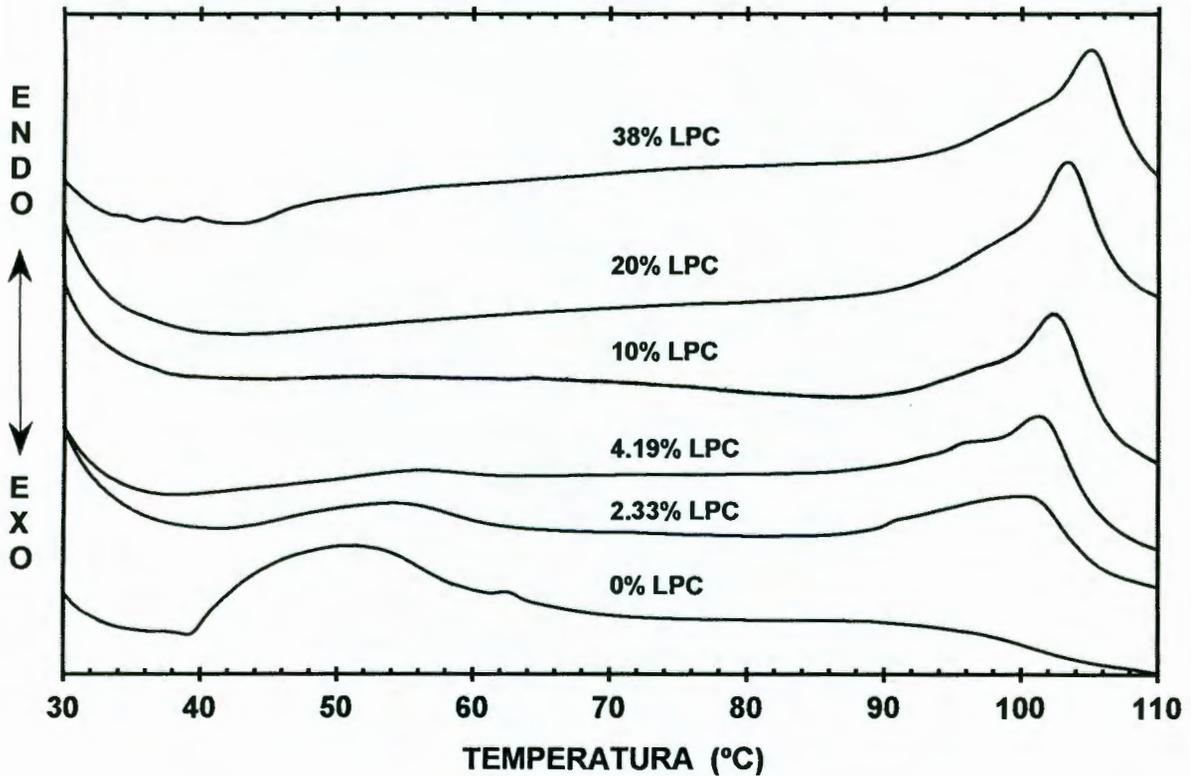


Figura VI.23. Termogramas del almidón nativo (ALL) procesado de acuerdo a las condiciones de la Figura VI.13 después de 14 días de almacenamiento a 4 °C, obtenidos a 5 °C/min.

de la amilopectina retrogradada. Sin embargo, la adición de LPC al sistema resultó en la obtención de una endoterma adicional con  $T_p$  entre 100 ° y 106 °C, cuya magnitud mostró una tendencia a incrementarse en función de la concentración de LPC en el sistema. Esta segunda endoterma se asoció al proceso de disociación del complejo almidón (amilosa y cadenas lineales de amilopectina) – LPC. Los valores correspondientes de  $T_o$ ,  $T_p$ ,  $T_f$  y  $\Delta H$  para estas dos endotermas se indican en la Tabla VI.10. Así, resultó evidente que el  $\Delta H$  de retrogradación disminuyó en función directa de la concentración de LPC. Inclusive, al utilizar una concentración del 10% de LPC el valor del  $\Delta H$  de retrogradación fue despreciable, desapareciendo completamente cuando la concentración de LPC fue igual o mayor al 20% (Tabla VI.10). En contraste, el  $\Delta H$  de disociación del complejo almidón – LPC se incrementó mostrando el desarrollo de una mayor cantidad del complejo con una relación lineal hasta el 4.19% de LPC (Figura VI.24). Como era de esperarse, el comportamiento del  $\Delta H$  de disociación del complejo en el almidón retrogradado en función de la concentración de LPC (Figura VI.24), siguió un perfil muy similar al observado por el  $\Delta H$  de disociación del complejo durante el segundo calentamiento (Figura VI.22). Si bien, los valores del  $\Delta H$  de disociación del complejo en el almidón retrogradado fueron mayores a los del  $\Delta H$  de disociación del complejo durante el segundo calentamiento, esto debido al perfeccionamiento del cristal del complejo almidón – LPC en función del tiempo de almacenamiento a 4 °C.

De acuerdo con estos resultados se puede establecer lo siguiente. La concentración del 10% de LPC prácticamente inhibió el proceso de retrogradación en el ALL, aún después de 14 días de almacenamiento a 4 °C. Si bien, con la experimentación realizada hasta este nivel en esta investigación no puede establecerse inequívocamente cual es el mecanismo principal por el cual la LPC actúa, se consideran dos alternativas principales: 1) la formación del complejo amilopectina – LPC inhibiendo la reorganización de las moléculas de amilopectina dentro del gel del almidón gelatinizado (Biliaderis, 1991a; Biliaderis, 1994), y 2) la disminución en la movilidad molecular de las cadenas de amilosa debido a la formación del complejo con la LPC.

Tabla VI.10. Propiedades térmicas del almidón nativo (ALL), determinadas en almidones gelatinizados después de 14 días de almacenamiento a 4 °C, en función del porcentaje de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC), obtenidos a 5 °C/min.

Muestra	T <sub>o</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>f</sub> (°C)	$\Delta H$ (J/g)
0.00%	39.935 $\pm 0.375$	50.920 $\pm 0.500$	70.965 $\pm 0.185$	7.679 $\pm 0.905$
	nd	nd	nd	nd
2.33%	43.430 $\pm 0.290$	54.045 $\pm 0.125$	65.110 $\pm 0.180$	2.026 $\pm 0.121$
	86.925 $\pm 1.545$	100.915 $\pm 0.195$	108.655 $\pm 1.095$	5.410 $\pm 0.692$
4.19%	45.635 $\pm 1.475$	54.945 $\pm 0.465$	62.180 $\pm 0.000$	0.531 $\pm 0.014$
	93.380 $\pm 0.770$	101.510 $\pm 0.140$	110.030 $\pm 0.090$	7.207 $\pm 0.424$
10.00%	47.825 $\pm 0.465$	53.255 $\pm 0.535$	61.820 $\pm 0.180$	0.166 $\pm 0.020$
	96.545 $\pm 0.385$	102.440 $\pm 0.020$	109.295 $\pm 1.735$	6.390 $\pm 0.486$
20.00%	nd	nd	nd	nd
	98.035 $\pm 0.045$	103.350 $\pm 0.030$	111.765 $\pm 0.365$	6.827 $\pm 0.307$
38.00%	nd	nd	nd	nd
	99.825 $\pm 0.195$	105.195 $\pm 0.025$	109.845 $\pm 0.095$	5.315 $\pm 0.350$

nd, no detectado

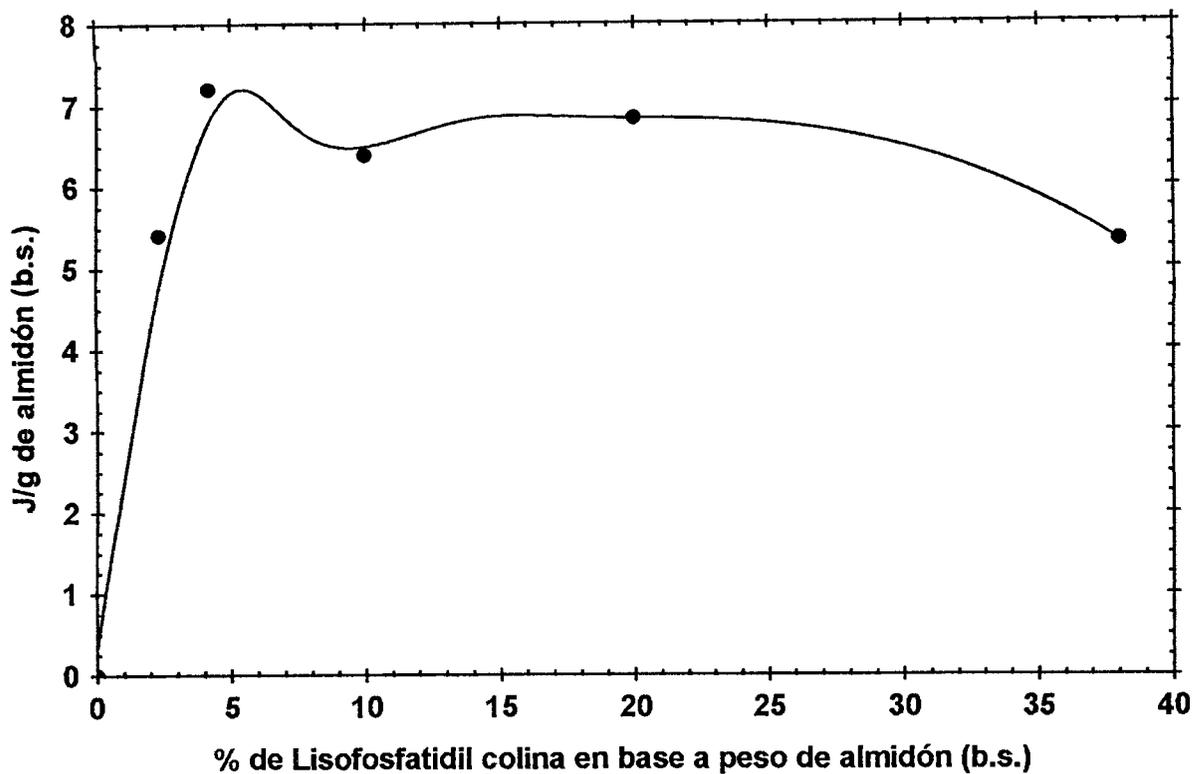


Figura VI.24. Relación observada entre el  $\Delta H$  de disociación del complejo después del almacenamiento a 4 °C durante 14 días, con la concentración de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina.

Este último evento limitaría la formación de las hélices dobles de amilosa durante la recristalización (Hoover, 1998).

### **2.5.6. Propiedades mecánicas del almidón nativo (ALL).**

Es importante el diferenciar el tipo de respuesta obtenida por DSC de la obtenida en el espectrómetro mecánico. En la primera la liberación o absorción de calor durante el proceso de cambio de fase que ocurre en función de la temperatura (o del tiempo a temperatura constante) se manifiesta con una exoterma o endoterma, respectivamente. En contraste, por espectroscopia mecánica los cambios estructurales asociados o no a un proceso de cambio de fase en el sistema se detectan por modificaciones en el perfil reológico ( $G'$ ,  $G''$  o  $\delta$ ).

La Figura VI.25 muestra la cinética del módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y en la Figura VI.26 la correspondiente al ángulo de pérdida ( $\delta$ ) del ALL, al 80% de humedad, determinado a diferentes concentraciones de LPC (0%, 2.33% y 20%) bajo el perfil de tiempo – temperatura descrito la sección V.2.2.6. Ya que  $\delta$  representa la relación  $G''/G'$ , la cual es más sensible a los cambios en el comportamiento viscoelástico, la siguiente discusión se centra particularmente en el comportamiento de este parámetro reológico. Es evidente que la dispersión almidón – agua inicia con un comportamiento predominantemente líquido, durante el cual ocurre el hinchamiento inicial del gránulo (hinchamiento reversible) (Lii et al., 1995). Este carácter líquido prevaleció hasta observarse un decrecimiento dramático en el valor de  $\delta$  (Figura VI.26), el cual ocurrió en un intervalo de temperatura de 60 ° – 65 °C, correspondiendo con el inicio de la endoterma de gelatinización determinada por DSC (Figura VI.14A). Si bien, fue evidente que en el caso de los reogramas existió una relación entre la concentración de LPC y la temperatura de inicio de la gelatinización del ALL, esta relación no fue posible de detectarse por DSC (es decir,  $T_o$  para la endoterma de gelatinización no fue significativamente diferente en función de la concentración de LPC, Figura VI.14A).

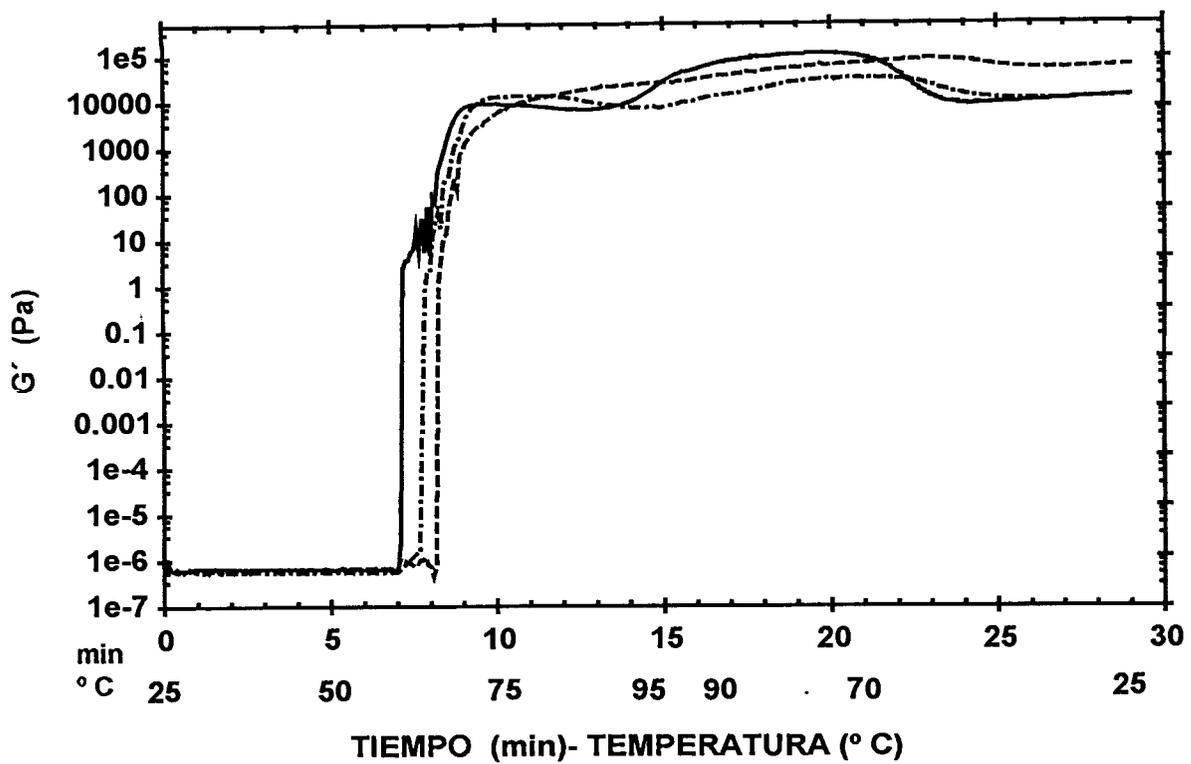


Figura VI.25. Cinética del módulo de almacenamiento ( $G'$ ) del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad obtenido a tres concentraciones de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC). 0.0% (—), 2.33% (· · ·) y 20% (- - -) de LPC.

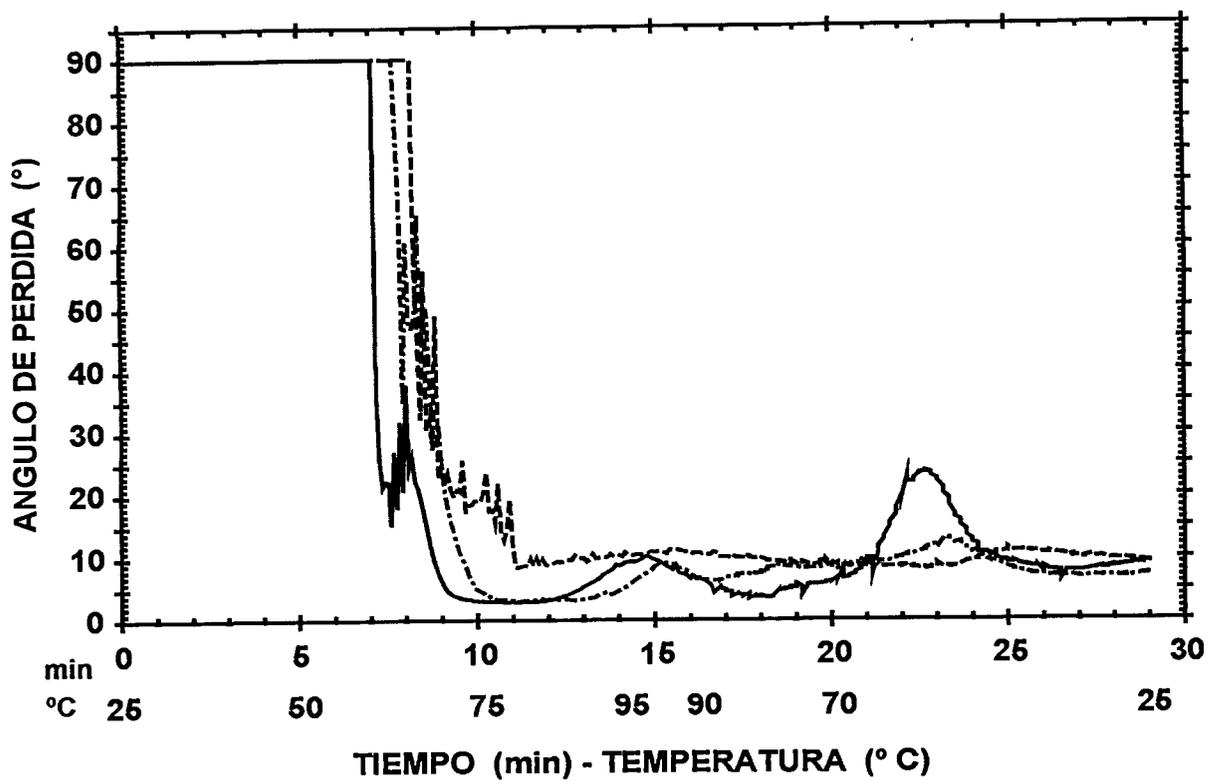


Figura VI.26. Cinética del ángulo de pérdida ( $\delta$ ) del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad obtenido a tres concentraciones de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC). 0.0% (—), 2.33% (· · ·) y 20% (- - -) de LPC.

Estos resultados corroboran las observaciones realizadas anteriormente en el sentido de que la LPC le confiere a la estructura granular una mayor estabilidad térmica, con el subsecuente mantenimiento de su estructura granular a más alta temperatura.

De acuerdo a la exoterma de gelatinización, este evento concluye en  $T_f$  (Figura VI.14A) entre 80° y 85° C. Es justamente a esta temperatura donde el perfil de  $\delta$  alcanzó su mínimo valor (es decir, mayor carácter sólido) a las tres concentraciones de LPC investigadas. Sin embargo, para el caso de 0% de LPC a esta temperatura ya se había desarrollado una red tridimensional entre los componentes del almidón (Figura VI.17, temperaturas de 80° y 85° C). Mientras que en presencia de 2.33% de LPC si bien se observó almidón granular remanente a esta temperatura, este se encontraba con un alto grado de daño estructural (Figura VI.18, temperaturas de 80° y 85°C), no siendo este el caso en presencia del 20% de LPC. En estas últimas condiciones, la existencia de almidón granular remanente embebido en una red posiblemente compuesta por el complejo amilosa – LPC y LPC libre (es decir, fosfolípido en exceso) fue evidente (Figura VI.19, temperaturas de 80° y 85 °C). Esto se reflejó en el valor de  $\delta$  alcanzado a esta temperatura ( $T_f$ ) para cada sistema.

De acuerdo a Biliaderis (1992) el proceso de retrogradación del almidón a cortos periodos de tiempo se debe al proceso de gelación de la amilosa, esto es la asociación de las moléculas como hélices dobles seguido por una agregación hélice – hélice. Estos mismos autores propusieron que este proceso se realiza durante el enfriamiento del almidón gelatinizado (inicio del proceso de retrogradación). De acuerdo a Lii et al. (1995), el proceso de gelación de las moléculas de amilosa puede ocurrir también durante el calentamiento del almidón a temperaturas superiores a las correspondientes a la endoterma de gelatinización. Terminando la endoterma de gelatinización, es decir a  $T > T_f$  se observó en el perfil de  $\delta$  del ALL puro (0% de LPC) el inicio de una transición estructural, la cual se asoció al proceso de gelación de la amilosa (Lii et al., 1995). Este resultado fue confirmado posteriormente, ya que al

adicionar 2.33% de LPC la magnitud de la transición estructural se vio disminuida, desapareciendo a la concentración del 20% de LPC. Así, este proceso se asoció también con la formación del complejo amilosa – LPC después del proceso de gelatinización del ALL, ya que este proceso se realizó a temperaturas menores al  $T_o$  correspondiente a la disociación del complejo durante el primer calentamiento en los termogramas obtenidos por DSC (Figura VI.14B). En el perfil de  $\delta$ , durante el enfriamiento se observó una segunda transición estructural, la cual fue también asociada al proceso de gelación de la amilosa de acuerdo a lo reportado por Biliaderis (1992). Estos resultados son sustentados también con las microfotografías mostradas en las Figuras VI.17 (0% de LPC), VI.18 (2.33% de LPC) y VI.19 (20% de LPC) a la temperatura de 95 °C, ya que en el almidón puro se observó una malla tridimensional bien desarrollada, mientras que los almidones con 2.33% y 20% de LPC se observó el almidón todavía con una estructura granular.

En la Figura VI.27 se presenta el cambio en el ángulo de pérdida ( $\delta$ ) del almidón calentado hasta 95 °C y posteriormente enfriado hasta 25 °C, determinado en función del tiempo a esta última temperatura. En el ALL puro (0% de LPC) se observó que el gel formado continuó incrementando su nivel de rigidez, el cual no fue afectado por la concentración del 2.33% de LPC, mientras que a la concentración del 20% se observó un menor nivel de rigidez alcanzado por el gel a esta concentración. Este fenómeno puede explicarse en función de los cambios producidos durante el proceso de enfriamiento del sistema, ya que el ALL alcanzó un menor grado de perfeccionamiento de la malla tridimensional de la amilosa (proceso de gelación menor) a medida que la concentración de LPC se incrementaba.

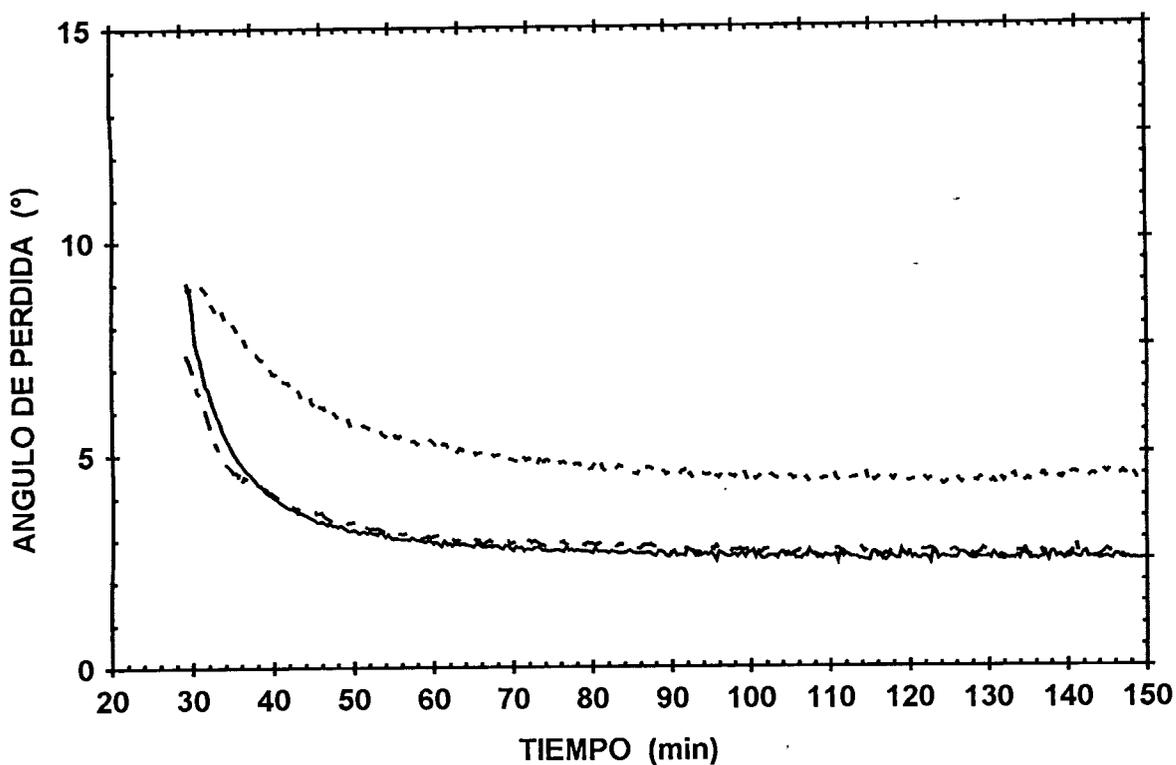


Figura VI.27. Cinética del ángulo de pérdida ( $\delta$ ) del almidón nativo (ALL) al 80% de humedad determinado después de gelatinizado, a 25 °C a tres concentraciones de L- $\alpha$ -lisofosfatidilcolina (LPC). 0.0% (—), 2.33% (-.-) y 20% (- - -) de LPC.

## VII. CONCLUSIONES.

Los almidones obtenidos tuvieron una pureza mayor del 90% y en todos los casos la concentración de amilosa estuvo entre 21.5% y 23.4%, lo que los clasifica como almidones de tipo normal. La concentración de calcio y fósforo se vio afectada por el proceso de nixtamalización industrial, ya que las concentraciones más altas de estos minerales las presentaron los almidones que fueron sometidos al proceso de nixtamalización (ANLL y ANSLL).

La forma de los gránulos de almidón resultó poco afectada por efecto del proceso de nixtamalización y las isothermas de sorción de agua obtenidas se ajustaron bien al modelo de GAB. Aunque el proceso de nixtamalización no tuvo efecto sobre el comportamiento de sorción del agua, los lípidos libres afectaron el valor de las constantes de ajuste de este modelo. El perfil de difracción de rayos X de los almidones no cambió por efecto de la extracción de los lípidos libres, pero sí por la nixtamalización, observándose una disminución en la intensidad relativa y en la definición de los picos de los difractogramas de los almidones nixtamalizados (ANLL y ANSLL) en comparación con los obtenidos a partir de almidones no nixtamalizados (ALL y ASLL).

Se seleccionó la velocidad de 5 °C/min para realizar los análisis térmicos de los almidones debido a que en esta velocidad fue donde se obtuvieron los menores niveles de variación de las propiedades térmicas de los almidones analizados. Además, al utilizar portamuestras de aluminio en los análisis térmicos por DSC se obtuvo en los termogramas un pico endotérmico o exotérmico (Figura VI.6) como respuesta del proceso de oxidación del aluminio por efecto de su reacción con el oxígeno disuelto en el agua; por lo anterior, debe considerarse con mucho cuidado el uso de estos portamuestras, ya que los resultados obtenidos pueden enmascarar procesos de transición asociados a la muestra o bien, puede ser que la transición sea asociada

erróneamente a fenómenos de transición de la muestra.

El proceso de nixtamalización industrial provoca un efecto de anillado sobre el almidón al incrementar los valores de  $T_o$ ,  $T_p$  y  $T_f$  y disminuir el valor del  $\Delta H$  correspondientes al proceso de gelatinización del mismo. Observándose, además una endoterma adicional en los almidones nixtamalizados (ANLL y ANSLL), posiblemente asociada a los almidones dañados por efecto del proceso de nixtamalización industrial. Todos los almidones mostraron una relación positiva entre el valor del  $\Delta H$  y la concentración de agua ( $p < 0.05$ ). El proceso de extracción de los lípidos libres ocasionó que se obtuvieran valores de  $T_p$  con un menor grado de variación en estos sistemas.

Durante el experimento de anillado a 30 °C, realizado con diferentes  $A_w$ , se obtuvo una mejor definición de los espectros de difracción de rayos X después de 40 días de almacenamiento. Mientras que en los termogramas obtenidos mediante DSC se detectaron cambios estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ) después de 98 días de almacenamiento en las  $A_w$  más altas a 30 °C en ALL, en ASLL no se observaron cambios. El tiempo tan largo para notar las diferencias en los valores de  $T_o$ ,  $T_p$  y  $\Delta H$  fue debido a que los valores de  $T_g$  obtenidos para el ALL en particular estuvieron en el intervalo de 60 ° a 62.5 °C, dado que el valor de  $T_g$  determina la velocidad de anillado, lo cual repercute en una velocidad de anillado lenta. Además, se encontró que el proceso de nixtamalización provoca la presencia de dos transiciones de segundo orden, es decir dos  $T_g$ , una relacionada con la transición de los almidones dañados y la segunda con la de los almidones anillados por efecto del proceso de nixtamalización industrial.

La adición de LPC tuvo un efecto sobre las propiedades térmicas, estructurales y mecánicas del almidón de maíz. En los termogramas pudo observarse un cambio en el perfil térmico del almidón por la presencia del fosfolípido (Figura VI.13). En todos los casos en los que se adicionó LPC, se observó una endoterma adicional a temperaturas superiores a las asignadas al proceso de gelatinización del almidón. Esta endoterma se

asoció al fenómeno de disociación (calentamiento) o formación (enfriamiento) del complejo almidón – LPC. Además, modificó los cambios estructurales del almidón durante el proceso de gelación lo cual fue evidente en las microfotografías obtenidas por SEM (Figuras VI.17 a la VI.20) y en los espectros mecánicos obtenidos en el reómetro (Figuras VI.25 a la VI.27).

La adición de LPC al ALL no modificó los valores de  $T_o$  y  $T_f$  pero si afectó los valores de  $T_p$  (se incrementó) y del  $\Delta H$  de gelatinización, el cual se incrementó por encima del valor correspondiente al almidón nativo con 0% de LPC, cuando se emplearon concentraciones de LPC entre 2.33% y 10%, para posteriormente disminuir a valores inclusive por abajo del  $\Delta H$  de gelatinización del almidón en ausencia de LPC ( $p < 0.05$ , Figura VI.16 y Tabla VI.9). El incremento del  $\Delta H$  observado a concentraciones de LPC del 2.33% al 10% se explicó considerando que la LPC se difundió hacia el interior del gránulo de almidón durante su hinchamiento durante la etapa de hinchamiento reversible y además que la interacción de la LPC con los componentes del almidón (principalmente la amilosa y posiblemente las ramificaciones largas de la amilopectina), le confirió estabilidad a la estructura granular del almidón, requiriendo una más alta cantidad de energía (ej., mayor  $\Delta H$  de gelatinización) para desorganizar (gelatinizar) la estructura del gránulo en presencia de LPC (2.33% al 10% de LPC) que la requerida para gelatinizar el gránulo de almidón nativo (0% de LPC). La posterior disminución en el valor del  $\Delta H$  de gelatinización observada a concentraciones de LPC mayores al 10% en el ALL, confirmó que la LPC tiene en realidad un efecto estabilizador de la estructura granular del almidón. Para el mismo intervalo de temperatura de gelatinización (Figura VI.14A), la mayor estabilidad estructural del gránulo de almidón en presencia de LPC ( $> 10\%$ ) resultó en un  $\Delta H$  menor que el observado a concentraciones de LPC  $< 10\%$ . Esta argumentación se sustentó con las microfotografías mostradas en las Figuras VI.17 a la VI.20.

Se concluyó además que el proceso de formación del complejo durante el

primer calentamiento no es un proceso que se desarrolla, como lo han sugerido Biladieris y Tonogai (1991), en el mismo intervalo de temperatura que el proceso de gelatinización. En las condiciones experimentales utilizadas en esta investigación, la LPC tuvo que difundir del exterior y a través del gránulo durante la etapa previa al inicio de la gelatinización. Este trabajo pone en consideración el que el complejo de inclusión amilosa - LPC desarrollado en el almidón en estado granular y bajo condiciones de baja temperatura y de restricción de agua, no necesariamente involucraría un proceso exotérmico durante su formación detectable por medio de DSC, debido principalmente a que el proceso de formación del complejo en la etapa inicial depende de la velocidad de difusión de la LPC y de la velocidad de liberación de las moléculas de amilosa de las zonas amorfas dentro del gránulo de almidón.

Después del calentamiento inicial hasta 130 °C y el subsecuente enfriamiento, la formación adicional del complejo amilosa - LPC fue función de la concentración de LPC presente y de la cantidad de amilosa liberada del gránulo durante el primer calentamiento. Así, al 10% y 20% de LPC se alcanzó el acomplejamiento del total de la amilosa presente en el almidón de maíz, la cual fue liberada después del primer calentamiento (Figura VI.22).

Mediante la ecuación de regresión reportada por Sievert y Lausanne (1993) utilizando los valores del  $\Delta H$  de disociación del complejo durante el segundo calentamiento se estableció que con el uso de una concentración mayor al 10% de LPC se había saturado en su totalidad la amilosa presente en el gránulo del ALL. Así como la factibilidad de que la LPC formara complejos de inclusión con las moléculas de amilopectina.

El perfil térmico del ALL retrogradado en presencia de LPC fue significativamente diferente al obtenido en ausencia del fosfolípido. En el almidón con 0% de LPC se obtuvo únicamente la endoterma correspondiente a la fusión de la amilopectina retrogradada. Sin embargo, la adición de LPC al sistema resultó en la

obtención de una endoterma adicional con  $T_p$  entre 100 ° y 106 °C, cuya magnitud mostró una tendencia a incrementarse en función de la concentración de LPC en el sistema.

De acuerdo con los resultados obtenidos se estableció que la concentración del 10% de LPC prácticamente inhibió el proceso de retrogradación en el ALL, aún después de 14 días de almacenamiento a 4 °C. Si bien, con la experimentación realizada hasta este nivel en esta investigación no puede establecerse inequívocamente cual es el mecanismo principal por el cual la LPC actúa, se consideran dos alternativas principales: 1) la formación del complejo amilopectina – LPC inhibiendo la reorganización de las moléculas de amilopectina dentro del gel del almidón gelatinizado (Biliaderis, 1991a; Biliaderis, 1994), y 2) disminución en la movilidad molecular de las cadenas de amilosa debido a la formación del complejo con la LPC. Este último evento limitaría la formación de las hélices dobles de amilosa durante la recristalización (Hoover, 1998).

En los experimentos reológicos se concluyó que esta técnica detecta las etapas en las cuales se divide el fenómeno de transición de orden – desorden – reordenamiento en el almidón, las cuales son parcialmente detectadas por medio de la técnica de DSC. Ya que con el uso del reómetro se detectaron diferencias en la temperatura de inicio de la gelatinización (Figura VI.26) mientras que con el DSC no se detectaron diferencias en el valor de  $T_o$  (Figura VI.14A). Determinándose adicionalmente por reología las transiciones estructurales asociadas al proceso de gelación de la amilosa observadas a temperaturas por arriba del valor de  $T_f$  de la endoterma de gelatinización, así como durante el enfriamiento del almidón gelatinizado. Estas transiciones fueron afectadas por la presencia de LPC en el almidón, así como también se afectó el nivel de rigidez alcanzado por el gel durante el proceso de retrogradación determinado a 25 °C durante 2 horas después de gelatinizado el sistema.

## VIII. BIBLIOGRAFIA.

- AACC, 1983.** Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 9<sup>th</sup> Ed. St. Paul, MN., EUA.
- Ackman, R. G. y Sipos, J. C. 1964.** Application of specific response factors in the gas chromatographics analysis of methyl esters of fatty acids with flame ionization detectors. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 41: 377.
- Addo, K. y Pomeranz, Y. 1991.** Lipid binding and fatty acid distribution in flour, dough, and baked and steamed bread. *Cereal Chem.* 68: 570 – 572.
- Addo, K. y Pomeranz, Y. 1992.** Effects of lipid and emulsifiers on alveograph characteristics. *Cereal Chem.* 69: 6 – 12.
- AOAC. 1980.** Official methods of analysis. 13<sup>a</sup> Ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. EUA.
- Atkins, A. G. 1986.** Physical chemistry, 3ed. Oxford University Press, Walton street, Oxford, Inglaterra.
- Atkins, A. G. 1987.** Basic principles of mechanical failure in biological systems. En "Food Structure and Behavior", Blanshard, J. M. V. y Lillford, P. Academic press, Londres, Inglaterra. pp. 149 – 176.
- Ball, S. G. 1995.** Recent views on the biosynthesis of the plant starch granule. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology.* 37: 405 – 415.
- Bannon, C. D., Craske, J. D., Ngo Trong Hai, Harper, N. L., y O'Rourke, K. I. 1982.** Analysis of fatty acids methyl esters with accuracy and reliability. *J. Chrom.* 247: 63 – 69.

- Bedolla, S. y Rooney, L. W. 1984.** Characteristics of U.S. and Mexican instant maize flours for tortilla and snack preparation. *Cereal Foods World* 29: 732 – 735.
- Bello-Pérez, L. A. 1995.** Amilopectina – caracterización molecular y funcional. Tesis Doctoral. CINVESTAV-IPN. Irapuato, México.
- Biliaderis, C. G. 1994.** Characterization of starch networks by small strain dynamic rheometry. En “Developments in Carbohydrate Chemistry”. Alexander, R. J. y Zobel, H. F. (Eds). 2ª Edt. AACC, St. Paul, MN, EUA.
- Biliaderis, C. G. y Prokopowich, D. J. 1994.** Effect of polyhydroxy compounds on structure formation in waxy maize starch gels: a calorimetric study. *Carbohydr. Polym.* 23: 193 – 202.
- Biliaderis, C. G. y Tonogai, J. R. 1991.** Influence of lipids on the thermal and mechanical properties of concentrated gels. *J. Agric. Food Chem.* 39: 833 – 840.
- Biliaderis, C. G., 1991a.** The structure and interactions of starch with food constituents. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 69: 60 – 78.
- Biliaderis, C. G., 1991b.** Non-equilibrium phase transitions of aqueous starch systems. En “Water Relationships in Foods”. Levine, H. y Slade, L. (Eds.). Plenum Press, Nueva York, EUA. pp. 251 – 273.
- Biliaderis, C. G., 1992.** Structure and phase transitions of starch in food systems. *Food Technol.* 46(6): 98 – 109.
- Biliaderis, C. G., Page, C. M., Maurice, T. J., y Juliano, B. O. 1986.** Thermal characterization of rice starches: A polymeric approach to phase transitions of granular starch. *J. Agric. Food Chem.* 34: 6 – 14.

- Boistelle, R. 1988.** Fundamentals of nucleation and crystal growth. En "Crystallization and Polymorphism of Fat and Fatty Acids". Garti, N. y Sato, K. (Eds). Marcel Dekker, Inc. Nueva York, EUA. pp. 189 – 226.
- Bressani, R., Paz, R. P., y Scrimshaw, N. S. 1958.** Chemical changes in corn during preparation of tortillas. *J. Agric. Food Chem.* 6: 770 – 774.
- Brockett, E., Thompson, D., Davis, T., y Boyer, C. 1988.** Gelatinization characteristics of starch from *du*, *wx*, *ae* and *ae wx* endosperm of sweet corn inbred Ia5125. *Satrch / Stärke.* 40 : 175 – 177.
- Buléon, A., Colonna, P., y Leloup, V. 1990.** Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. *Industries alimentaires et agro-industrielles.* Juin. 515–532.
- Buléon, A., Duprat, F., Booy, F. P. y Chanzy. H. 1984.** Single crystals of amylose with a low degree of polymerization. *Carbohydr. Polym.* 4: 161 – 173.
- Cabrera, L. 1992.** Diccionario de aztequismos. Edit. COLOFON. 1a. edición. México.
- Carr, N. O., Daniels, W. R. y Frazier, P. J. 1992.** Lipid interactions in breadmaking. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 31 (3): 237 – 258.
- Champion, D., Le Meste, M., y Simatos, D. 2000.** Towards an improved understanding of glass transition and relaxations in food: molecular mobility in the glass transition range. *Trends Food Sci. Technol.* 11 : 41 – 55.
- Chang, S. M. y Liu, L. C. 1991.** Retrogradation of starches studied by differential scanning calorimetry and influence of sugars, NaCl and lipids. *J. Food Sci.* 56: 564 – 566.

- Chinachoti, P. 1993.** Water mobility and its relation to functionality of sucrose-containing food systems. *Food Technol.* 47 (1): 134 – 140.
- Chinachoti, P., Kim-Shin, M. S., Mari, F. y Lo, L. 1991.** Gelatinization of wheat starch in the presence of sucrose and NaCl: Correlation between gelatinization temperature and water mobility as determined by O17 NMR. *Cereal Chem.* 68: 245 – 248.
- Conde-Petit, B. y Escher, F. 1994.** Influence of starch-lipid complexation on the ageing behaviour of high concentration starch gels. *Starch / Stärke.* 46: 172 – 177.
- Diosady, L. L., Rizvi, S. S. H., Cai, W., y Jagdeo, D. J. 1996.** Moisture sorption isotherms of canola meals, and applications to packaging. *J. Food Sci.* 61: 204 – 208.
- Doane, W. M. 1994.** Opportunities and challenges for new industrial uses of starch. *Cereal Foods World.* 39: 556 – 563.
- Donovan, J. W. 1979.** Phase transitions of starch-water system. *Biopolymers.* 18: 263 – 275.
- Doublier, L. J. y Choplin, L. 1989:** A rheological description of amylose gelation. *Carbohydrate Research.* 193: 215 – 226.
- Ehrenfest, P. 1933.** Proc. Acad. Sci., Amsterdam, Holanda 36: 153 - 200.
- Eliasson, A. C. 1986.** Viscoelastic behavior during the gelatinization of starch. I. Comparison of wheat, maize, potato and waxy-barley starches. *J. Text. Stud.* 17 : 253.
- Eliasson, A. C. 1994.** Interactions between starch and lipids studied by DSC. *Thermochimica Acta.* 246: 343 – 356.

- Eliasson, A. C., Finstand, H., y Ljunger, G. 1988.** A study of starch-lipid interactions for some native and modified maize starches. *Starch / Stärke*. 40: 95 – 100.
- Ellis, R. P., Cochrane, M. P., Dale, M. F. B., Duffus, C. M., Lynn, A., Morrison, I. M., Prentice, R. D. M., Swantson, J. S., y Tiller, S. A. 1998.** Starch production and industrial use. *J. Sci. Food Agric*. 77: 289 – 311.
- Fennema, O. R. 1985.** Water and ice. En "Food Chemistry", Fennema, O. R. (Ed.) Marcel Dekker, Inc., Nueva York, EUA. pp. 23 – 68 .
- Ferry, J. D. 1980.** Viscoelastic properties of polymers, 3rd Edn. John Wiley, Nueva York, EUA.
- Fisher, D. K. y Thompson, D. B. 1997.** Retrogradation of maize starch after thermal treatment within and above the gelatinization temperature range. *Cereal Chem*. 74: 344 – 351.
- Fontaine, T., D'Hulst, C. Maddelein, M. -L., Routier, F., Pépin, T. M., Decq, A., Wieruszeski, J. -M., Delrue, B., Koomhuyse Van den, N., Bossu, J. -P., Fournet, B., y Ball, S. 1993.** Towards an understanding of the biogenesis of the starch granule. *J. Biological Chem*. 68: 16223 – 16230.
- Gemat, Ch., Radosta, S., Teltow, S., Anger, H., Bergholz, R., y Damaschum, G. 1993.** Crystalline parts of three different conformations detected in native and enzymatically degraded starches. *Starch / Stärke*. 45: 309 – 314.
- Ghiasi, K., Hoseney, R. C., y Varriano-Marston, E. 1982.** Effects of flour components and dough ingredients on starch gelatinization. *Cereal Chem*. 60: 58 – 61.
- Gibson, T. S. Solah, V. A., y McCleary, V. 1997.** A procedure to measure amylose in cereal starches and flours with concanavalin A. *J. Cereal Sci*. 25: 111 – 119.

- Godet, M. C. 1994.** Mecanismos de formación des complexes amylose-acide gras. Tesis Doctoral. Universidad de Nantes. Francia.
- Godet, M. C., Bizot, H., y Buléon. A. 1995.** Crystallization of amylose-fatty acid complexes prepared with different amylose chain lengths. *Carbohydr. Polym.* 21: 47 – 52.
- Gómez-Aldapa, C. A., Martínez-Bustos, F., Figueroa, J. D. C., Ordorica-Falomir, C. A., y González-Hernández, J. 1996.** Cambios en algunos componentes químicos y nutricionales durante la preparación de tortillas de maíz elaboradas con harinas instantáneas obtenidas por extrusión continua. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* 46 (4) 315 – 319.
- Grant, L. A. 1998.** Effects of starch isolation, drying, and grinding techniques on its gelatinization and retrogradation properties. *Cereal Chem.* 75: 590 – 594.
- Gudmundsson, M. 1994.** Retrogradation of starch and the role of its components. *Thermochimica Acta.* 246: 329 – 341.
- Guilbot, A. y Mercier, C. 1985.** Starch. En "The Polysaccharides". Aspinall, A. (Ed). Academic Press, Nueva York, EUA. pp. 209 – 282.
- Guzmán-Maldonado, H. 1992.** Optimización de un procedimiento enzimático para la licuefacción y sacarificación del almidón mediante la metodología de superficie de respuesta. Tesis de Maestría. CINVESTAV-IPN. Irapuato, México.
- Hansen, L. M., Hosney, R. C., y Faubion, J. M. 1991.** Oscillatory rheometry of starch-water systems: effect of starch concentration and temperature. *Cereal Chem.* 68: 347 – 351.

- Hartel, R. W. 1992.** Solid-liquid equilibrium: crystallization in foods. En "Physical Chemistry of Foods", Schwartzberg, H. G. y Hartel, R. W. (Eds). Marcel Dekker, Inc., Nueva York, EUA. pp. 47 – 81.
- Hibi, Y., Kitamura, S., y Kuge, T. 1990.** Effect of lipids on the retrogradation of coked rice. *Cereal Chem.* 67: 7 – 10.
- Hikone, Y. H. 1994.** Effect of lipids on the viscoelastic properties of rice starch gel. *Starch / Stärke.* 46: 44 – 48.
- Hood, L. F. 1982.** Current concepts of starch structure. Cap. 13. En "Food Carbohydrates." Lineback, D. R. y Inglett, G. E. (Eds). AVI Publishing Inc. Westport. CT, EUA.
- Hoover, R. 1998.** Starch – lipid interactions. Cap. 7. En "polysaccharide association structures in food." Walter, R. H. (Editor). Marcel Dekker, Inc. Nueva York, EUA. pp. 227 – 256.
- Hoseney, R. C., Zeleznak, K. J., y Yost, D. A. 1986.** A note on the gelatinization of starch. *Starch / Stärke.* 38: 407 – 409.
- Imberty, A., Buléon, A., Tran, V., y Pérez, S. 1991.** Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch / Stärke.* 43: 375 – 384.
- Inglett, G. E. 1970.** Kernel structure, composition, and quality. Cap. 7 En "Corn: culture, processing products. Mayor feed and food crops in agriculture and food series". Inglett G. E. (Ed). The AVI publishing, Co. Inc. Westport CT, EUA.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 1993.** Censo, México, D. F.

- Jane, J., Shen, L., Wang, L., y Maningat, C. C. 1992.** Preparation and properties of small-particle corn starch. *Cereal Chem.* 69: 280 –283.
- Jouppila, K., Kansikas, J., y Roos, Y. H. 1996.** Formation of crystallinity in gelatinized corn starch. Paper 89D-11, Institute of °Food Technologist Annual Meeting, Nueva Orleans, EUA.
- Jovanovich, G., Zamponi, R. A., Lupano, C. E., y Añón, M. C. 1992.** Effect of water content on the formation and dissociation of the amylose-lipid complex in wheat flour. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1789 – 1793.
- Katz, S. H., Hediger, M. L., y Valleroy, L. A. 1974.** Traditional maize processing techniques in the new world. *Science* 184: 765 – 773.
- Keetels, C. J. A., van Vliet, T. Jurgens, A., y Walstra, P. 1996.** Effects of lipid surfactants on the structure and mechanics of concentrated starch gels and starch bread. *J. Cereal Sci.* 24: 33 – 45.
- Knutson, C. A. 1990.** Annealing of maize starches at elevated temperatures. *Cereal Chem.* 67: 376 – 384.
- Koornhuysen Van den, N., Libessart, N., y Ball, S. 1996.** Vers une compréhension de la biogenèse du grain d'amidon chez les plantes. *Regard sur la Biochimie.* 1: 43 – 48.
- Krueger, B. R., Walker, C. E., Knutson, C. A., e Inglett. 1987.** Differential Scanning calorimetry of raw and annealed starch isolated from normal and mutant maize genotypes. *Cereal Chem.* 64: 187 – 190.
- Labuza, T. P. 1980.** The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. *Food Technol.* 34 (4): 36 – 41.

- Labuza, T. P., Kaanane, A., y Chen, J. Y. 1985.** Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity of two dehydrated foods. *J. Food Technol.* 50: 385 – 391.
- Lai, L. S. y Kokini, J. L. 1991.** Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion (a review). *Biotechnol. Progress.* 7: 251 –266.
- Larsson, I. y Eliasson, A. Ch. 1991.** Annealing of starch at intermediate water content. *Starch / Stärke.* 43: 227 – 231.
- Le Bail, P., Bizot, H., Ollivon, M., Keller, G., Bourgaux, C., y Buléon, A. 1999.** Monitoring the crystallization of amylose-lipid complexes during maize starch melting by synchrotron X-ray diffraction. *Biopolymers.* 50: 99 – 110.
- Leloup, V., Colonna, P., y Ring, S. G. 1990.** Studies on probe diffusion and accessibility in amylose gels. *Macromolecules.* 23: 862 - 866.
- Levine, H. y Slade, L. 1986.** A polymer physicochemical approach to the study of commercial starch hydrolysis products (SHPs). *Carbohydr. Polym.* 6: 213 – 244.
- Levine, H. y Slade, L. 1988.** Water as plasticizer: physico-chemical aspects of low-moisture polymeric systems. En “Water Science Reviews”, vol. 3. Franks, F. (Ed). Cambridge, Inglaterra. pp. 79 – 150.
- Levine, H. y Slade, L. 1990.** Cryostabilization technology: thermoanalytical evaluation of food ingredients and systems. En “Thermal Analysis of Foods”, Ma, C. Y. y Harwalkar, V. R. (Eds). Elsevier Applied Science, Londres, Inglaterra. pp. 221 – 305.

- Levine, H. y Slade, L. 1992.** Glass transition in foods. En "Physical Chemistry of Foods", Schwartzberg, H. G. y Hartel, R. W., (Eds). Nueva York. EUA. Marcel Dekker. pp. 83 – 221.
- Lewicki, P. P. 1997.** The applicability of the GAB model to food water sorption isotherms. *Int. J. Food Sci. Technol.* 32: 553 – 557.
- Lii, Ch. Y., Shao, Y. Y., y Tseng, K. H. 1995.** Gelation mechanism and rheological properties of rice starch. *Cereal Chem.* 72: 393 – 400.
- Lillford, P. J. 1988.** The polymer / water relationship - its importance for food structure. En "Food structure - its Creation and Evaluation", Blanshard J. M. V. y Mitchell, J. R. (Eds). Butterworths, Londres. pp. 75 – 92.
- Lin, P. Y. y Czuchajowska, Z. 1998.** Role of phosphorus in viscosity, gelatinization, and retrogradation of starch. *Cereal Chem.* 75: 705 – 709.
- Lineback, D. R. 1984.** The starch granule. Organization and properties. *Baker Digest.* March: 16 – 21.
- Lineback, D. R. y Rasper, V. F. 1988.** Wheat carbohydrates. En "Wheat: Chemistry and Technology". Vol. I, Pomeranz, Y. (Ed). AACC, Inc. St. Paul, MN, EUA. pp. 277 – 372.
- Liu, H. Arntfiel, S. D., Holley, R. A., y Aime, D. B. 1997.** Amylose-lipid complex formation in acetylated pea starch-lipid systems. *Cereal Chem.* 74: 159 – 162.
- Liu, H. y Lelièvre, J. 1991.** Effects of heating rate and sample size on differential scanning calorimetry traces of starch gelatinized at intermediate water levels. *Starch / Stärke.* 43: 225 – 227.

**Lund, D. 1984.** Influence of time, temperature, moisture, ingredients and processing conditions on starch gelatinization. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 20: 249 – 273.

**MacAllister, R. V. 1979.** Nutritive sweeteners made from starch. En “Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry”, Vol. 36, Tipson, S. y Horton, D. (Eds). Academic Press, Inc. Nueva York, EUA. pp. 15 – 56.

**McCrone, W. C. 1974.** Polarized light microscopy. Ann Arbor Sci. Publishers EUA.

**Moreyra, R. y Peleg, M. 1981.** Effect of equilibrium water activity on the bulk properties of selected food powders. *J. Food Sci.* 46: 1918 – 1922.

**Morris, V. J. 1990.** Starch gelation and retrogradation. *Trends Food Sci. Technol.* 1: 2–6.

**Morrison, W. R., Tester, R. F., Snape, C. E., Law, R., y Gidley, M. J. 1993.** Swelling and gelatinization of cereal starches. IV. Some effects of lipid-complexed amylose and free amylose in waxy and normal barley starches. *Cereal Chem.* 70: 385 – 391.

**Morrison, W.R. 1988.** Lipids in cereal starches: a review. *J. Cereal Sci.* 8: 1 – 15.

**Morrison, W.R. 1995.** Starch lipids and how they relate to starch granule structure and functionality. *Cereal Foods World.* 40: 437 – 446.

**Navarro, A. S., Martino, M. N., y Zaritzky, N. E. 1996.** Modelling of rheological behaviour in starch-lipid systems. *Lebensm Wiss u-Technol.* 29: 632 – 639.

**Nicholls, R. J., Appelqvist, Y. A. M., Davies, A. P., Ingman, S. J., y Lillford, P. J. 1995.** Glass transitions and the fracture behavior of gluten and starches within the glassy state. *J. Cereal Sci.* 21: 25 – 36.

- Özilgen, S. y Reid, D. S. 1993.** The use of DSC to study the effects of solutes on heterogeneous ice nucleation kinetics in model food emulsion. *Lebensm. Wiss. alfa-Technol.* 26: 116 – 120.
- Paredes-López, O. y Saharópulos-Paredes, M. E. 1983.** Maize. A review of tortilla production technology. *Bakers Digest. Sep.* 16 – 25.
- Paredes-López, O., Barba de la Rosa, A. P., Hernández-López, D., y Cárabez-Trejo, A. 1990.** Amaranto- Características alimentarias y aprovechamiento agroindustrial. Secretaría General de los Estados Americanos. Washington, DC. EUA.
- Perez, J. 1994.** Theories of glass transition. *J. Food Eng.* 22: 89 – 114.
- Piazza, L. y Masi, P. 1995.** Moisture redistribution throughout the bread loaf during staling and its effect on mechanical properties. *Cereal Chem.* 72: 320 – 325.
- Pomeranz, Y. 1985.** Wheat flour lipids-what they can and cannot do in bread. *Cereal Food World.* 30: 443 – 446.
- Pomeranz, Y. 1991.** Structural properties of food components. Capitulo 1, 2th Ed. Academic Press. Londres, Inglaterra. pp. 3 – 23.
- Qi, Z. H. y Xu, A. 1999.** Starch-based ingredients for flavor encapsulation. *Cereal Foods World.* 44: 460 – 465.
- Raphaelides, S. y Karkalas, J. 1988.** Thermal dissociation of amylose – fatty acid complexes. *Carbohydrate Research.* 172: 65 – 82.
- Reyes, C. P. 1990.** El maíz y su cultivo. Edit. AGT Editor S.A., 1ra. Ed. México, D.F.
- Ring, S. G. 1985.** Some studies on starch gelation. *Starch / Stärke.* 37: 80 – 83.

- Ring, S. G., Colonna, P., L`Anson, K. J., Kalichevsky, M. T., Miles, M. J., Morris, V. J., y Orford, P. D. 1987.** The gelation and crystallization of amylopectin. *Carbohydr. Research.* 162: 277 – 293.
- Roger, P. y Colonna, P. 1992.** The influence of chain length on the hydrodynamic behavior of amylose. *Carbohydr. Research.* 227: 73 – 83.
- Roger, P. y Colonna, P. 1993.** Evidence of the presence of large aggregates contaminating amylose solutions. *Carbohydr. Polym.* 21: 83 – 89.
- Rooney, L. W. y Serna-Saldívar, S. O. 1987.** Foods uses of whole corn and dry-milled fraction. Cap. 13. En: “ Corn: Chemistry and Technology.” Watson, S. A. y Ramstad. P. E. (Eds). AACC, Inc., St. Paul, MN, EUA. pp. 399 – 429.
- Rooney, L. W. y Suhendro, E. L. 1999.** Perspectives on nixtamalization (alkaline cooking) of maize for tortillas and snacks. *Cereal Food World.* 44: 466 – 470.
- Roos, Y. 1993.** Water activity and physical state effects on amorphous food stability. *J. Food Process. Preserv.* 16: 433 – 447.
- Roos, Y. 1995a.** Phase transitions in food. Academic Press. Nueva York, EUA.
- Roos, Y. 1995b.** Water activity and glass transition temperature: how do they complement and how do they differ?. En “Food Preservation by Moisture Control. Fundamentals and Applications”, Barbosa-Cánovas, G. V., y Welti-Chanes, J. (Eds), Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster, Pen, EUA. pp. 133 – 154.
- Roos, Y. y Karel, M. 1991a.** Applying state diagrams to food processing and development. *Food Technol.* 45 (12): 66 – 71.

- Roos, Y. y Karel, M. 1991b.** Plasticizing effect of water on thermal behavior and crystallization of amorphous food models. *J. Food Sci.* 56: 38 – 42.
- Russell, P. L. 1983.** A kinetic study of bread staling by differential scanning calorimetry and compressibility measurements. The effect of added monoglyceride. *J. Cereal Sci.* 1: 297 – 303.
- Sanders, E. B., Thompson, D. B., y Boyer, C. D. 1990.** Thermal behavior during gelatinization and amylopectin fine structure for selected maize genotypes as expressed in four inbred lines. *Cereal Chem.* 67: 594 – 602.
- Schmidt, R. K., Tasaki, K., y Brady, J. W. 1994.** Computer modeling studies of the interaction of water with carbohydrates. *J. Food Eng.* 22: 43 – 57.
- Sears, J. K. y Darby, J. R. 1982.** The technology of plasticizer. Wiley-Interscience, Nueva York, EUA.
- Seow, C. C. y Teo, C. H. 1993.** Annealing of granular rice starches – Interpretation of the effect on phase transitions associated with gelatinization. *Starch / Stärke.* 45: 345 – 351.
- Serna-Saldívar, S. O., Cannet, R., Vargas, J., González, M., Bedolla, S., y Medina, C. 1988a.** Effect of soybean and sesame addition on the nutritional value of maize and decorticated sorghum tortillas produced by extrusion cooking. *Cereal Chem.* 64: 44 – 48.
- Serna-Saldívar, S. O., Gómez, M. H., y Rooney, L. W. 1990.** Technology, chemistry and nutritional value of alkaline-cooked corn products. Cap. 4. En: “Advances in Cereal Science and Technology.” Vol X., Pomeranz, Y. (Ed). AACC, Inc., St. Paul, MN, EUA. pp. 243 – 307.

- Serna-Saldívar, S. O., Téllez-Girón, A., y Rooney, L. W. 1988b.** Production of tortilla chips from sorghum and maize. *J. Cereal Sci.* 8: 275 – 284.
- Sievert, D. y Lausanne, J. H. 1993.** Determination of amylose by differential scanning calorimetry. *Starch / Stärke.* 45: 136 – 139.
- Simatos, D., Blond, G. y Perez, J. 1995.** Basic physical aspects of glass transition. En “Food Preservation by Moisture Control. Fundamentals and Applications”, Barbosa-Cánovas, G. V., y Welti-Chanes, J. (Eds), Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster, Pen. EUA. pp. 3 – 31.
- Slade, L. y Levine, H. 1988a.** Structural stability of intermediate moisture foods - a new understyng? En “Food Structure - its Creation and Evaluation”, Mitchell, J. R. y Blanshard, J. M. V. (Eds), Butterworths, Londres, Inglaterra. 115.
- Slade, L. y Levine, H. 1988b.** Non-equilibrium melting of native granular starch: Part I. Temperature location of the glass transition associated with gelatinization of A-type cereal starches. *Carbohydr. Polym.* 8: 183 – 208.
- Slade, L. y Levine, H. 1991a.** Beyond water activity: recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 30 (2-3): 115 – 360.
- Slade, L. y Levine, H. 1991b.** A polymer science approach to structure/property relationships in aqueous food systems: non-equilibrium behavior of carbohydrate-water systems. En “Water Relationships in Food”, Levine, H. y Slade, L., (Eds), N.Y., EUA. Plenum Press. pp. 29 – 101.
- Slade, L. y Levine, H. 1994.** Water and the glass transition - dependence of the glass transition on composition and chemical structure: special implications for flour functionality in cookie baking. *J. Food Eng.* 22: 143 – 188.

- Slade, L. y Levine, H. 1995.** Polymer science approach to water relationships in food. En "Food Preservation by Moisture Control. Fundamentals and Applications", Barbosa-Cánovas, G. V. y Welti-Chanes, J. (Eds), Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster, Pen, EUA. pp. 33 – 132.
- Sperling, L. H. 1986.** Introduction to physical polymer science. Jonh Wiley y Sons (Eds), N.Y. UEA.
- Statistica user's guide. 1996.** Statistica for windows. Version 5.0. Statsoft, Tulsa, OK, EUA.
- Tester, R. F. y Morrison, W. R. 1990.** Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose, and lipids. *Cereal Chem.* 67: 551 – 557.
- Trejo-González, A. Feria-Morales, A., y Wild-Altamirando, C. 1982.** The role of lime in the alkaline treatment of corn for tortilla preparation. pp. 245 – 262. En: "Modification of proteins: Food, Nutritional and Pharmacological Aspects". Feeney, R. E. y Whitaker, J. R. (Eds) Adv. Chem. Ser. No. 198. American Chemical Society, Washington, D. C., EUA:
- van den Berg, C. 1986.** Water activity, En "Concentration and Drying of Foods". MacCarthy, D. (Ed.), Elsevier Applied Science, Londres, Inglaterra. 11 – 30.
- Vázquez, C. M. G., Márquez, S. A. R., y Márquez, S. F. 1990.** Evaluación física, química y tortillera del compuesto pepitilla de maíz. *Rev. Fitotecnia Mexicana.* 13: 10 – 13.
- Waniska, R. D. y Gómez, M. H. 1992.** Dispersion behavior of starch. *Food Technol.* 46(6): 110 – 123.

- Wasserman, B. P., Harn, C., Mu-Forster, C., y Huang, R. 1995.** Biotechnology progress toward genetically modified starches. *Cereal Foods World*. 40: 810 – 817.
- Watson, S. A. 1987.** Structure and composition, Cap. 3. En “ Corn: Chemistry and Technology”. Watson, S. A. y Ramstad, P. E. (Eds) AACC, Inc. St. Paul, MN., EUA.
- Weber, E. J. 1987.** Lipids of the kernel. Cap. 10. En: “ Corn: Chemistry and Technology”. Watson, S. A. y Ramstad, P. E. (Eds) AACC, Inc. St. Paul, MN., EUA.
- White, G. W. y Cakerbread, S. H. 1966.** The glassy state in certain sugar-containing food products. *J. Food Technol.* 1: 73 – 82.
- Whittam, M. A., Noel, T. R., y Ring, S. G. 1991.** Melting and glass/rubber transitions of starch polysaccharides. Cap. 22 En “Food Polymers, Gels, and Colloids”, Dickinson, E. (Ed), The Royal Society of Chemistry, Cambridge, Inglaterra. pp. 277 – 288.
- Wolf, M. J., Buzan, C. L., MacMasters, M. M., y Rist, C. E. 1952a.** Structure of the mature corn kernel. I. Gross anatomy and structural relationships. *Cereal Chem.* 29: 321 – 333.
- Wolf, M. J., Buzan, C. L., MacMasters, M. M., y Rist, C. E. 1952b.** Structure of the mature corn kernel. II. Microscopic structure of pericarp, seed coat, and hilar layer of dent corn. *Cereal Chem.* 29: 334 – 348.
- Wolf, M. J., Buzan, C. L., MacMasters, M. M., y Rist, C. E. 1952c.** Structure of the mature corn kernel. III. Microscopic structure of the endosperm of dent corn. *Cereal Chem.* 29: 349 – 361.

- Wolf, M. J., Buzan, C. L., MacMasters, M. M., y Rist, C. E. 1952d.** Structure of the mature corn kernel. IV. Microscopic structure of the germ of dent corn. *Cereal Chem.* 29: 362 – 382.
- Yun, S. H. y Matheson, N. K. 1990.** Estimation of the amylose content of starches after precipitation of amylopectin by concanavalin A. *Starch / Stärke.* 42: 302 – 305.
- Zhao, J. y Whistler, R. L. 1994a.** Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. *Food Technol.* 48(7): 104 – 105.
- Zhao, J. y Whistler, R. L. 1994b.** Isolation and characterization of starch from amaranth flour. *Cereal Chem.* 71: 392 - 393.
- Zobel, H. F. 1964.** X-ray analysis of starch granules. En "Methods in Carbohydrate Chemistry", Vol. IV. Whistler, R. L. (Ed). Academic Press, Inc., N.Y., EUA. pp. 109 – 113.
- Zobel, H. F. 1988a.** Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch / Stärke.* 40: 1 – 7.
- Zobel, H. F. 1988b.** Molecules to granules: a comprehensive starch review. *Starch / Stärke.* 40: 44 – 50.