



**Universidad Autónoma De
Querétaro Facultad De Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

“Propiedades tecno-funcionales y digestibilidad *in vitro* de un ingrediente con base en almidón de maíz criollo”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de

MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Presenta

IQ. en Al. María Fernanda Dorantes

Campuzano Dirigida por:

Dra. Marcela Gaytán Martínez

Co-dirigida por:

Dra. María del Mar Villamiel Guerra

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Universidad Autónoma De Querétaro

Facultad De Química

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“Propiedades tecno-funcionales y digestibilidad *in vitro*”





Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Efecto de la adición de grasa animal en la formación
de complejos amilosa-lípidos en maíz Cacahuacintle
durante la elaboración de pozole.

por

María Fernanda Dorantes Campuzano

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: FQLIN-253065

de un ingrediente con base en almidón de maíz
criollo”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de

**MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS** Presenta

IQ. en Al. María Fernanda Dorantes Campuzano

Dirigida por:

Dra. Marcela Gaytán Martínez

Co-dirigida por:

Dra. María del Mar Villamiel Guerra

Dra. Marcela Gaytán Martínez
Director

Dra. María Del Mar Villamiel Guerra
Co-director

Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz
Asesor

Dr. Mario Enrique Rodríguez García
Asesor

Dr. Ricardo Ernesto Preciado Ortíz
Asesor

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Noviembre 2022
México

Dedicatoria

A mis abuelos, que son siempre mi puerto seguro.

Agradecimientos

A mis abuelos, que han sido incondicionales en mi vida académica, pero sobre todo en la personal, y a mamá, que me ha apoyado desde el segundo uno en el que decidí empezar la maestría. Gracias por todo el apoyo brindado durante estos dos últimos años. A mi hermano, por distraerme en los momentos de mucho estrés hablando de lo que más nos apasiona. A mis tíos y primos, que siempre me han motivado a seguir en el camino de la preparación e investigación, que siempre me han motivado a superarme.

A la Dra. Marcela, gracias por darme la oportunidad de aprender, de motivarme y de compartir conmigo toda su experiencia dentro del campo de la investigación, pero, sobre todo, por compartir momentos muy importantes de su vida y guiarme durante todo el posgrado.

A la Dra. Mar, por darnos una bienvenida maravillosa en el CIAL y la oportunidad de trabajar de su mano para la culminación del proyecto, y a Toñi por siempre estar disponible para todas las dudas que surgían.

Agradezco a CONACYT por el apoyo para la realización de mi tesis de Maestría. A

mi alma mater, la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Facultad de Química por brindarme apoyo a través del fondo “Química Somos Todos 2021”.

Agradezco al Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) por el apoyo brindado para la realización de una estancia internacional en sus instalaciones. Al Centro de Investigación en Ciencias Aplicadas y Tecnología Avanzada (CICATA), en especial al Dr. Morales, así como a la Universidad Nacional Autónoma de México Campus Juriquilla, en especial al Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) por el apoyo brindado durante la realización del presente trabajo. Y finalmente, al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Bajío, por la materia prima (maíz) para realizar el presente trabajo.

A Ángel, que una vez más me apoyó durante todo el posgrado, y pude compartir con él una estancia en el extranjero. A Italia, gracias por toda la confianza, apoyo y paciencia, por todos los momentos compartidos, que han sido muchos, en nuestro natal Madrid, en Sevilla, Málaga, Granada, Italia y muchos lugares más.

A Paula (chachi), que me hizo sentir como en casa durante toda mi estancia en Madrid, por todos los momentos, risas y los cinco minutitos de lágrimas en las escaleras. A los chicos del CIAL, Manu, Olivia, Pablo, Diego, Matías y Sara, por darme la oportunidad de conocerlos, por las salidas al centro y alrededores de Madrid, y sobre todo los cafecitos por la mañana.

A mis amigos de posgrado, Ely, Vane, Isac y Fer, por siempre darme ánimos y motivarme.

A mis roomies, Emma, Nana y Katya, que me acompañaron durante estos dos años de posgrado, en momentos tristes, felices y me escucharon en cada momento. Las quiero.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria.....	
Agradecimientos	
ÍNDICE DE CUADROS.....	iv

ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Maíz.....	3
2.1.1 Maíces criollos.....	5
2.1.2 Aprovechamiento de variedades criollas	5
2.2 Generalidades del almidón	6
2.2.1 Amilosa.....	8
2.2.2 Amilopectina.....	9
2.2.3 Propiedades funcionales del almidón.....	9
2.2.4 Fracciones de almidón	11
2.2.5 Fermentación de almidón resistente.....	12
2.3 Hidrocoloides.....	13
2.3.1 Pectina	14
2.3.2 Propiedades tecno-funcionales de la pectina.....	15
2.3.3 Propiedades nutracéuticas de la pectina.....	16
2.4 Interacción entre sistemas de almidón-hidrocoloides	17
2.4.1 Interacción sistema almidón-pectina	18
Digestión del almidón y de la pectina	20
Tratamiento térmico del almidón.....	22
HIPÓTESIS	24
OBJETIVOS	24
Objetivo general.....	24
Objetivos específicos.....	24
5. METODOLOGÍA.....	25
5.1 Material biológico.....	25
5.2 Caracterización física de los maíces nativos	25
5.3 Aislamiento de almidón de	25

maíz.....	25
5.3.1 Caracterización química de almidones nativos provenientes de los maíces estudiados.....	26
5.4 Caracterización de pectina	26
5.4.1 Composición monomérica	26
5.4.2 Grado de metil esterificación	27
5.4.3 Peso molecular.....	27
5.5 Formación del sistema almidón-pectina	28
5.6 Caracterización de los sistemas almidón-pectina.....	28
5.6.1 Microestructura.....	28
5.6.2 Difracción de rayos X	29
5.6.3 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR).....	29
5.6.4 Propiedades térmicas.....	29
5.6.5 Propiedades de pasta.....	30
5.6.6 Sinéresis del sistema almidón-pectina	31
5.6.7 Propiedades de textura	31
5.6.8 Índice de absorción y solubilidad en agua.....	31
5.7 Modelo de digestión <i>in vitro</i> con extracto de intestino delgado de rata (EIDR)	32
5.7.1 Reactivos y estándares	32
5.7.2 Material a estudiar.....	32
5.7.3 Caracterización del extracto de intestino delgado de rata (EIDR)	33
5.7.4 Digestión <i>in vitro</i> de la muestra	33
5.7.5 Análisis de la evolución de la digestión <i>in vitro</i>	33
5.8 Análisis estadístico	34
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
6.1 Caracterización física de los maíces estudiados	35
6.2 Caracterización química de los almidones nativos aislados de HPZ 1 y HPal 1.....	37
6.3 Caracterización de pectina	38

6.3.1 Composición monomérica	38
6.3.2 Grado de metil esterificación	41
6.3.3 Peso molecular.....	42
6.4 Caracterización de complejos almidón-pectina	43
6.4.1 Microestructura.....	43
6.4.2 Difracción de rayos X	44
6.4.3 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR).....	46
6.4.4 Propiedades térmicas.....	49
6.4.5 Propiedades de pasta.....	52
6.4.6 Sinéresis del sistema almidón-pectina	57
6.4.7 Índice de absorción y solubilidad en agua.....	58
6.5. Modelo de digestión <i>in vitro</i> con extracto de intestino delgado de rata (EIDR)	62
6.5.1 Caracterización del extracto de intestino delgado de rata (EIDR)	62
6.5.1 Digestión <i>in vitro</i> de la muestra HPZ 1	63
7. CONCLUSIONES.....	65
8. BIBLIOGRAFÍA	66

Cuadro 1. Características físicas de maíces nativos.....	35
Cuadro 2. Composición proximal de maíces nativos.	37
Cuadro 3. Composición monomérica (%) de pectina nativa sometida a hidrólisis con TFA.	40
Cuadro 4. Actividades enzimáticas específicas y contenido de proteína* del extracto de intestino delgado de rata (EIDR).....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del grano de maíz (Győri, 2010).	4
Figura 2. Crecimiento radial de anillos de amilopectina (adaptado de Pérez & Bertoft, 2010).	7
Figura 3. Estructura de la amilopectina (adaptado de Pérez & Bertoft (2010)).	9
Figura 4. Cambios en el almidón sometido a un tratamiento térmico y almacenamiento posterior (adaptado de Joye, 2018).	10

Figura 5. Estructura de pectina (adaptada de Willats et al., 2006).....	15
Figura 6. Partes de un extrusor (Cervantes-Ramírez et al., 2020).....	24
Figura 7. Perfil cromatográfico obtenido por GC-FID de pectina antes (verde), y después (rojo) de la hidrólisis con TFA y la mezcla de estándares (azul). 1: Xilosa; 2: Xilosa+Arabinosa; 3: Ramnosa; 4: Fructosa; 5: Galactosa; 6: Glucosa; 7: Glucosa+Galactosa; 8: Ácido galacturónico (isómero E); 9: Ácido galacturónico (isómero Z); 10: β-fenilglucósido (patrón interno).	39
Figura 8. Espectro FTIR de pectina.	41
Figura 9. Perfil cromatográfico obtenido por HPSEC-ELSD de pectina (azul) y mezcla de pululanos (rojo).....	42
Figura 10. Microestructura de almidón de maíz (1250 X). El porcentaje indica el contenido de pectina añadido.	44
Figura 11. Patrón de difracción de rayos X de: a) almidón proveniente de maíz pozolero (HPZ 1) y b) almidón proveniente de maíz palomero (HPal 1).	45
Figura 12. Espectro FTIR de almidón proveniente de: a) maíz pozolero (HPZ-1) y b) maíz palomero (HPal-1). n: almidón nativo; e: almidón extrudido; 2: complejos almidón-pectina al 2%; 5: complejos almidón-pectina al 5%; 7: complejos almidón-pectina al 7%.	47
Figura 13. Termograma de almidón proveniente de: a) maíz pozolero (HPZ-1) y b) maíz palomero (HPal-1). n: nativo; e: extrudido; 2: 2% pectina añadida; 5: 5% pectina añadida; 7: 7% pectina añadida.	51
Figura 14. Viscoamilograma de almidón proveniente de: a) maíz pozolero (HPZ 1), b) maíz palomero (HPal 1) y c) pectina. n: nativo; e: extrudido; 2: 2% pectina añadida; 5: 5% pectina añadida; 7: 7% pectina añadida.	53
Figura 15. Sinéresis de almidón proveniente de: a) maíz pozolero (HPZ 1) y b) maíz palomero (HPal 1). n: nativo; e: extrudido; 2: 2% pectina añadida; 5: 5% pectina añadida; 7: 7% pectina añadida.....	58
Figura 16. Índice de absorción de agua de almidón proveniente de: a) maíz pozolero (HPZ 1) y b) maíz palomero (HPal 1). n: nativo; e: extrudido; 2: 2% pectina añadida; 5: 5% pectina añadida; 7: 7% pectina añadida.	59
Figura 17. Índice de solubilidad en agua de almidón proveniente de: a) maíz pozolero (HPZ 1) y b) maíz palomero (HPal 1). n: nativo; e: extrudido; 2: 2% pectina añadida; 5: 5% pectina añadida; 7: 7% pectina añadida.	61

v

Figura 18. Cinética de degradación durante la digestión de almidón de maíz HPZ, n: nativo, e: extrudido, 7: 7% pectina añadida. Letras mayúsculas indican diferencias entre los tiempos de una misma muestra, letras minúsculas indican diferencias entre todos los tratamientos.....	63
--	----

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles

necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'M. F. Dorantes Campuzano', written in a cursive style.

I.Q. en Al. María Fernanda Dorantes Campuzano.

RESUMEN

El maíz es uno de los alimentos más importantes de la dieta mexicana. Sin

embargo, en los últimos años se ha puesto en riesgo la supervivencia de maíces criollos en México debido a su bajo consumo. El almidón, principal componente del maíz, es una micropartícula compuesta mayoritariamente por amilosa y amilopectina. De acuerdo con su origen botánico, éste presenta diferentes propiedades funcionales y nutricionales que pueden ser modificadas por tratamientos químicos, físicos o enzimáticos, formando almidón resistente. Por otro lado, la pectina es un heteropolisacárido, constituido mayoritariamente por ácido D-galacturónico, ramnosa y azúcares minoritarios. La aplicación de almidones nativos en la industria ha mostrado restricciones debido a problemas como sinéresis, retrogradación y cambios de textura. Para disminuir estos inconvenientes se ha estudiado la interacción entre almidones e hidrocoloides, encontrándose un efecto sinérgico entre ellos. Sin embargo, esta interacción no ha sido aplicada a un sistema alimenticio real. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar las propiedades tecno-funcionales, así como evaluar la digestibilidad *in vitro* de un ingrediente a base de almidón con pectina formado a través de extrusión. Para la formación del ingrediente se utilizaron dos variedades de maíz de dureza contrastante, que involucra germoplasma criollo o nativo, HPZ 1 (maíz pozolero) y HPal 1 (maíz palomero), así como pectina de bajo grado de metil-esterificación en cuatro niveles de concentración (0, 2, 5 y 7%). La dureza de los granos de maíz estudiados tuvo un efecto en las propiedades químicas de los almidones aislados. La pectina presentó una alta concentración de glucosa y un grado de metil esterificación bajo. La extrusión del almidón provocó una pre-gelatinización de los gránulos de almidón observándose un daño en los gránulos, un aumento en las propiedades térmicas y una disminución en las propiedades de pasta. Debido a la extrusión, ambos carbohidratos pudieron tener una posible interacción, generando un material térmicamente más estable, aumentando la temperatura de gelatinización. Finalmente, la pectina disminuyó la digestibilidad del almidón en comparación con el nativo. Los resultados obtenidos indican la generación de un ingrediente a base de maíces criollos mexicanos con posibles beneficios al consumidor.

Palabras clave: Maíz criollo, pectina, propiedades tecno-funcionales, almidón resistente.

Maize is one of the most important foods in the Mexican diet. However, in recent years, the survival of native maize in Mexico has been put at risk due to its low consumption. Starch, the main component of maize, is a microparticle composed mainly of amylose and amylopectin. According to its botanical origin, it has different functional and nutritional properties that can be modified by chemical, physical or enzymatic treatments, forming resistant starch. On the other hand, pectin is a heteropolysaccharide, consisting mainly of D-galacturonic acid, rhamnose and minority sugars. The application of native starches in the industry has shown restrictions due to problems such as syneresis, retrogradation and texture changes. To reduce these drawbacks, the interaction between starches and hydrocolloids has been studied, finding a synergistic effect between them. However, this interaction has not been applied to a real food system. Therefore, the objective of the present work was to determine the techno-functional properties, as well as to evaluate the *in vitro* digestibility of a starch-based ingredient with pectin formed through extrusion. Two maize varieties of contrasting hardness, involving criollo or native germplasm, HPZ 1 (pozolero maize) and HPal 1 (palomero maize), as well as pectin of low degree of methyl-esterification at four concentration levels (0, 2, 5 and 7%) were used for the formation of the ingredient. The hardness of the corn kernels studied had an effect on the chemical properties of the isolated starches. Pectin presented a high concentration of glucose and a low degree of methyl esterification. Starch extrusion caused a pre-gelatinization of the starch granules with damage to the granules, an increase in thermal properties and a decrease in pasting properties. Due to extrusion, both carbohydrates could have a possible interaction, generating a thermally more stable material, increasing the gelatinization temperature. Finally, pectin decreased starch digestibility compared to native starch. The obtained results indicate the generation of an ingredient based on Mexican native maize with possible benefits to the consumer.

Key words: native maize, pectin, techno-functional properties, resistant starch.

1. INTRODUCCIÓN

El almidón es uno de los carbohidratos más abundantes en la naturaleza y el principal componente del maíz, que a su vez es uno de los cereales más consumidos en México. En Mesoamérica llegaron a existir un gran número de variedades de maíz, pero al paso de los años, únicamente el 20% de esta diversidad

persiste. El 80% de la superficie total sembrada de maíz en México corresponde a la siembra temporal y es destinada principalmente al consumo local de la población y a la alimentación ganadera. El otro 20% restante corresponde a la siembra de maíces mejorados destinado a la agroindustria. Debido a la introducción de alimentos de rápida preparación, el consumo de platillos tradicionales mexicanos basados en maíces nativos o criollos han ido en decremento. Esta transición alimentaria ha puesto en riesgo la supervivencia de maíces criollos en México. Una de las estrategias que se puede plantear para el aumento de producción y consumo de maíces criollos es identificar valores agregados a través de su componente químico principal: el almidón, que permita la expansión de aplicaciones de este tipo de maíces en la industria alimentaria. Por ello es necesario conocer las características fisicoquímicas y nutricionales del almidón proveniente de maíces criollos para la aplicación de tecnologías que permitan potencializar sus propiedades, ya que es reportado que los almidones nativos provenientes del maíz pueden presentar características indeseables en los productos, como lo es la sinéresis, retrogradación y cambios de textura.

En los últimos años se ha reportado un efecto sinérgico entre el almidón e hidrocoloides, que se ve reflejado en un aumento de viscosidad y una disminución en la retrogradación del almidón, que mejora las propiedades tecno-funcionales de los componentes que participan. Uno de los hidrocoloides que ha mostrado este sinergismo es la pectina, la cual es un biopolímero constituido principalmente por una cadena lineal de ácido D-galacturónico con grupos hidroxilo metil esterificados en la posición del C₆, lo que le confiere un grado de metil esterificación (DM) al biopolímero y determina las propiedades funcionales de las pectinas. Además de

las diversas propiedades tecno-funcionales que presentan las pectinas, como la capacidad de retención de agua y aceite, capacidad emulsionante y capacidad de formar espumas, también son consideradas como fibra dietética y tienen la capacidad de ser fermentadas en colon. La interacción entre el almidón y las pectinas de bajo grado de metil esterificación ha resultado en la mejora de las propiedades tecno-funcionales del almidón, sin embargo, los estudios de esta interacción se han hecho a través del reómetro en donde se lleva a cabo dicha interacción, por lo que se trata de simulaciones o modelos, y por ende no explican lo que podría pasar en un sistema alimenticio real. Durante la interacción entre el almidón y la pectina se ha observado un aumento de almidón resistente, sin embargo, no hay evidencia sobre el efecto que pueda tener la composición del almidón a la formación de éste. Por lo que el estudio de este parámetro permitiría un mejor aprovechamiento del almidón de maíces criollos para la generación de almidón resistente que pueda ser usado en productos que requieran una estabilidad térmica en su almacenamiento, y sobre todo productos que brinden beneficios a la salud del consumidor.

De acuerdo a lo reportado en la literatura, la interacción entre el almidón y la pectina se promueve mediante técnicas como fritura y extrusión. Esta última ha demostrado ser una técnica capaz de transformar los componentes a través de temperatura, altas presiones y cizallamiento. La aplicación de un pre-tratamiento al almidón, que permita producir una gelatinización parcial de los gránulos de almidón y posteriormente la formación de interacciones entre éste y la pectina apenas ha sido estudiada, por lo que es un área de oportunidad para conocer bajo qué condiciones se favorece la formación de estas interacciones.

2. ANTECEDENTES

2.1 Maíz

Se considera que México es el centro de origen, domesticación y diversificación del maíz (*Zea mays* L.), de acuerdo en evidencia genética y molecular se ha llegado a la conclusión de que el maíz es descendiente del teocintle (*Z. mexicana*) (Győri, 2010). Actualmente, este cereal representa aproximadamente el 30% del gasto total en Alimentos, Bebidas y Tabaco realizado por familias mexicanas, proporcionando aproximadamente la mitad de calorías requeridas por la población (SAGARPA, 2017).

Entre los componentes anatómicos del maíz se encuentran el endospermo (82-83%), germen (10-11%), pericarpio (5-6%) y pedicelo (0.8-1%) (Figura 1). El pericarpio es la capa externa del grano, compuesta por fibra cruda, conformada principalmente por hemicelulosa, celulosa y lignina. El grosor del pericarpio dependerá de la variedad de maíz, y éste se extiende hasta el pedicelo. Por otro lado, el endospermo está compuesto por numerosas células, cada una llena de gránulos de almidón empaquetados en una matriz proteica. Las paredes de las células están compuestas por polisacáridos como β -glucano y arabinoxilano, proteínas y ácidos fenólicos. El endospermo es rico en almidón y proteínas, y bajo en lípidos (1%), principalmente se encuentran ácidos grasos saturados. El endospermo se divide en endospermo harinoso y vítreo, y la relación de éstos define la dureza del grano. Finalmente, el germen está compuesto por el embrión, el cual se encuentra rodeado por el escutelo. El germen tiene un alto contenido en proteína (18%) y lípidos (33%, principalmente ácidos grasos poliinsaturados). La

composición química y el valor nutricional de los granos de maíz depende de la variedad, de la madurez, del almacenamiento y de las condiciones de secado después de la cosecha (Singh et al., 2019).

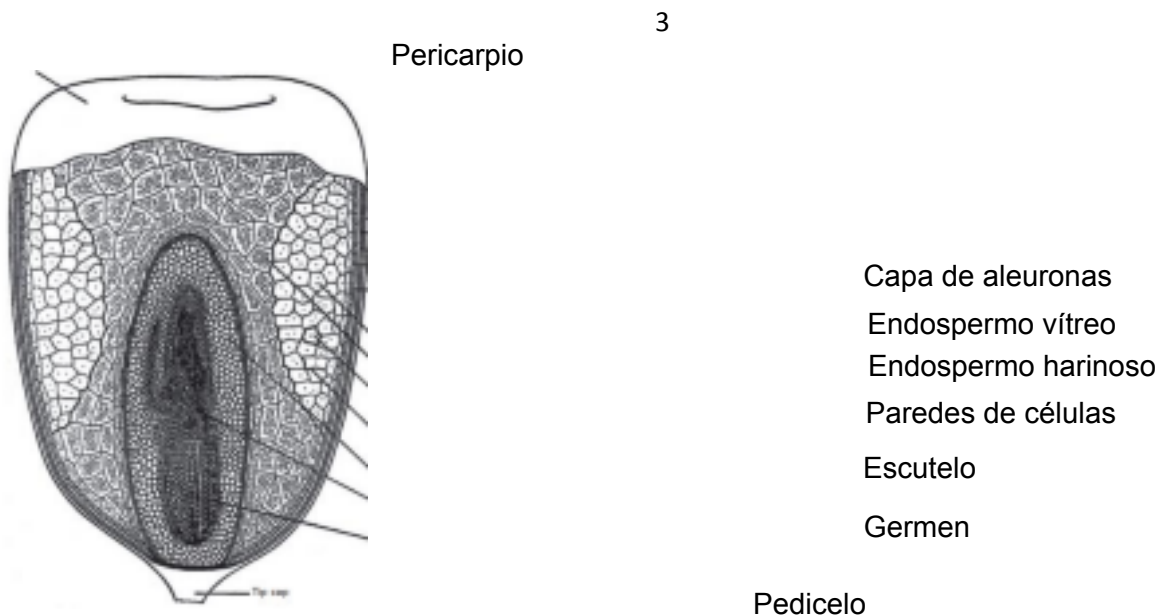


Figura 1. Estructura del grano de maíz (Gyóri, 2010).

El uso del maíz no se centra únicamente en el consumo humano, sino que también es un insumo importante en la alimentación ganadera y en la producción de etanol. Es el cultivo con mayor superficie agrícola, con un promedio de 3.4 toneladas/hectárea, principalmente en las zonas sub-húmeda tropical, templada húmeda y sub-húmeda (Fernández-Suárez et al., 2013; López-Morales et al., 2017). El consumo promedio per cápita al año es de 196.4 kg de maíz blanco, que se consume principalmente en tortillas (SAGARPA, 2017).

La cocina tradicional mexicana tiene como base al maíz, ya que existen más de 700 formas de comer este cereal, algunas de ellas son en tortillas (principal producto del maíz), botanas, elotes, sopas, tamales, pinoles, dulces, atoles,

bebidas (pozol), entre muchas otras formas más (Fernández-Suárez et al., 2013).

De acuerdo con Massieu y Lechuga (2002), en Mesoamérica llegaron a existir miles de variedades, y se calcula que de las variedades conocidas en 1930 en la actualidad queda el 20%. De las 300 razas de maíz agrupadas en el mundo, 45 de ellas se encuentran en México (Mendez-Montealvo & Paredes-Lopez, 2005). Se puede definir como “raza de maíz” a un grupo relacionado de maíces con suficientes características en común que permitan su reconocimiento como grupo. En México,

4

las razas de maíz se pueden definir en cinco grupos principales: 1) Indígenas antiguas; 2) Exóticas precolombinas; 3) Mestizas Prehistóricas; 4) Modernas Incipientes y 5) Razas no bien definidas (Massieu y Lechuga, 2002).

2.1.1 Maíces criollos

El valor de los maíces criollos se ha reconocido desde las culturas prehispánicas, ejemplo de ello es la relación que le daban las civilizaciones aztecas y mayas a los maíces pigmentados con el culto a deidades (Serna-Saldívar et al., 2013).

El 80% de la superficie total sembrada de maíz, corresponde a la siembra temporal, la cual está a cargo de los productores pequeños. Más de la mitad de la producción nacional proviene de este sistema, en donde los maíces nativos o criollos se seleccionan, producen, conservan, diversifican y domestican de acuerdo de las necesidades de la población. El otro 20% restante corresponde a la siembra de maíces mejorados (híbridos), los cuales son destinados principalmente a la agroindustria mexicana (Fernández-Suárez et al., 2013).

En cuanto a rendimiento, las variedades mejoradas han sido superiores a las nativas, sin embargo estos maíces criollos muestran ventajas ante los híbridos, ya que se han reportado maíces criollos capaces de sobrevivir ambientes a los que los maíces híbridos no lo son, además de que presentan una mejor adaptación a las condiciones climáticas y por lo tanto estabilidad antes estas situaciones, costos

de insumos más bajos, además de la aptitud que tienen ciertas razas para la preparación de platillos mexicanos (Fernández-Suárez et al., 2013; Vázquez Carrillo y Santiago-Ramos, 2013).

Otra de las ventajas que podrían nombrarse de los maíces criollos es el contenido de compuestos bioactivos, entre los que destacan antocianinas en maíces azules y carotenoides en maíces amarillos (Singh et al., 2019).

2.1.2 Aprovechamiento de variedades criollas

El uso que se le da al grano de maíz está determinado por sus características fisicoquímicas, principalmente su dureza, su tamaño, la gravedad específica y la

5

absorción de agua (Fernández-Suárez et al., 2013). Se ha evaluado la calidad de maíces criollos para la elaboración de tortillas (Santiago-Ramos et al., 2015), tamales (Figueroa-Cárdenas et al., 2016; Mariscal-Moreno et al., 2017) y pozole (Bonifacio Vázquez et al., 2005; Figueroa et al., 2013; Vázquez-Carrillo & Santiago Ramos, 2013).

Sin embargo, en los últimos años ha disminuido el consumo de platillos tradicionales mexicanos basados en el maíz debido a cambios en los hábitos alimenticios de la población, por lo que esta transición alimentaria pone en riesgo la supervivencia de maíces criollos en México, por lo que es necesario proteger la diversidad del germoplasma (Fernández-Suárez et al., 2013; Serna-Saldívar et al., 2013).

Fernández-Suárez et al. (2013) plantearon estrategias que dan un valor agregado a las variedades criollas que potencialice la demanda de estos maíces y, por lo tanto, se impulse su uso, entre ellas destaca la identificación de propiedades nutricionales de las variedades criollas sobre las variedades híbridas, el desarrollo de productos novedosos que hagan a los maíces criollos aptos para un uso particular, así como el desarrollo de actividades sociales que den a conocer la diversidad de variedades criollas de maíz en México.

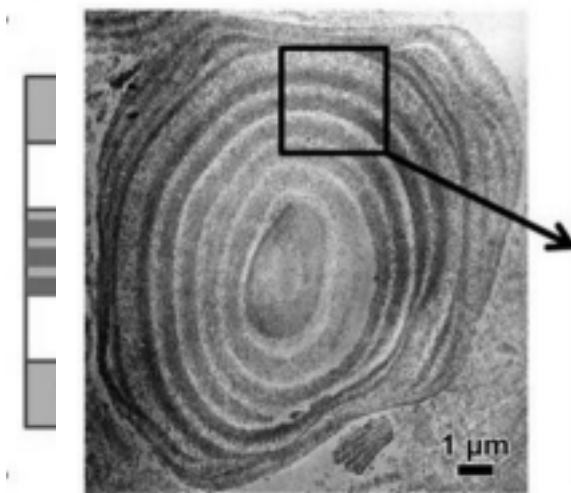
2.2 Generalidades del almidón

El almidón es considerado uno de los biopolímeros más usados en la industria alimentaria debido a las múltiples aplicaciones que tiene (Cervantes-Ramírez et al., 2020). Es una micropartícula compuesta principalmente de amilosa y amilopectina (98-99%), y en menor medida de agua, lípidos, fosfolípidos, fibra soluble e insoluble y algunos minerales (Rodríguez-García et al., 2021). Según la fuente de donde se obtiene el almidón presenta diferentes proporciones de amilosa y amilopectina, así como diferentes características, cristalinidad, grado de polimerización y contenido mineral (Tester et al., 2004).

Los gránulos de almidón están compuestos por un área amorfa en el núcleo del gránulo, formado principalmente por cadenas de amilosa y amilopectina

6

desordenadas y el grosor de este núcleo será definido por el contenido de amilosa del almidón (Wang et al., 2015). El núcleo o core del gránulo de almidón está rodeado por áreas amorfas y cristalinas de cadenas de amilopectina que crecen llamadas “anillos” (Pérez & Bertoft, 2010).



Semi-cristalino

Amorfo

Amorfo

Semi-cristalino

Figura 2. Crecimiento radial de anillos de amilopectina (adaptado de Pérez & Bertoft, 2010).

El contenido de humedad de los almidones de cereales se encuentra entre

10-12%, mientras que en los almidones de tubérculos se encuentra entre 14-18% (Tester et al., 2004). A pesar de ser un componente minoritario (2%), los lípidos pueden tener un rol importante en las propiedades del almidón, en cereales los lípidos presentes en el almidón se encuentran en forma de lisofosfolípidos (LPL) y ácidos grasos libres los cuales se correlacionan con la fracción de amilosa presente en el gránulo. Las proteínas forman la matriz proteica que embebe a los gránulos de almidón o se encuentra en cuerpos proteicos que consisten, principalmente, en prolaminas, que en maíz se conocen como zeínas (Copeland et al., 2009; Tester et al., 2004).

La biosíntesis del almidón comienza a partir de la sacarosa (producto de la fotosíntesis) que en el citosol de la célula es convertida a UDP-glucosa y fructosa a través de la sacarosa sintasa; la UDP-glucosa es convertida a glucosa-1-fosfato (G

7

1-P) por medio de la UDP-glucosafosforilasa, G-1-P es convertida a glucosa-6-fosfato (G-6-P) por la enzima fosfoglucomutasa. G-6-P es transportada hacia el amiloplasto, organelo responsable de la síntesis del almidón, y es convertido nuevamente a G-1-P que a su vez se convierte en ADP-glucosa que provee de residuos de glucosa para la síntesis de amilosa y amilopectina (Tester et al., 2004).

2.2.1 Amilosa

La amilosa es un α -glucano relativamente lineal que contiene en su mayoría (99%) enlaces α -(1 \rightarrow 4) y en mínima cantidad enlaces α -(1 \rightarrow 6) (Tester et al., 2004). Esta molécula tiene una masa molecular aproximada de 10^5 - 10^6 Da, correspondiendo a un grado de polimerización de 1000-10,000 unidades de glucosa. De acuerdo a su bajo grado de ramificación, la amilosa puede formar agregados semi-cristalinos insolubles (Copeland et al., 2009).

El contenido de amilosa juega un papel importante en la diferenciación de almidones; se ha comprobado que la cantidad de amilosa es determinante durante la gelatinización, además de que tiene un efecto en la cristalinidad y en la resistencia de un ácido o álcali durante modificaciones químicas o físicas (Kou et

al., 2018). En solución acuosa, las cadenas de amilosa adoptan una estructura coloidal metaestable debido a la coexistencia de grupos hidrofóbicos (estructura hidrocarbonada) y grupos hidrofílicos (hidroxilos) de la cadena (Ai & Jane, 2018). Debido a sus características estructurales, la amilosa puede formar inclusiones no covalentes con otras moléculas (yodo, alcoholes, ácidos grasos, emulsificantes), formando complejos que cambian las propiedades del almidón (Ai & Jane, 2018; Tan & Kong, 2020). Si no hay presencia de un agente acomplejante, la parte hidrofóbica de la cadena de amilosa interactúa con la cadena de amilosa adyacente formando una doble hélice, con menor energía y mayor estabilidad (Ai & Jane, 2018). Sin embargo, se ha demostrado que la mayoría de las cadenas de amilosa que pueden lixiviarse del gránulo de almidón se encuentran en una sola hélice en vez de una doble hélice, por lo que se sugiere que el estado de hélice única de la

8

amilosa es el estado predominante dentro del gránulo de almidón nativo (Pérez & Bertoft, 2010).

2.2.2 Amilopectina

La amilopectina contiene una estructura ramificada con 95% de sus enlaces α -(1 \rightarrow 4) y 5% de enlaces α -(1 \rightarrow 6) (Tester et al., 2004). Dicha molécula tiene un peso molecular de 10^8 Da y su grado de polimerización excede el millón de unidades de glucosa. La mayoría de los almidones contienen desde un 60 a un 90% de amilopectina (Copeland et al., 2009). De acuerdo con Buléon et al. (1998) la organización de las cadenas de amilopectina se puede describir en tres términos (Figura 3), las cadenas A son las cadenas externas unidas con un enlace glucosídico con el C₆ de una cadena interna (cadena B), es decir, las cadenas B tienen ramificaciones de cadenas A, y finalmente se encuentra la cadena C, la cual contiene el extremo reductor.

Cadena A Cadena-B2 (cadena larga)

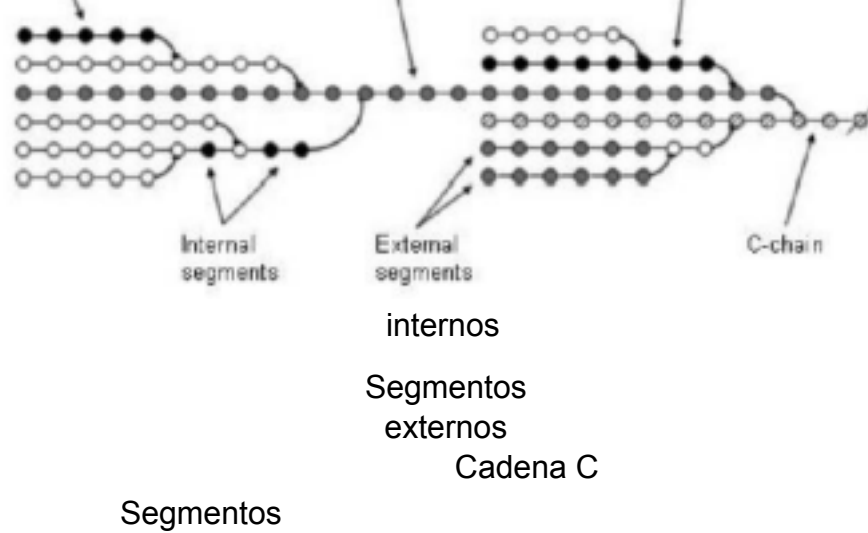


Figura 3. Estructura de la amilopectina (adaptado de Pérez & Bertoff (2010)). 2.2.3 Propiedades funcionales del almidón

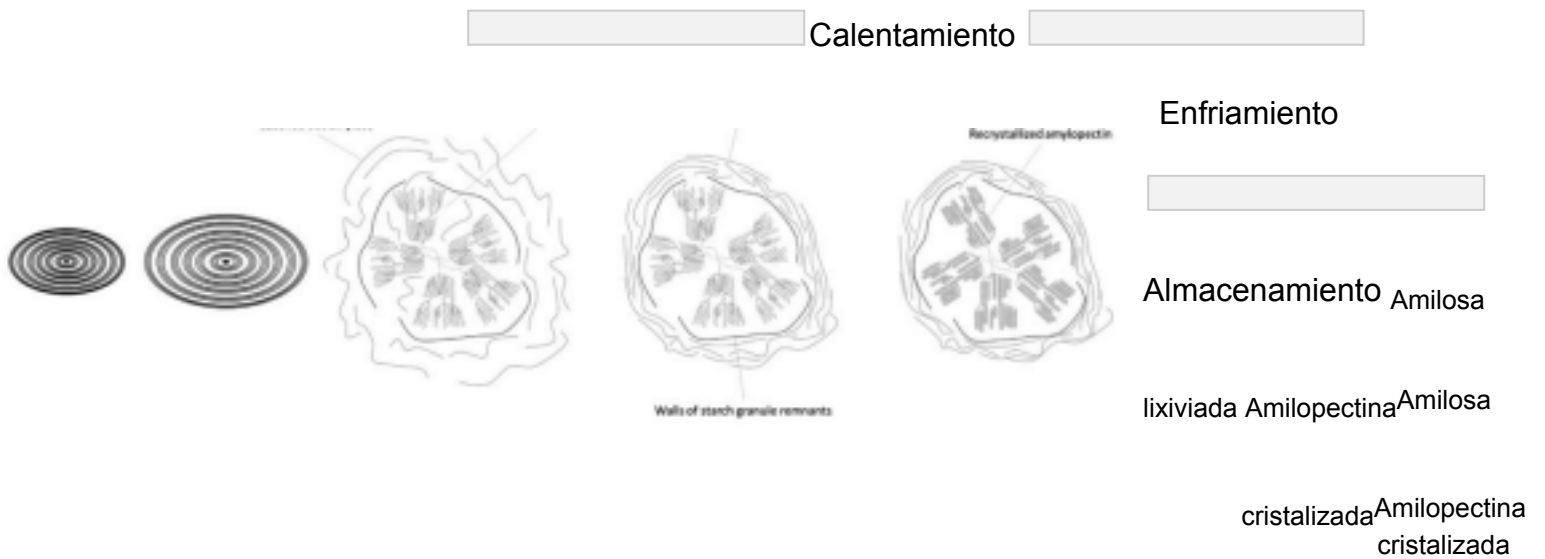
Las propiedades nutricionales y de calidad del almidón dependen de la fuente botánica de origen, de las condiciones de crecimiento, así como de los cambios a los que el almidón es sometido durante su procesamiento y almacenamiento que determinarán sus propiedades funcionales (Wang et al., 2015). Las modificaciones que puede sufrir el almidón pueden ser mediante métodos químicos, físicos o enzimáticos. En la industria alimentaria, el almidón es usado como espesante,

9

gelificante, estabilizador, emulsionante, sustituto de grasa, agente encapsulante, antiaglomerante y almidón resistente (Ai & Jane, 2018); con estas propiedades funcionales se puede controlar la humedad, la viscosidad, la textura, la consistencia, así como la vida de anaquel de los productos alimenticios (Wang et al., 2015).

Cuando el almidón es suspendido en un exceso de agua a temperatura ambiente, únicamente puede absorber un 30% (p/p) de agua, distribuyéndose en las regiones amorfas de los gránulos de almidón. Por otro lado, al suspender el almidón en un exceso de agua en calentamiento, los gránulos de almidón se hidratan y se hinchan, hasta llegar a un máximo en donde el gránulo de almidón se disrumpe y las cadenas de amilosa y amilopectina se lixivian al seno de la solución, lo que conlleva a una pérdida de cristalinidad, así como de birrefringencia. Este fenómeno es conocido como gelatinización (Figura 4), es decir, el almidón pasa de

un estado ordenado a un estado amorfo, y la temperatura a la cual los gránulos de almidón pierden su estructura cristalina se llama temperatura de gelatinización, la cual es característica de cada almidón (Ai & Jane, 2018; S. Wang et al., 2015).



Paredes del gránulo de almidón

Hinchamiento del
Hinchamiento del gránulo
de almidón
gránulo de almidón

Gelatinización del
Gelatinización del
gránulo de almidón
gránulo de almidón

Retrogradación del
gránulo de almidón

Figura 4. Cambios en el almidón sometido a un tratamiento térmico y almacenamiento posterior (adaptado de Joye, 2018).

Al ser sometido el almidón a un calentamiento en presencia de agua y a un posterior enfriamiento, las cadenas de amilosa y amilopectina lixiviadas durante la

gelatinización pueden reasociarse en una estructura más ordenada formando dobles hélices y perdiendo la capacidad de absorber agua, a este fenómeno se le conoce como retrogradación del almidón (Figura 4). Durante la retrogradación, la energía térmica del sistema decrece, lo que permite la formación de puentes de hidrógeno entre las cadenas de amilosa y amilopectina, como resultado final se forman enlaces cruzados entre las moléculas de almidón que lleva a la precipitación o a la formación de un gel. Puede dividirse en dos etapas, la primera ocurre justo después de la gelatinización, en donde se forman puentes de hidrógeno entre moléculas de amilosa formando un gel tridimensional; la segunda etapa consiste en la reorganización de las cadenas cortas de amilopectina (Wang et al., 2015; Wang et al., 2021). La retrogradación de la amilosa se relaciona con la capacidad de absorber agua y la digestibilidad del almidón, mientras que la retrogradación de la amilopectina se relaciona con el deterioro de calidad de los alimentos (Copeland et al., 2009).

2.2.4 Fracciones de almidón

El almidón puede clasificarse en tres categorías de acuerdo a su velocidad y grado de digestión: almidón rápidamente digerible (RDS), almidón lentamente digerible (SDS) y almidón resistente (RS) (Taylor et al., 2015).

El almidón rápidamente digerible (RDS) es la fracción del almidón que causa un incremento rápido en la concentración de glucosa en sangre, es decir, es la cantidad de almidón que es convertido en glucosa en los primeros 20 minutos de digestión. La fracción SDS es el almidón que es digerido lentamente, pero por completo en el intestino delgado, es decir, es la fracción del almidón que es convertida a glucosa después del RDS, pero antes de los 120 minutos tras el consumo del alimento. Se ha reportado que la fracción SDS proporciona beneficios al organismo, como lo es la estabilidad en el metabolismo de glucosa, el control de diabetes y saciedad. Finalmente, aquella fracción que no sufre una hidrólisis enzimática en el intestino

delgado es llamada almidón resistente (RS), la cual es fermentada por la microbiota del colon, produciendo metabolitos importantes para el organismo (Dona et al., 2010; Taylor et al., 2015; Wang et al., 2021).

2.2.5 Fermentación de almidón resistente

Las bacterias presentes en el ciego y en el intestino grueso producen ácidos grasos de cadena corta (AGCC) a partir de la fermentación de almidón resistente. La cantidad y el tipo de fibra consumida tiene un efecto en la composición de la microbiota intestinal y, por lo tanto, tiene un efecto en la cantidad y el tipo de AGCC producido (den Besten et al., 2013).

La microbiota colónica alcanza aproximadamente 10^{14} microorganismos; se han encontrado entre 500 y 1000 especies diferentes, las cuales pertenecen a más de 70 géneros. Los tres filo más importantes son: *Bacteroidetes* (gram negativo), que producen principalmente acetato y butirato; *Firmicutes* (gram positivo), los cuales producen como metabolito primario al butirato; y *Actinobacteria* (gram positivo). La degradación de los polisacáridos en el colon se inicia en la superficie celular de la microbiota gracias a enzimas glucósido hidrolasas (GH). La familia enzimática GH13 es una de las más importantes que se encuentra en la microbiota colónica que participa en la degradación inicial de los polisacáridos, dentro de la familia GH13 se encuentra la α -amilasa y la pululanasa. La α -amilasa rompe enlaces α -(1→4) del almidón, mientras que las pululanosas rompen enlaces α -(1→6). Algunas bacterias cuentan con los dos tipos de GH13 mientras que otras solo presentan uno (Cerqueira et al., 2020). Una vez hidrolizados los polisacáridos a monosacáridos, se fermentan en el ambiente anaeróbico del intestino. Las principales rutas metabólicas bacterianas con la ruta de Embden-Meyerhof Parnas y la vía de las pentosas fostato, las cuales convierten los monosacáridos en fosfoenolpiruvato (PEP) que por fermentación es convertido a AGCC (den Besten et al., 2013).

La fermentación de almidón resistente se va a llevar a cabo en la parte proximal del colon, siendo los Bacteroidetes los principales fermentadores, dando como resultado gases (CO_2 y H_2) y AGCC, que consisten en ácidos orgánicos alifáticos

saturados compuestos por uno o seis carbonos, siendo acetato, propionato y butirato los más abundantes, generalmente se encuentran en una relación de 60:20:20, respectivamente (den Besten et al., 2013).

Los AGCC actúan como fuente de energía para las células colónicas; el butirato es la fuente de energía principal de los colonocitos, y su deficiencia ha sido relacionada con cáncer colorectal. Además, los AGCC se unen a receptores acoplados a la proteína G activando cascadas de señalización que tienen impacto sobre la inmunidad, el metabolismo del huésped, la regulación del apetito y la homeostasis energética (Gurry & Scapozza, 2020).

2.3 Hidrocoloides

Los hidrocoloides también llamados coloides hidrofílicos son moléculas ricas en grupos hidroxilos que pueden mantener grandes cantidades de agua (Mahmood et al., 2017). Consiste en una gran variedad de moléculas provenientes de algas, bacterias, frutas y extractos de plantas (Viebke et al., 2014). Uno de los grupos de hidrocoloides más importante son los polisacáridos, los cuales son polímeros que consisten en monosacáridos unidos mediante enlaces glucosídicos. Dependiendo del tipo, número, secuencia y unión de monosacáridos se definirán sus propiedades funcionales. Algunos de los hidrocoloides más utilizados son carragenina, goma xantana, pectina, metilcelulosa, goma arábica, inulina, alginato, goma guar (McClements, 2021).

En función de su naturaleza, los hidrocoloides pueden modificar las propiedades texturales y de viscosidad en alimentos, así como afectar las propiedades sensoriales y la vida de anaquel del producto. Pueden actuar como espesantes, gelificantes, estabilizantes, agentes de carga y emulsionantes (Mahmood et al., 2017; Viebke et al., 2014).

Además de las propiedades funcionales que aportan a los alimentos, los hidrocoloides se han relacionado con numerosos beneficios a la salud, debido a que contribuyen a la disminución de factores de riesgo de enfermedades

cardiovasculares, función inmune, manejo de peso y salud colónica; estos beneficios a la salud se atribuyen a los hidrocoloides debido a sus propiedades de solubilidad, viscosidad y la capacidad para ser fermentados por la microbiota colónica (Viebke et al., 2014).

2.3.1 Pectina

Las pectinas son heteropolisacáridos que se encuentran principalmente en las paredes celulares de plantas, las fuentes principales de pectina son las cáscaras de cítricos y la pulpa de manzana, sin embargo, los residuos de otras frutas y verduras también representan una fuente importante (Naqash et al., 2017).

Las pectinas son biopolímeros constituidos principalmente por tres dominios principales; el primero que representa un 65% de la estructura de la pectina, consiste en una columna vertebral rica en ácido D-galacturónico (GalA), llamada homogalacturonano (HG), el cual es un polímero lineal con enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$ con grupos hidroxilo metil esterificados en la posición del C₆, lo que le confiere un grado de metil esterificación (DM) al biopolímero. Dentro de la estructura de la pectina se encuentran residuos de ramnosa [$\rightarrow4$)- α -D-GalA-(1 \rightarrow 2)- α -L-Rha-(1 \rightarrow)] que interrumpen al HG formando ramnogalacturonano I (RG-I), el cual corresponde al 20-35% de la estructura total de la pectina. Finalmente, la parte más compleja de la pectina es ramnogalacturonano II (RG-II), el cual representa un 2-10% de la estructura de la pectina. RG-II está constituido por HG ramificado con ramnosa y azúcares minoritarios como ácido glucorónico, apiosa, fucosa, ácido glucorónico esterificado con metilo, 2-O-metilxilosa y 2-O-metilfucosa. HG se considera la región lisa de la pectina, mientras que RG-I y RG-II se consideran las regiones ramificadas (Figura 5) (Ferreira-Lazarte et al., 2019; Naqash et al., 2017).



Figura 5. Estructura de pectina (adaptada de Willats et al., 2006).

Biológicamente, las pectinas cumplen una función en la planta dependiendo su localización y su estructura molecular. Puede actuar como gel y participar en la adhesión y ablandamiento de las paredes celulares en el alargamiento celular, además da fuerza y apoyo a las plantas al mantener la consistencia celular y la resistencia mecánica, y puede influir en propiedades de la pared celular como

porosidad, carga superficial, pH y en el equilibrio iónico (Chan et al., 2017).

2.3.2 Propiedades tecno-funcionales de la pectina

Las aplicaciones en la industria alimentaria de la pectina dependen de su estructura, su masa molecular, el contenido de azúcares neutros, la proporción de regiones HG:RG-I y del grado de metil esterificación (Ferreira-Lazarte et al., 2019). La pectina es considerada un aditivo seguro sin límite en la ingesta diaria recomendada (Chan et al., 2017). El grado de metil esterificación (DM), como se mencionó anteriormente, es definido como el porcentaje de unidades de ácido galacturónico que son esterificados con metanol. Las pectinas se han clasificado de acuerdo a su DM; las que tienen un $DM > 50\%$ son pectinas de alto metoxilo (HMP), mientras que aquellas que presentan un $DM < 50\%$ son pectinas de bajo metoxilo (LMP). Este

15

parámetro es uno de los más importantes que afectan las propiedades funcionales de las pectinas (Chan et al., 2017; Naqash et al., 2017).

HMP requiere la presencia de un co-soluto para formar un gel, generalmente se utiliza sacarosa en una concentración del 55 al 75% en un medio ácido ($pH < 3.5$). La sacarosa reduce la actividad de agua promoviendo la interacción entre cadena-cadena de pectinas en lugar de llevarse a cabo una interacción cadena-disolvente. Por otro lado, en condiciones ácidas los residuos de carboxilato se protonan, minimizando la repulsión electrostática. Los geles de HMP se estabilizan a través de puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas entre metil ésteres (Chan et al., 2017).

Los geles de LMP se forman en presencia de iones de calcio u otro metal divalente, en un alto rango de pH. Se estabilizan mediante enlaces iónicos a través de calcio entre dos carboxilatos de dos cadenas diferentes (Muñoz-Almagro et al., 2020).

El uso de pectinas en gran variedad de productos se debe a sus propiedades tecno

funcionales, algunas de ellas son: capacidad de retención de agua y aceite, capacidad emulsionante, capacidad de formar espumas, así como propiedades reológicas y de pasta (Muñoz-Almagro et al., 2020; Naqash et al., 2017).

2.3.3 Propiedades nutracéuticas de la pectina

Las pectinas, al ser hidrocoloides, también son consideradas como fibra dietética. Se considera fibra dietética a los polímeros de carbohidratos con diez o más unidades monoméricas que no son hidrolizadas por enzimas endógenas en el intestino delgado de los seres humanos (Viebke et al., 2014). Las pectinas son estables a las condiciones ácidas del estómago, sin embargo, durante su trayecto al colon, pueden sufrir cambios físicos y químicos, como desesterificaciones, que afectan a la velocidad y la fermentación de éstas en el colon (Chan et al., 2017; Ferreira-Lazarte et al., 2019). Los efectos beneficiosos de las pectinas se asocian a la solubilidad, la viscosidad y la capacidad de ser fermentadas en el colon (Viebke et al., 2014). Diversos estudios han indicado que el consumo de pectina puede

16

reducir niveles de colesterol, reducir la glucosa sérica, ser tratamiento o prevenir diabetes (Muñoz-Almagro et al., 2020; Naqash et al., 2017).

Las pectinas y sus oligosacáridos derivados se consideran prebióticos emergentes y su papel prebiótico se debe a la capacidad de aumentar ciertas poblaciones de la microbiota intestinal (*Bifidobacterium* y *Lactobacillus*) y a su vez, disminuir la población de bacterias patógenas (*Clostridium*) en el tracto gastrointestinal, además de la generación de metabolitos importantes como ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato) y a la modificación del pH debido a la fermentación de éstos en colon (Muñoz-Almagro et al., 2020; Naqash et al., 2017).

La capacidad de la pectina para reducir el colesterol se va a ver influido por su viscosidad, su masa molecular y su grado de metil esterificación, ya que esta reducción de colesterol se atribuye a la formación de un gel viscoso que se une al colesterol y a los ácidos biliares, lo que promueve su excreción y disminuye la

reabsorción de éstos. Las pectinas de alto grado de metil esterificación (HMP) reducen en mayor nivel el colesterol plasmático debido a que presentan una menor solubilidad. Las pectinas de elevada masa molecular al incrementar la viscosidad forman geles que atrapan agua y lípidos en el interior, lo que dificulta la acción de la lipasa (Naqash et al., 2017). Además, se ha reconocido que el consumo de pectina puede reducir la respuesta glucémica postprandial, los mecanismos por los cuales sucede esta reducción no están completamente entendidos, pero diversos autores indican que el incremento de viscosidad causado por las pectinas provenientes de cítricos y manzana disminuyen la absorción intestinal de glucosa (Muñoz-Almagro et al., 2020).

2.4 Interacción entre sistemas de almidón-hidrocoloides

Los almidones nativos han mostrado restricciones en sus aplicaciones debido a que presentan sinéresis, retrogradación y cambios en textura durante su almacenamiento, es por eso, que se ha buscado la modificación de almidones para mejorar sus propiedades, una alternativa para lograr su modificación es la adición de hidrocoloides a sistemas de almidón (Chen et al., 2015). Diversos estudios han

17

encontrado un efecto sinérgico entre los sistemas almidón-hidrocoloides, observando un aumento de viscosidad en las mezclas comparado con sistemas almidón e hidrocoloides por separado, por lo tanto, las mezclas entre almidón e hidrocoloides pueden mejorar las propiedades funcionales de ambos componentes y ser usado en una variedad de productos (Babić et al., 2006; Mahmood et al., 2017). Se ha reportado que la adición de hidrocoloides a un sistema de almidón no modifica la temperatura de gelatinización, sin embargo, el hinchamiento de los gránulos de almidón puede verse afectado (Babić et al., 2006). Sin embargo, Padalino et al. (2011) indica que los hidrocoloides pueden formar una red polimérica estable que atrapa los gránulos de almidón, retrasando la liberación de amilosa, y por lo tanto la retrogradación.

La selección del hidrocoloide se basa en las propiedades y en la aplicación que se desea en los alimentos. Los sistemas almidón-hidrocoloides se han utilizado como

espesantes en sopas, salsas, aderezos; gelificantes en mermeladas o jaleas; agente reforzante en pastas libres de gluten (Mahmood et al., 2017).

Chen et al. (2015) indicaron que el retraso de la retrogradación en sistemas almidón hidrocoloides se atribuye a una separación de fases en el sistema o a la interacción entre hidrocoloides y moléculas de amilosa. Además, la disminución de la sinéresis se puede deber al aumento de puentes de hidrógeno intramoleculares e intermoleculares. Sin embargo, en cada sistema almidón-hidrocoloide las propiedades tecno-funcionales dependerán del hidrocoloide usado.

2.4.1 Interacción sistema almidón-pectina

Existen diferentes reportes en literatura del efecto que tiene la pectina de bajo grado de metil esterificación (LMP) sobre las propiedades funcionales del almidón en sistemas acuosos de almidón-pectina. Dangi et al. (2020) estudiaron el efecto de la pectina nativa y pectina parcialmente hidrolizada en las propiedades reológicas, de pasta y texturales del almidón proveniente de la cebada, encontrando diferentes propiedades funcionales dependientes de la masa molecular y la concentración de pectina, así como de su pre-tratamiento, ya que la capacidad de absorción de agua

18

se vio favorecida con la pectina nativa y disminuyó con la pectina hidrolizada, lo que indicaría que a mayor masa molecular aumenta la viscosidad del sistema almidón pectina. Este aumento de viscosidad podría disminuir la digestibilidad del almidón (Babić et al., 2006; Sasaki & Kohyama, 2012).

Se ha reportado que las propiedades de pasta de los sistemas almidón-pectina son dependientes de la concentración de pectina añadida. Ma et al. (2019) mostraron una reducción de la viscosidad en muestras con concentraciones bajas de pectina, mientras que con altas concentraciones se observó un aumento de viscosidad atribuido a que la pectina ingresó a la fase continua del almidón a medida que los gránulos absorbían agua y se hinchaban. Otros autores indicaron que la alteración en las propiedades de pasta es atribuida a la organización entre el sistema almidón

pectina, ya que se cree que las moléculas de pectina rodean al gránulo de almidón dificultando la absorción de agua por el gránulo de almidón y, por ende, su gelatinización y retrogradación, lo que confiere una textura suave y provoca una menor sinéresis durante el almacenamiento (Zhang et al., 2018). Por otro lado, la adición de pectina a sistemas de almidón tiene un efecto positivo, disminuyendo la retrogradación debido a que la interacción de la pectina con la amilosa lixiviada reduce las asociaciones amilosa-amilosa de la molécula del almidón. En cuanto a las propiedades térmicas, la pectina ha demostrado incrementar la temperatura de gelatinización de almidón de cebada, lo que indicaría un retraso de la gelatinización de los gránulos de almidón y, por lo tanto, una mayor estabilidad térmica de éstos (Dangi et al., 2020).

La pectina puede interactuar con la amilosa lixiviada o las cadenas laterales del almidón a través de puentes de hidrógeno debido a la presencia de un gran número de grupos hidroxilo en la estructura de ambas moléculas, ya que, debido al impedimento estérico, la pectina no puede interactuar con el interior de las hélices de amilosa (Dangi et al., 2020; He et al., 2020).

Li et al. (2020) reportaron el efecto de LMP y HMP en las propiedades funcionales del almidón de papa, sin embargo, el sistema almidón-pectina es sometido a un

19

tratamiento de freído en donde la grasa puede interferir en las propiedades funcionales del almidón de papa. Además de este estudio, hasta nuestro conocimiento, no existen investigaciones sobre el efecto que tiene la pectina HMP en las propiedades funcionales del almidón, así como el papel que tiene la pectina HMP en la digestibilidad del mismo. Aunado a esto, no se ha reportado el comportamiento en la digestibilidad del sistema almidón-pectina si el almidón proviene de un grano de maíz de baja o alta dureza, por lo que podría ser un área de oportunidad de estudio.

2.5 Digestión del almidón y de la pectina

El almidón al entrar en el cuerpo humano sufre una serie de hidrólisis producidas

por enzimas digestivas en diferentes regiones del tracto gastrointestinal (GIT) (Wang et al., 2021).

El proceso de digestión del almidón se inicia en la boca, ya que el almidón al entrar en contacto con la enzima α -amilasa salival, producida por las glándulas salivales, comienza su hidrólisis en monosacáridos y oligosacáridos (Wang et al., 2021). Aproximadamente el 5% del almidón es digerido en boca, y se ha reportado que individuos con alta concentración de α -amilasa en saliva se adaptan mejor al consumo de almidones en comparación con aquéllos que tienen una concentración baja de dicha enzima, los cuales tiene un mayor riesgo de tener resistencia a la insulina (Taylor et al., 2015). Posteriormente, el bolo alimenticio es transportado hacia el estómago, en donde se tiene un pH~2.6 debido al HCl excretado por las células parietales, lo que inhibe la acción de α -amilasa, pero aumenta la hidrólisis del almidón (Dona et al., 2010). Del estómago continúa su trayecto hacia el duodeno (intestino delgado), en donde se encuentra la secreción pancreática la cual está compuesta por bicarbonato, el cual neutraliza la acidez del fluido que llega del estómago a un pH~8, y por α -amilasa pancreática que continúa con la hidrólisis del almidón a dextrinas y oligosacáridos. En intestino delgado también se encuentran enzimas como glucoamilasas, maltasas, isomaltasas, las cuales son responsables

20

de la hidrólisis de oligosacáridos y dextrinas a glucosa (Dona et al., 2010; Taylor et al., 2015).

Las moléculas de glucosa son absorbidas a través de las células epiteliales en el intestino delgado, lo que da como resultado un incremento de glucosa en torrente sanguíneo provocando la liberación de insulina que estimula el transporte de la glucosa a diferentes células. Se define como respuesta glucémica postprandial a la velocidad y cantidad de glucosa absorbida junto con la respuesta de la insulina durante 2 horas (Taylor et al., 2015).

El almidón que no es degradado en el intestino delgado (yeyuno y el íleon) continúa su trayecto hacia el colon (intestino grueso), el cual contiene una población muy elevada de microorganismos que son beneficiosos para la digestión de este carbohidrato, ya que los metabolizan a través de una fermentación, en la cual se producen principalmente ácidos grasos de cadena corta (ácido butírico, propiónico, acético) los cuales estabilizan los niveles de glucosa en sangre e inhiben la síntesis de colesterol en hígado (Dona et al., 2010).

Por otro lado, la pectina, al ser fibra dietética, es resistente a la digestión en intestino delgado llegando al colon en donde también puede ser fermentada por la microbiota propia de éste produciéndose ácidos grasos de cadena corta y gases. Sin embargo, durante el trayecto por el tracto gastrointestinal, las pectinas pueden sufrir cambios fisicoquímicos debido a las condiciones a las cuales son sometidas.

De acuerdo con

Ferreira-Lazarte et al. (2019), se produce aproximadamente un 12% de hidrólisis de pectina en intestino delgado debido a las interacciones químicas con los fluidos pancreáticos y las sales biliares, estos cambios contribuyen a la velocidad y la cantidad de la fermentación colónica, ya que las bifidobacterias presentes en colon tienen mayor selectividad hacia oligosacáridos pécticos en comparación con la pectina. Además, la composición de la pectina influye en el crecimiento de ciertos microorganismos durante su fermentación en el colon, principalmente aquéllas que presentan mayor contenido de arabino-oligosacáridos y de galacto-oligosacáridos permiten el crecimiento de bifidobacterias. Pectinas con alto grado de metil

esterificación han mostrado una fermentación más lenta en colon de ratas, lo que indicaría que se lleva a cabo una fermentación en las tres partes del colon (colon ascendente, transversal y descendente) (Ferreira-Lazarte et al., 2019). Por otro lado, se ha investigado la fermentación de pectinas modificadas, las cuales presentan menor masa molecular que las pectinas originales, encontrándose un efecto positivo en las propiedades de fermentación de las pectinas modificadas, ya que se favorece el crecimiento de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* en comparación

con la fermentación de pectina no modificada (Ferreira-Lazarte et al., 2018).

Sasaki & Kohyama (2012) reportaron que la adición de pectina aumenta la viscosidad en suspensiones de almidón además de disminuir su digestibilidad *in vitro*. Por otro lado, Babić et al. (2006) estudiaron el efecto de la adición de pectina a una suspensión de almidón de tapioca sin gelatinizar en la digestión *in vitro* utilizando pancreatina y amiloglucosidasa, encontrando una menor velocidad de digestión en los sistemas almidón-pectina, atribuyéndose a la posible asociación entre la pectina y amiloglucosidasa lo que produce un cambio en la conformación de la enzima o dificultando el acceso de ésta al gránulo de almidón. Por otro lado, se ha reportado que la estructura ramificada de la pectina puede inhibir el acercamiento de la enzima a las cadenas de almidón de arroz y por ende disminuye la digestibilidad del mismo (He et al., 2020). Sin embargo, no se tienen reportes de la interacción de almidón de maíz y pectina de alto grado de metil esterificación (DM) al ser sometidos a un tratamiento térmico, así como las propiedades funcionales del sistema.

2.6 Tratamiento térmico del almidón

Se ha reportado la modificación de la digestibilidad de sistemas almidón y almidón hidrocoloides sometidos a modificaciones físicas como tratamientos térmicos (cocción, extrusión, *heat-moisture*) (He et al., 2020).

En la cocción del almidón se emplea agua como medio de transferencia de calor hacia los alimentos a través de conducción. En este tratamiento térmico, las regiones interiores del alimento reciben menor calentamiento en comparación con

las zonas exteriores. Debido a la presencia de agua y calor, pueden ocurrir diferentes eventos moleculares y fisicoquímicos, en el caso del almidón, el aumento de temperatura y el contenido de humedad rompen puentes de hidrógeno que unen a los gránulos de almidón provocando su hinchamiento y su gelatinización. La cocción de los gránulos de almidón no cambia la estructura ortorrómbica del almidón, sin embargo, reduce las regiones cristalinas en el

gránulo (Wang et al., 2021).

Por otro lado, la extrusión es un proceso térmico en donde se lleva una transformación física y química del material debido a diferentes factores como calentamiento, altas presiones y cizallamiento con una baja cantidad de humedad. Es un proceso continuo con la capacidad de transportar, mezclar, cortar y dar cocción a materiales alimenticios a medida que se procesan a través de él. Además, el alimento se somete durante un tiempo corto a una compactación, cizallamiento, reducción de tamaño de la partícula, transición de fase y degradación molecular debido a la acción del tornillo (Figura 6). A medida que el material alimenticio sale del extrusor, se expone a condiciones atmosféricas, que provoca más cambios en el material (Ek & Ganjyal, 2020). Durante la extrusión, el almidón sufre modificaciones estructurales que en presencia de lípidos puede provocar la formación de complejos amilosa-lípidos (Cervantes-Ramírez et al., 2020), además, en presencia de hidrocoloides se puede llevar una interacción con los gránulos de almidón que disminuyan la digestibilidad de éste (He et al., 2020).

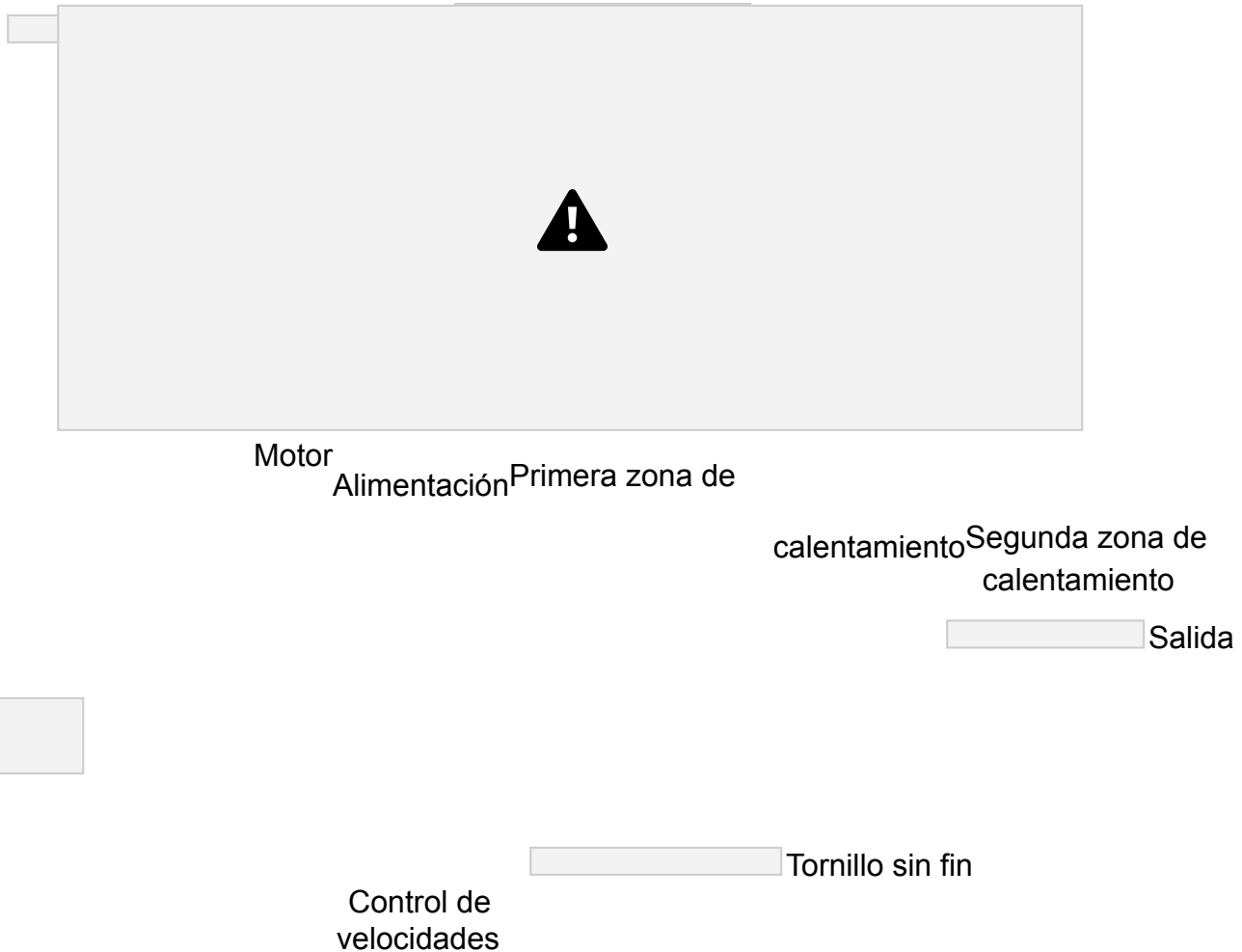


Figura 6. Partes de un extrusor (Cervantes-Ramírez et al., 2020).

3. HIPÓTESIS

La interacción entre almidón obtenido de maíz criollo y pectina de bajo metoxilo tendrá efecto en las propiedades tecno-funcionales, disminuyendo la sinéresis y retrogradación, así como la digestibilidad *in vitro* del almidón.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar las propiedades tecno-funcionales, así como evaluar la digestibilidad *in vitro* de complejos almidón-pectina.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar las propiedades físicas de los maíces, así como realizar la extracción de almidón y evaluar su composición química.
- Formar un ingrediente a base de maíz criollo con pectina a través de extrusión y determinar las propiedades tecno-funcionales, térmicas, reológicas y morfológicas.
- Evaluar la digestibilidad *in vitro* del ingrediente a base de maíz criollo con pectina a través de un modelo de digestión.

24

5. METODOLOGÍA

5.1 Material biológico

Se utilizaron dos variedades de maíz con dureza contrastante, que involucran germoplasma criollo; una variedad de grano duro de maíz palomero denominada HPal 1 y una variedad de grano blando de maíz pozolero denominada HPZ 1 (raza Elotes Occidentales), las cuales fueron proporcionadas por el Programa de Maíz del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)

con sede en Celaya, Gto.

Se utilizó pectina, adquirida en Coyote Foods, Biopolymer and Biotechnology S. de R.L.

5.2 Caracterización física de los maíces nativos

Se midió el índice de flotación mediante la metodología descrita en la NMX-FF-034- 1-2002. Así como el peso de cien granos y el peso hectolítrico. Estas determinaciones se realizaron para tener una referencia sobre la dureza de los granos.

5.3 Aislamiento de almidón de maíz

Para el aislamiento del almidón de maíz se siguió la metodología propuesta por Ji et al., (2004) con ligeras modificaciones. Se realizó una molienda húmeda para obtener el almidón de los maíces estudiados. Para ello se dejó en reposo los

granos de maíz en una solución de hidróxido de sodio (0.01 M) en una relación 1:3 (p/v)

durante 24 h, posteriormente se realizaron lavados para eliminar residuos de NaOH. Se sometió a una molienda húmeda con solución de metabisulfito de sodio (1%) en una relación 1:3 (p/v). La suspensión se tamizó por malla 40, 60, 80, 100 y 200 y el líquido filtrado se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. Se retiró el sobrenadante y el pellet se sometió a dos lavados con solución de metabisulfito para eliminar proteína restante en el almidón y un lavado con etanol para eliminar pigmentos, en ambos casos se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. El pellet se secó a 50°C durante 24 h, posteriormente fue molido y pasado por malla US 60 (250 µm) para homogenizar el tamaño de partícula.

25

5.3.1 Caracterización química de almidones nativos provenientes de los maíces estudiados

La composición proximal se determinó por los métodos de la AACC, (2010). La humedad de los granos se determinó mediante el método de secado por estufa (método 44-15.02). La proteína se cuantificó a partir del contenido de nitrógeno mediante el método de Kjeldahl (método 46-16.01), se usó un factor de conversión de 6.25, correspondiente al maíz. El contenido de cenizas se determinó mediante la incineración completa de la muestra (método 08-01.01); el contenido de lípidos se determinó por extracción con éter de petróleo (método 30-25.01); y los carbohidratos se calcularon por diferencia. El contenido de amilosa se determinó mediante un kit enzimático de Megazyme® Amylose/amylopectin (Megazyme International Ireland, Ltd. Wicklow Irlanda), el contenido de amilopectina se calculó por diferencia.

5.4 Caracterización de pectina

5.4.1 Composición monomérica

Para la determinación de la composición de monosacáridos de la pectina se siguió la metodología de Muñoz-Almagro et al. (2017). Se realizó una hidrólisis ácida de la muestra con ácido trifluoroacético (TFA). Se pesaron 30 mg de la muestra de

pectina por duplicado, se añadieron 1500 μL de TFA 2M, se pasó una corriente de N_2 , se selló y se incubó durante 4 h a 110 $^\circ\text{C}$. Posteriormente, se tomó una alícuota de 500 μL de cada muestra y se evaporó el ácido. Dicha alícuota se sometió a un proceso de derivatización, en la cual se prepararon los trimetilsilil derivados de las oximas de los carbohidratos. Tras la evaporación del ácido, se le añadió 400 μL de patrón interno (β -fenilglucósido, 0.5 mg/mL) a cada muestra y se evaporó en un rotavapor. Para la formación de oximas, se añadieron 300 μL de cloruro de hidroxilamina al 2.5% en piridina y se incubó durante 30 min a 70 $^\circ\text{C}$. Posteriormente, para la formación de trimetilsilil derivados se añadieron 300 μL de hexametildisilazano (HMDS) y 30 μL de TFA, las muestras se incubaron a 50 $^\circ\text{C}$ durante 30 min. Finalmente, las muestras fueron centrifugadas durante 2 min a

26

10,000 rpm, el sobrenadante se pasó a un vial para su análisis por cromatografía de gases acoplado a un detector de ionización de llama (GC-FID).

La determinación y cuantificación de monosacáridos se utilizó una columna capilar de sílice DB-5HT (15 m x 0.32 mm x 0.10 μm) (J&W Scientific, Folson, California, USA) y N_2 como gas acarreador (1 mL/min). La temperatura inicial del horno fue de 150 $^\circ\text{C}$, teniendo una tasa de calentamiento de 1 $^\circ\text{C}/\text{min}$ hasta 165 $^\circ\text{C}$ y posteriormente 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$ hasta 300 $^\circ\text{C}$. La temperatura del inyector y del detector se mantuvo a 280 $^\circ\text{C}$ y 350 $^\circ\text{C}$, respectivamente. La inyección de la muestra se realizó en modo Split 1:20.

El análisis de datos se realizó mediante el software HPChem Station (Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA).

5.4.2 Grado de metil esterificación

Se siguió la metodología de Muñoz-Almagro et al. (2017) para la determinación del grado de metil esterificación de la pectina. Las muestras fueron analizadas por FTIR. Se prepararon discos de pectina con KBr (1:100). Se utilizó un espectrómetro Bruker IFS66v (Bruker, US). El espectro de la pectina se obtuvo en un rango de 400-4000 cm^{-1} , con una resolución de 4 cm^{-1} . Para el cálculo del

grado de metil esterificación (GM) de la pectina se utilizó la fórmula 1:

$$\text{GM} = \frac{\text{á} \times 1747}{(\text{á} \times 1747 + \text{á} \times 1632)^{-1}} \text{Fórmula (1)}$$

5.4.3 Peso molecular

Para la determinación del peso molecular de la pectina se siguió la metodología propuesta por Muñoz-Almagro et al., (2018) con ligeras modificaciones. Se utilizó un cromatógrafo LC Agilent Technologies 1220 Infinity LC System 1260 con un detector evaporativo de dispersión de luz (Boeblingen, Alemania). Dos columnas de polimetacrilato hidroxilado TSK-Gel G5000 PWXL (7,8 mm x 300 mm, 10 µm) y G2500 PWXL (7,8 mm x 300 mm, 6 µm) fueron utilizadas, conectadas a una precolumna TSK-Gel (6,0 mm x 400 mm) (Tosoh Bioscience, Stuttgart, Alemania).

27

Se utilizó una solución de NH₄CH₃CO₂ (0.1 M) como fase móvil, en un flujo de 0.5 mL/min durante 50 min a 30 °C.

Se preparó una solución de pectina en agua destilada (1 mg/mL), que fue filtrada (0.45 µm). Se inyectaron 50 µL de la muestra en el sistema cromatográfico. Los datos fueron procesados a través del Software Agilent ChemStation (Agilent Technologies, Boeblingen, Alemania).

Para la determinación del peso molecular (Mw) de la pectina se realizó un método de calibración externa. Se empleó una mezcla comercial de patrones de pululanos (Fluka Analytical) de pesos moleculares de 805, 212, 100, 1.32 y 0.342 kDa a una concentración de 1 mg/mL.

5.5 Formación del sistema almidón-pectina

Se utilizaron cuatro porcentajes diferentes de pectina (0, 2, 5 y 7%) en cada una de las muestras de almidón de maíz. Se solubilizó la pectina en agua destilada con agitación constante a 50°C (la cantidad de agua para solubilizar la pectina fue aquella que aseguraba un 40% de humedad en la mezcla almidón-pectina), posteriormente se añadió la pectina al almidón y se mezcló hasta su completa

homogenización, se almacenó en bolsas herméticamente cerradas de polietileno durante 2 h para la estabilización de la humedad. El sistema almidón-pectina se formó mediante un proceso de extrusión, la velocidad del extrusor se ajustó a 15 rpm y la temperatura de la zona de calentamiento a 85°C, se utilizó un tornillo de alto cizallamiento (L/D=9). Las mezclas de almidón-pectina ingresaron al extrusor. Los complejos almidón-pectina extrudidos se deshidrataron en un horno de circulación forzada a 45°C por 12 h, y fueron molidos y tamizados en malla US 60 (250 µm). Se almacenaron en bolsas de polietileno hasta su posterior análisis.

5.6 Caracterización de los sistemas almidón-pectina

5.6.1 Microestructura

Se evaluó la microestructura del almidón de maíz aislado, extrudido, así como del sistema almidón-pectina. Se utilizó un microscopio electrónico de barrido ambiental

28

ESEM XL30 Philips con módulo de bajo vacío, usando el haz de electrones ajustado a 20kV y 50 µA aproximadamente. Se tomaron imágenes a 50 y 30 µm con 1250 y 2000 X respectivamente, 1 torr, con un detector GSE con “spotsize” de láser de 4.6 a 5.0 (Cervantes-Ramírez et al., 2020).

5.6.2 Difracción de rayos X

Se evaluó el patrón de difracción de rayos X del almidón de maíz nativo, extrudido, así como de los complejos almidón-pectina. La difracción de rayos X es una herramienta que permite estudiar los cambios en las estructuras cristalinas producidas por un proceso específico, en este caso la extrusión. Se ajustó la humedad de cada una de las muestras a 7% y se colocaron en una superficie de vidrio; se escanearon desde 5 hasta 50° sobre la escala 2θ utilizando un difractómetro de rayos X Rigaku DMAX-2100, el cual operó a 30kV y 16 mA con una radiación de CuKa de $\lambda=1.5405$. Las distancias interplanares (d) de los picos se calcularon con la ecuación de Bragg (fórmula 2) (Cervantes-Ramírez et al., 2020):

$$\diamond\diamond\diamond\diamond = 2\diamond\diamond\diamond\diamond\diamond\diamond\diamond\diamond\diamond\diamond \text{ F\u00f3rmula (2)}$$

5.6.3 Espectroscop\u00eda de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)

Se utiliz\u00f3 un espectr\u00f3metro IR (Perkin Elmer, modelo Spectrum Two, Waltham-USA) equipado con ATR (Reflectancia Total Atenuada). El espectro del almid\u00f3n de ma\u00edz aislado, extrudido, as\u00ed como de los complejos almid\u00f3n-pectina se obtuvo en 24 escaneos entre 600 y 4000 cm^{-1} con una resoluci\u00f3n de 4 cm^{-1} (Cervantes-Ram\u00edrez et al., 2020). Esta t\u00e9cnica se realiz\u00f3 para determinar los enlaces que se llevan a cabo entre el almid\u00f3n y la pectina.

5.6.4 Propiedades t\u00e9rmicas

Se determinaron las propiedades t\u00e9rmicas de la pectina, del almid\u00f3n nativo, almid\u00f3n extrudido y de los complejos almid\u00f3n-pectina, con base a la metodolog\u00eda propuesta por Cervantes-Ram\u00edrez et al., (2020) con algunas modificaciones. Se us\u00f3 un calor\u00edmetro diferencial de barrido (DSC) de la marca Mettler Toledo Modelo 821. Se

29

colocaron 3.0 mg de muestra molida y cribada en una malla US 60 (250 μm) en una charola de aluminio (40 μL), se agregaron 9 μL de agua destilada. La charola se sell\u00f3 con una prensa Mettler Toledo (ME-00119410) y sometió a un perfil de temperatura de tres ciclos. El primer ciclo fue de calentamiento de 30 $^{\circ}\text{C}$ a 125 $^{\circ}\text{C}$, en una raz\u00f3n de 10 $^{\circ}\text{C}$ por minuto, posteriormente se sometió a un ciclo de enfriamiento de 125 $^{\circ}\text{C}$ a 30 $^{\circ}\text{C}$ en una raz\u00f3n de -10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, finalmente se sometió a un segundo ciclo de calentamiento de 30 $^{\circ}\text{C}$ a 125 $^{\circ}\text{C}$, en una raz\u00f3n de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Los crisoles se almacenaron en refrigeraci\u00f3n (4 $^{\circ}\text{C}$) durante 8 d\u00edas, posteriormente se sometió a un perfil de temperatura de 30 $^{\circ}\text{C}$ a 120 $^{\circ}\text{C}$ en una raz\u00f3n de 10 $^{\circ}\text{C}$ para la evaluaci\u00f3n de retrogradaci\u00f3n.

Se analiz\u00f3 la endoterma de gelatinizaci\u00f3n y retrogradaci\u00f3n. Se determinaron par\u00e1metros como: temperatura inicial (T_0), temperatura pico (T_p), temperatura final

de gelatinización (Tf) y entalpía (ΔH) de cada endoterma.

5.6.5 Propiedades de pasta

Se evaluaron las propiedades de pasta del almidón de maíz nativo, extrudido, así como de los complejos almidón-pectina. Se siguió la metodología propuesta por Ménera-López et al., (2013) usando un reómetro (Anton Paar Physica Modelo MCR 101, Austria). Se pesaron 2.5 gramos de la muestra seca, molida y cribada en una malla US 60. La muestra se suspendió en 18 mL de agua destilada y se mantuvo a 50°C por 2 minutos para estabilizar la temperatura y asegurar una dispersión uniforme. Posteriormente se sometió a una isoterma de calentamiento de 50 a 92°C durante 8.4 minutos, manteniendo por 5 minutos una temperatura de 92°C, finalmente la muestra se enfrió hasta 50°C a -5.8°C/min. Con esta prueba se obtuvieron viscoamilogramas, con los cuales se determinó: temperatura de pastificado (pasting), viscosidad máxima, tiempo y temperatura de viscosidad máxima, viscosidad mínima, viscosidad final y viscosidad de retrogradación (diferencias entre la viscosidad final y máxima).

5.6.6 Sinéresis del sistema almidón-pectina

Se siguió la metodología propuesta por Zhang et al., (2018) con ligeras modificaciones. Los geles obtenidos del análisis de propiedades de pasta (5.6.5) se transfirieron a tubos de centrifuga de plástico de 50 mL, se dejaron enfriar y se congelaron a -18 °C durante 24 h. Posteriormente, se descongelaron a 25 °C por 2 h antes del siguiente ciclo de congelación. Se repitió el proceso en el día 4, 7 y 15 de congelación. Para medir sinéresis, una vez descongelados los tubos fueron centrifugados a 3000 g por 15 min. El sobrenadante se decantó y el residuo se pesó, los tubos se regresaron a congelación para el siguiente ciclo. El porcentaje de sinéresis se calculó con la siguiente fórmula (2):

$$\text{Sinéresis (\%)} = \frac{\text{Peso del sobrenadante}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

$$\frac{A_{540}}{A_{540} + A_{520}} = \frac{C_3}{C_3 + C_2} \text{ F\u00f3rmula (3)}$$

$$A_{540} (\%) = \left(\frac{C_3}{C_3 + C_2} \right) * 100 \text{ F\u00f3rmula (4)}$$

5.7 Modelo de digesti\u00f3n *in vitro* con extracto de intestino delgado de rata (EIDR)

5.7.1 Reactivos y est\u00e1ndares

Se utilizaron los siguientes est\u00e1ndares: D-galactosa (Gal), D-glucosa (Glc), D-arabinosa (Ara), \u00e1cido galactur\u00f3nico (GalA), maltosa (α -D-Glc-(1 \rightarrow 4)-D-Glc), sacarosa (β -D-Fru-(2 \rightarrow 1)- α -D-Glc), fructosa, fenil- β -D-glucosido, D-xilosa (Xyl), L-ramnosa (Rha) y D-manosa (Man), as\u00ed como el extracto de intestino delgado de rata (EIDR).

5.7.2 Material a estudiar

Se sometieron a una digesti\u00f3n *in vitro* una muestra de pectina de bajo grado de metil esterificaci\u00f3n, una muestra de almid\u00f3n nativo, almid\u00f3n extrudido y el complejo almid\u00f3n-pectina al 7% de cada una de las variedades de ma\u00edz estudiada. Se sigui\u00f3 la metodolog\u00eda propuesta por Ferreira-Lazarte et al. (2017) con ligeras modificaciones.

32

5.7.3 Caracterizaci\u00f3n del extracto de intestino delgado de rata (EIDR)

5.7.3.1 Contenido de prote\u00edna

El contenido de prote\u00edna fue determinado a trav\u00e9s del m\u00e9todo Bradford. La absorbancia fue medida a 595 nm y el est\u00e1ndar usado fue alb\u00fabina de suero bovino.

5.7.3.2 Actividad enzim\u00e1tica

La actividad de maltasa, sacarasa y pectinasa de EIDR (U/g prote\u00edna) fueron evaluadas por duplicado usando cromatograf\u00eda de gases con detector de

ionización de llama (GC-FID) (Ferreira-Lazarte et al., 2017). Se incubó EIDR (10 mg/mL) con soluciones individuales de maltosa, sacarosa y pectina cítrica en agua destilada (pH 6.8) a 37°C por 0, 30, 60, 90 y 120 min, y posteriormente se llevaron a ebullición durante 5 min para detener la reacción enzimática. La evaluación del contenido de carbohidratos fue analizada a través de GC-FID para calcular la actividad enzimática específica.

5.7.4 Digestión *in vitro* de la muestra

Se realizó la digestión con EIDR de las muestras acorde al método de Ferreira Lazarte et al., (2017) con ligeras modificaciones. Se realizaron soluciones de las muestras con una concentración de 0.5 mg/mL de cada una. Se añadió 1 mL de cada una de las soluciones a tubos eppendorf de 2 mL con 20 mg de EIDR previamente pesado. Las muestras fueron incubadas a 37 °C durante 2 h a 500 rpm. Se colectaron muestras en diferentes tiempos (0, 60 y 120 min), deteniendo la reacción en un baño a ebullición.

5.7.5 Análisis de la evolución de la digestión *in vitro*

Se usó un cromatografo de gases acoplado a un detector de ionización de llama (GC-FID) para la cuantificación de monosacáridos liberados durante la digestión *in vitro* de las muestras.

Las muestras fueron derivatizadas para obtener oximas trimetilsililadas (TMSO), de acuerdo con lo reportado por Ferreira-Lazarte et al. (2017). Las muestras obtenidas de las digestiones se mezclaron con 125 µL de fenil-β-D-glucósido (estándar

interno, 0.5 mg/mL), las cuales se secaron en una estufa al vacío a 45 °C. Para la formación de la oxima, se añadieron 300 µL de cloruro de hidroxilamina en piridina (2.5 % p/v), y se incubaron a 70°C durante 30 min. Posteriormente, se realizó la sililación con la adición de 300 µL de hexametildisilazano (HDMS) y 30 µL de TFA, se sometieron a una incubación a 50 °C con agitación constante durante 30 min. Los TMSO se centrifugarán a 10,000 rpm por 2 min, y los sobrenadantes fueron

inyectados en GC-FID.

Se utilizó un sistema de cromatografía de gases equipado con una columna capilar DB-5HT (5% fenil metilpolisiloxano, 30 m x 0.25 mm x 0.1 μ m, Agilent J&W Scientific Folsom, CA, USA). Se utilizó nitrógeno como gas acarreador en un flujo de 1 mL/min. El programa de calentamiento del horno empezó en 150 °C y llegó a 380 °C en una tasa de 3 °C/min. La temperatura del inyector y detector fue de 280 °C y 385 °C, respectivamente. Las muestras se analizaron en modo Split 1:20.

La cuantificación del contenido de carbohidratos se realizó calculando los factores de respuesta de las soluciones de estándares (xilosa, arabinosa, ramnosa, galactosa, manosa, glucosa, fructosa, ácido galacturónico y maltosa) a concentraciones conocidas (0.005 a 2 mg/mL). La interpretación e integración de los datos se realizó usando el Software Agilent ChemStation.

5.8 Análisis estadístico

Se realizaron dos réplicas por tratamiento y dos repeticiones de cada determinación. Para la evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los sistemas almidón pectina se utilizó un diseño factorial 2x4: las variables evaluadas fueron la variedad del maíz y la concentración de pectina añadida.

Las diferencias estadísticas en cada una de las variables evaluadas se observaron al aplicarse un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, se estudiaron dos variables continuas (variedades de maíz y tipo de pectina) y una variable numérica (cuatro concentraciones de pectina), a un nivel de significancia de 95% ($\alpha=0.05$). Se utilizó

34

una prueba Tukey (comparaciones múltiples) para encontrar diferencias significativas.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Caracterización física de los maíces estudiados

En el Cuadro 1 se muestran los resultados obtenidos de dureza relacionada con el índice de flotación, peso de cien granos (PCG) y peso hectolítrico (PH), de las dos variedades de maíz estudiadas, una de maíz pozolero que involucra la raza Elotes Occidentales (HPZ 1) y otra de maíz palomero de raza Palomero (HPal 1).

Las características físicas del maíz como: dureza, densidad del grano (peso hectolítrico), tamaño, gravedad específica, así como capacidad de absorción de agua, pueden ser una expresión de la microestructura del gránulo de almidón y se han relacionado con su composición química (Narváez *et al.*, 2006). Además, este conjunto de características físicas determina el uso final de los maíces y su calidad industrial (Figuroa-Cárdenas *et al.*, 2013).

El índice de flotación (IF) es una medida indirecta de la dureza del grano, la cual se basa en la cantidad de granos que flotan en una solución de nitrato de sodio con densidad conocida (1.25 g/mL), en donde los granos duros presentan una mayor densidad en comparación con los granos suaves, que tienden a flotar. La variedad HPZ 1 presentó mayor índice de flotación en comparación con la variedad HPal 1 (Cuadro 1), lo cual corresponde a lo reportado en literatura (Vázquez *et al.*, 2010). Por lo anterior, con base en la NMX-FF-034-1-2002, el maíz HPZ 1 se clasificó como un maíz de dureza intermedia, mientras que el maíz HPal 1 corresponde a un maíz muy duro.

Cuadro 1. Características físicas de HPZ 1 y HPal 1.

Variedad IF (%) Dureza PH (kg/hL) PCG (g) Tamaño

HPZ 1 52.3 ± 2.5^A Intermedio 75.1 ± 0.2^B 40.4 ± 0.09^A Grande HPal 1 11.6 ± 2.5^B
Muy duro 82.8 ± 0.1^A 15.6 ± 1.3^B Pequeño

35

Medias ± DE seguidas de la misma letra no muestran diferencias significativas ($p < 0.05$). HPZ 1: maíz Pozolero; HPal 1: maíz Palomero; IF: índice de flotación; PH: peso hectolítrico; PCG: peso de cien granos.

Otro de los factores que permite determinar la dureza de los granos es el peso hectolítrico (PH) o densidad aparente; dicho parámetro está relacionado con la susceptibilidad a ruptura del grano, rendimiento de molienda, velocidad de secado y resistencia al desarrollo de hongos (Salinas & Vázquez, 2006). El maíz HPZ 1 presentó menor PH en comparación con el maíz HPal 1 (Cuadro 1). En este sentido, los granos que presentan mayor densidad, tienen menor probabilidad de ser dañados por agentes externos, como insectos, y mayor resistencia al manejo durante el almacenamiento y comercialización. La NMX-FF-034-1-2002 indica que los maíces de primera calidad deben tener una densidad mínima de 74 kg/hL, ambas variedades de maíz presentaron una densidad superior a lo indicado a la norma, por lo que cumplen con la misma. La dureza del grano se ha relacionado positivamente con la densidad, el tamaño del gránulo de almidón y la cantidad de endospermo en el grano; por el contrario, se ha reportado una correlación negativamente con el índice de flotación, condiciones que concuerdan con los resultados encontrados (Gaytán-Martínez et al., 2006). Además, este factor determina el uso final del maíz en la industria, ya que maíces suaves presentan una mayor hidratación en comparación con los maíces de alta dureza, por lo que maíces suaves pueden ser utilizados para la industria de la molienda húmeda o para la preparación de platillos típicos como el pozole.

Finalmente, el peso de cien granos (PCG) permite estimar el tamaño del grano. Un valor bajo indica un porcentaje alto de granos pequeños, mientras que un valor alto indica granos grandes. El PCG fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en la variedad HPZ 1 en comparación con la variedad HPal 1 (Cuadro 1), lo que indica que los primeros granos son más grandes. Los resultados concuerdan con lo reportado en literatura, en donde maíces de dureza intermedia presentan mayor tamaño mientras

que los granos más pequeños corresponden a maíces duros (Salinas y Aguilar, 2010).

6.2 Caracterización química de los almidones nativos aislados de HPZ 1 y HPal 1.

En el Cuadro 2 se presentan los resultados de la composición química de los almidones obtenidos de maíces criollos. La humedad de ambos almidones extraídos de maíces criollos resultó en un rango de 5-6%, siendo significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre ambas variedades (Cuadro 2).

Cuadro 2. Composición proximal de HPZ 1 y HPal 1.

Muestra	Humedad (%)	Proteína (%)	Cenizas (%)	Lípidos (%)	Carbohidratos (%)*	Amilosa (%)
HPZ 1	5.9 ± 0.02 ^A	0.37 ± 0.06 ^B	1.08 ± 0.32 ^A	0.26 ± 0.007 ^B	98.28 ± 0.26 ^A	33.04 ± 1.51 ^A
HPal 1	5.3 ± 0.02 ^B	0.94 ± 0.23 ^A	0.34 ± 0.02 ^B	0.51 ± 0.04 ^A	98.19 ± 0.24 ^A	29.86 ± 1.50 ^B

Medias ± DE seguidas de la misma letra no muestran diferencias significativas ($p < 0.05$). HPZ 1: maíz Pozolero; HPal 1: maíz palomero. *Los carbohidratos fueron calculados por diferencia: 100-(cenizas + lípidos + proteínas) en base seca.

El almidón de la variedad HPZ 1 mostró un menor contenido de proteína en comparación con el almidón de la variedad HPal 1, siendo estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). Al utilizar un método de aislamiento alcalino se esperaba que el contenido residual de proteína fuera bajo, sin embargo, los resultados obtenidos corresponden con el rango reportado por Paraginski et al. (2014). Un alto contenido de proteína en el almidón puede reducir la entrada del agua a los gránulos de almidón durante la gelatinización, limitando la interacción entre el agua y el almidón, afectando sus propiedades térmicas y de pasta.

Por otro lado, el contenido de lípidos presentes en el almidón fue significativamente diferente ($p < 0.05$) entre ambas variedades, se observó un rango entre 0.34 a 1 % (Cuadro 2), el cual corresponde a lo reportado en literatura (Paraginski et al., 2014). Este porcentaje de lípidos puede atribuirse a los ácidos grasos libres y a los

lisofosfolípidos restantes en el gránulo de almidón (Buléon et al., 1998). Al igual que las proteínas, un alto contenido de lípidos puede modificar las propiedades térmicas y de pasta del almidón, debido a la reducción de la capacidad del gránulo de almidón de absorber agua.

El porcentaje de cenizas del almidón HPal 1 fue mayor a lo observado en el almidón HPZ 1, teniendo un rango entre 0.2 a 0.5% (Cuadro 2), el cual puede corresponder al contenido de fosfolípidos restantes en el gránulo de almidón (Buléon et al., 1998).

No se observaron diferencias significativas en el contenido de carbohidratos de ambos almidones, siendo éste el componente mayoritario del almidón (Cuadro 2). El almidón al ser un homopolisacárido, está compuesto principalmente de amilosa y amilopectina, formados por alfa-glucanos que se originan de la condensación de unidades de D-glucosa, los cuales representan entre el 98-99% del peso en base seca del almidón, los resultados obtenidos concuerdan con este valor de carbohidratos reportado (Tester et al., 2004). No se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el contenido de carbohidratos de los dos almidones estudiados. Por otro lado, el contenido de amilosa en el almidón HPZ 1 fue significativamente diferente ($p < 0.05$) al contenido de amilosa del almidón HPal 1. A pesar de estas diferencias, ambos almidones pueden considerarse como almidones con un contenido normal de amilosa (Tester et al., 2004).

6.3 Caracterización de pectina

6.3.1 Composición monomérica

La Figura 7 muestra el perfil cromatográfico de la pectina antes y después de la hidrólisis con TFA, así como el perfil cromatográfico de la mezcla de estándares utilizados. Los monosacáridos que se identificaron se representan con un número.

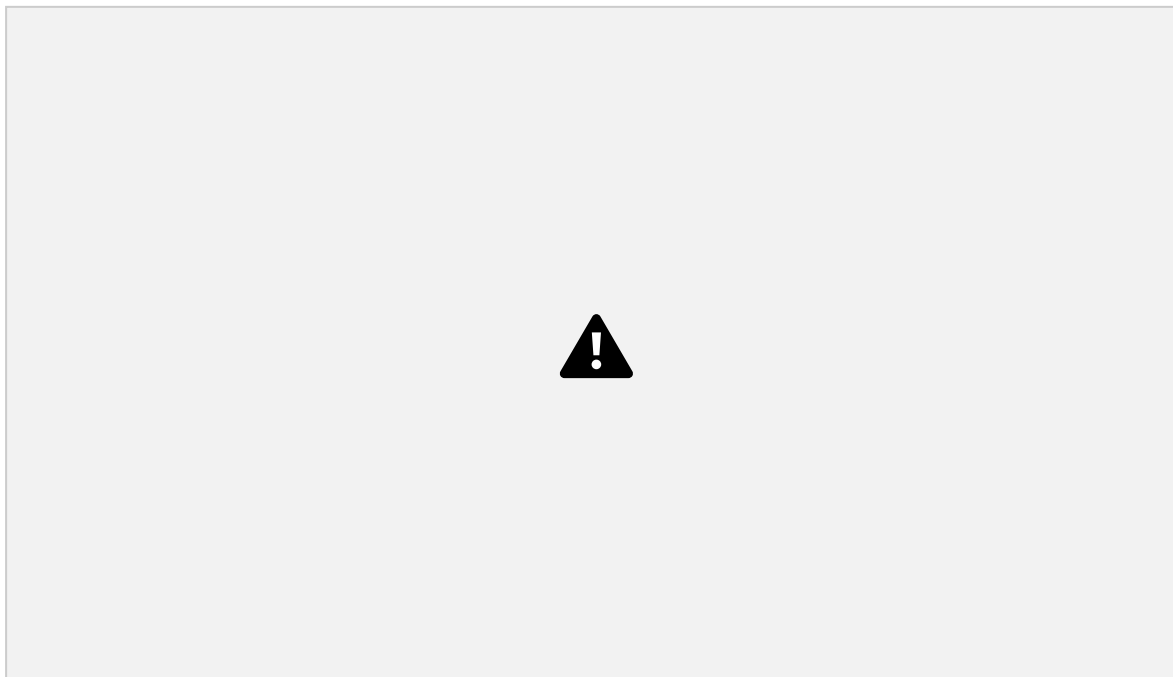


Figura 7. Perfil cromatográfico obtenido por GC-FID de pectina antes (verde), y después (rojo) de la hidrólisis con TFA y la mezcla de estándares (azul). 1: Xilosa; 2: Xilosa+Arabinosa; 3: Ramnosa; 4: Fructosa; 5: Galactosa; 6: Glucosa; 7: Glucosa+Galactosa; 8: Ácido galacturónico (isómero E); 9: Ácido galacturónico (isómero Z); 10: β -fenilglucósido (patrón interno).

Se observó que la pectina sin hidrolizar (Figura 7, verde) presentó cuatro picos en su perfil cromatográfico: galactosa (5), glucosa (6), la mezcla de ambos carbohidratos (7) y el patrón interno (10). Dichos resultados indican la presencia de glucosa libre en la muestra nativa de pectina. Por otro lado, el perfil cromatográfico de la pectina que fue hidrolizada con TFA (Figura 7, rojo) presentó los picos correspondientes a los monosacáridos que componen la estructura de pectina: xilosa (1), arabinosa (2), ramnosa (3), galactosa (5) y ácido galacturónico (8 y 9), además del pico correspondiente al patrón interno (10), y al pico de glucosa (6) observado previamente.

De acuerdo con la estructura de la pectina (Figura 5), el monosacárido predominante es el ácido galacturónico, el cual forma la columna vertebral de la pectina, conocida como homogalacturonano (Muñoz-Almagro et al., 2021). De acuerdo con la FAO, para que una pectina se considere como aditivo alimentario

39

(E440) el porcentaje de ácido galacturónico debe ser superior a 65%; sin embargo, la muestra utilizada como pectina presentó un menor porcentaje a lo establecido por la FAO (Cuadro 3), por lo tanto, la pectina utilizada no podría considerarse como un aditivo E440, sino un ingrediente que contiene pectina. Otros monosacáridos que destacan en la composición de la pectina son aquellos que forman la parte ramificada de este hidrocoloide, como lo es la ramnosa (3) y la galactosa (5), la primera actúa como punto de unión a las ramificaciones formadas por arabinogalactanos, arabinanos y galactanos, que es identificado como ramnogalacturonano I, en donde se tiene la presencia de azúcares neutros como la galactosa y arabinosa (Muñoz-Almagro et al., 2021). Finalmente, la xilosa indica la presencia de la estructura más compleja de la pectina, identificado como ramnogalacturonano II.

Cuadro 3. Composición monomérica (%) de pectina sometida a hidrólisis con TFA.

Muestra	Xilosa +	Arabinosa	Ramnosa	Galactosa	Glucosa	Ácido galacturónico
Pec	0.77 ± 0.11 ^B	1.54 ± 0.11 ^B	2.42 ± 0.15 ^B	74.24 ± 1.72 ^A	21.01 ± 1.51 ^B	Ref 3.47 ± 0.11 ^A
	4.07 ± 0.39 ^A	15.91 ± 1.56 ^A	0.91 ± 0.01 ^{0B}	75.62 ± 6.19 ^A		

Medias ± DE seguidas de la misma letra no muestran diferencias significativas ($p < 0.05$). Pec: pectina hidrolizada con TFA. Ref: pectina referencia.

Se analizó la composición monomérica de una pectina de referencia, la cual tenía una concentración de monosacáridos conocida, con fines comparativos en la

composición y concentración de los monosacáridos. La pectina de referencia presentó un porcentaje mayor a 65% de ácido galacturónico, por lo que ésta puede definirse como aditivo alimentario E440. Por otro lado, la cantidad de glucosa presente en la pectina de referencia es mínima, ya que dicho carbohidrato no se encuentra en la estructura de la pectina. Sin embargo, en la pectina que fue utilizada para el estudio se encontró un alto porcentaje de glucosa (Cuadro 3), su presencia

40

puede asociarse con el proceso de extracción y purificación de dicho hidocoloide, ya que puede provenir de otros polisacáridos, como la celulosa y la hemicelulosa, que pudieron co-precipitar durante la extracción de la pectina, o bien, que sea remanente de azúcares solubles que no fueron eliminados durante su purificación (Muñoz-Almagro et al., 2017).

6.3.2 Grado de metil esterificación

La Figura 8 muestra el espectro FTIR de la pectina. Las bandas de interés para la determinación del grado de metil esterificación se encuentran señaladas por líneas discontinuas amarillas.

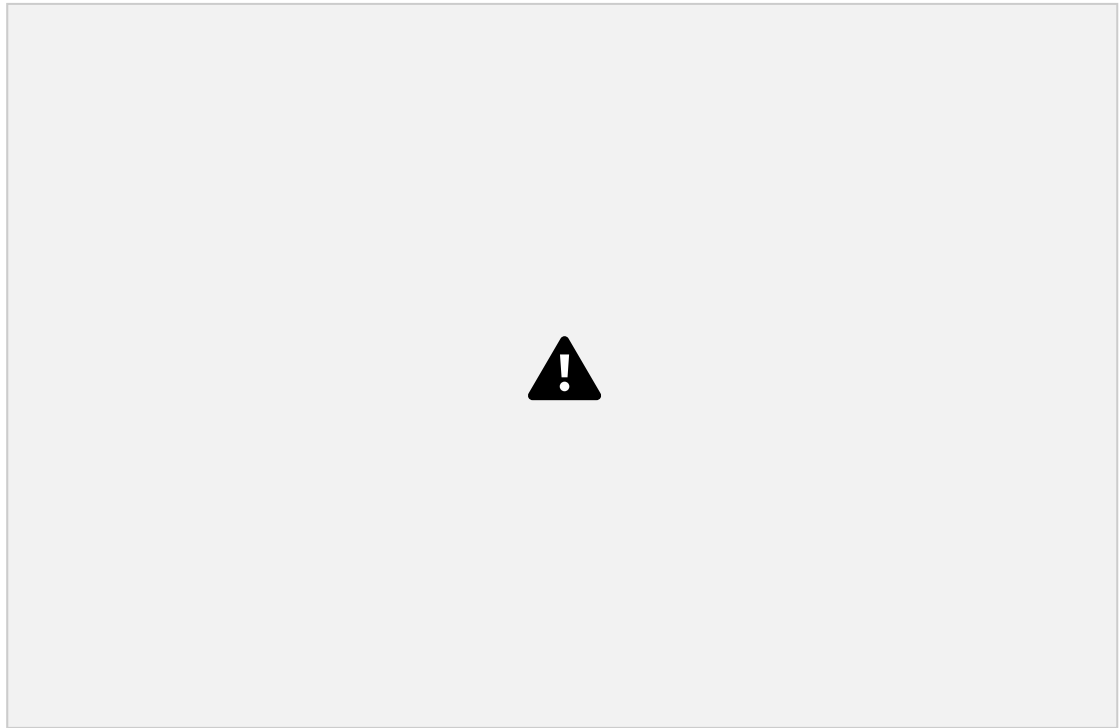


Figura 8. Espectro FTIR de pectina.

La banda a 1747 cm^{-1} (A) corresponde al grupo carbonilo (COOR), mientras que la banda a 1632 cm^{-1} (B) se ha asociado con el estiramiento simétrico del grupo COO- (Muñoz-Almagro et al., 2017). De acuerdo con la relación de ambas bandas se obtuvo un grado de metil esterificación de 28.2%, que indica las unidades de ácido

41

galacturónico metil esterificadas, por lo que la pectina fue clasificada como una pectina de bajo grado de metil esterificación.

6.3.3 Peso molecular

En la Figura 9 se observan los perfiles cromatográficos de la pectina (azul) así como de la mezcla de pululanos utilizados (rojo).

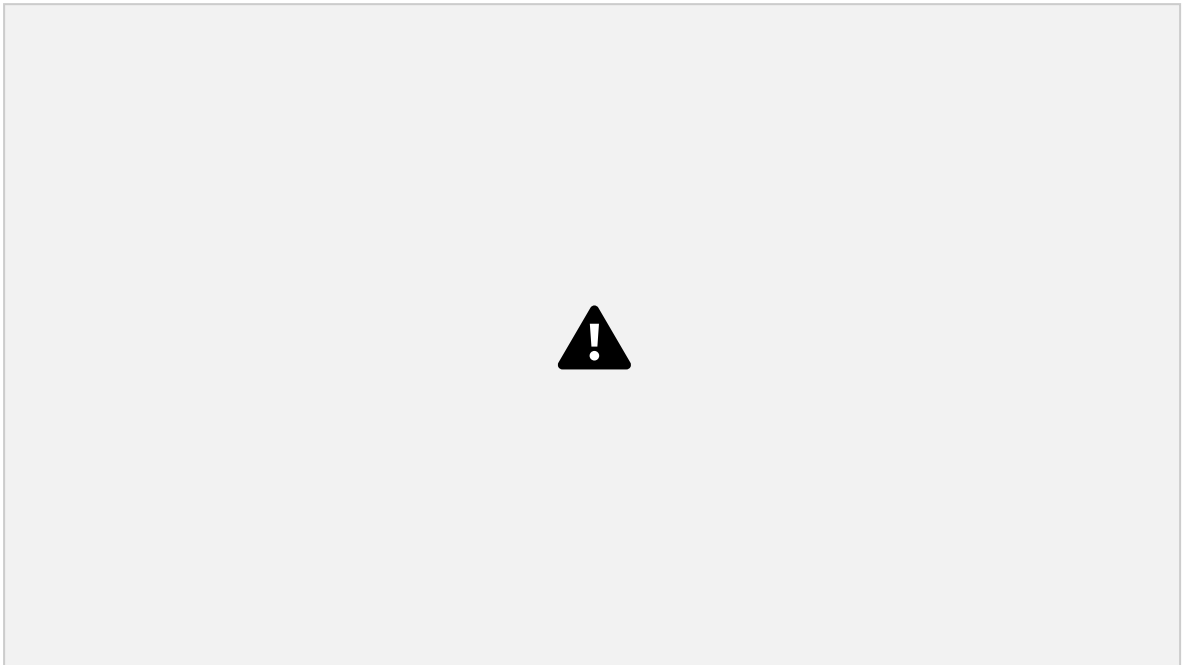


Figura 9. Perfil cromatográfico obtenido por HPSEC-ELSD de pectina (azul) y mezcla de pululanos (rojo).

En el perfil cromatográfico de la pectina se observaron dos picos (Figura 9, perfil rojo), el primero con un tiempo de retención de 27 min, que correspondió a 288 kDa y fue identificado como la estructura de la pectina; mientras que el segundo pico se observó en un tiempo de retención de 40 min, correspondiente a 0.18 kDa, probablemente glucosa. Dichos resultados están en línea con la composición monomérica de la pectina (Cuadro 3), en donde se observó un alto contenido de glucosa, confirmándose la presencia de este monosacárido en el hidrocólide.

Se determinó la concentración de los dos carbohidratos en la muestra, es decir, la pectina representó el 41.5% y la glucosa el 58.5%, es decir, más de la mitad de la

42

muestra utilizada como pectina fue glucosa, la cual puede modificar las propiedades fisicoquímicas de la pectina misma, así como del alimento en el cual se incorpora.

6.4 Caracterización de complejos almidón-pectina

6.4.1 Microestructura

La Figura 10 muestra las micrografías SEM del almidón nativo, extrudido y complejos almidón-pectina de ambos almidones. Los almidones nativos mostraron una morfología poligonal (Figura 10, círculo negro), característica de los gránulos de almidón provenientes de maíces de dureza alta e intermedia (Figueroa et al., 2013). Además, los gránulos de almidón de las muestras nativas no mostraron daño en su integridad, lo que indica que el proceso de extracción del almidón se realizó de forma correcta.

En las muestras extrudidas de ambos almidones se observaron dos fases, la primera compuesta por los gránulos de almidón que no fueron gelatinizados durante el proceso de extrusión (Figura 10, círculo rojo), lo que indicaría que la temperatura utilizada en los tratamientos fue insuficiente para lograr una completa gelatinización de los gránulos de almidón. Por otro lado, la fase que embebe a los mismos corresponde a los gránulos de almidón que presentaron una disrupción durante el proceso termomecánico, es decir, almidones gelatinizados (Liu et al., 2017). De acuerdo lo observado en las micrografías SEM (Figura 10, extrudido), el almidón HPZ 1 conservó una mayor integridad al ser sometido a extrusión en comparación con el almidón HPal 1.

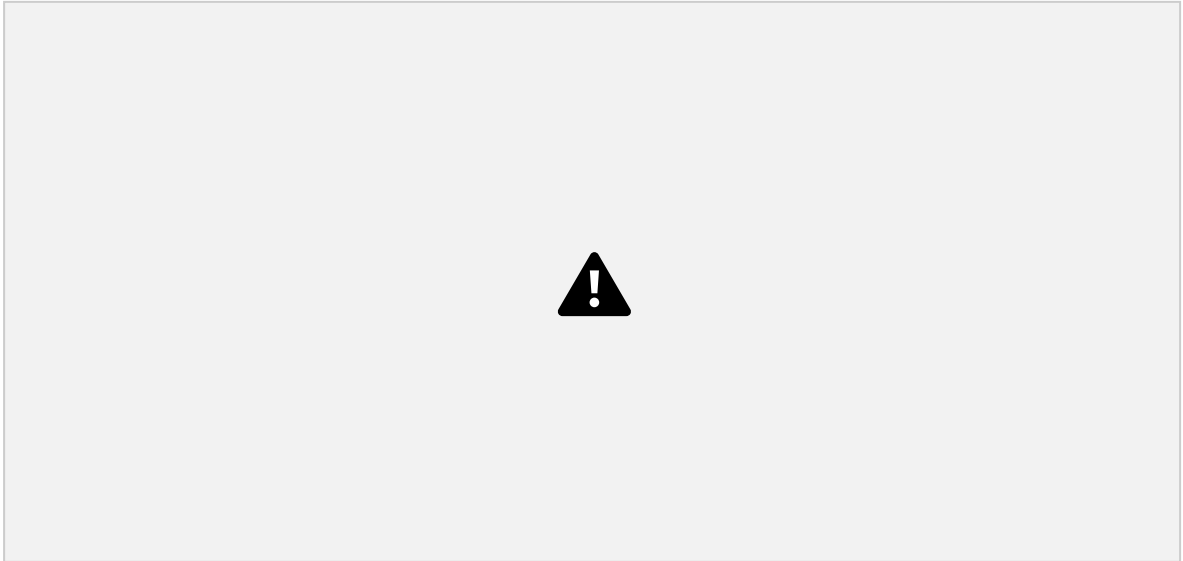


Figura 10. Microestructura de almidón de maíz (1250 X). El porcentaje indica el contenido de pectina añadido.

En las micrografías se observó que a medida que se aumentó el contenido de pectina, se conserva una mayor integridad de los gránulos de almidón (Figura 7, círculos azules, magentas y verdes). Además, se observa una fase que recubre a los gránulos de almidón (flecha roja), dicho efecto puede ser causado por la interacción entre el almidón gelatinizado y la pectina, lo que indicaría que la pectina puede actuar como protector para evitar la gelatinización total del almidón.

6.4.2 Difracción de rayos X

En la Figura 11 se muestra el patrón de difracción de rayos X del almidón nativo (línea negra), extrudido (línea roja), complejo con pectina 2% (línea azul), complejo con pectina 5% (línea magenta) y complejo con pectina 7% (línea verde), así como de la pectina (línea gris) correspondiente al HPZ 1 y HPal 1. Las muestras nativas de ambos almidones mostraron un patrón de rayos X correspondiente a una estructura ortorrómbica, también llamada del tipo A, característico de los almidones provenientes de cereales. Este tipo de estructura tiene picos indexados correspondientes al ángulo 2θ : 15° , 17° , 18° , 20° y 23° , los cuales corresponden al plano hkl : (200), (031), (211), (040) y (231) respectivamente (Rodríguez-García et al., 2021).

Tras el proceso de extrusión se observó que los picos correspondientes al ángulo 2θ : 15° , 17° , 18° y 23° disminuyeron su intensidad en comparación con las muestras nativas, este comportamiento puede indicar una pérdida de cristalinidad debido al tratamiento termomecánico al que fueron sometidas las muestras (Cervantes

Ramírez et al., 2020). Por otro lado, en el pico correspondiente al ángulo 2θ 20° se observó un incremento de intensidad, dicho pico ha sido asociado al almidón gelatinizado-retrogradado (Morales-Sánchez et al., 2021), que corresponde a los cambios que sufre el almidón al ser sometido al proceso de extrusión.

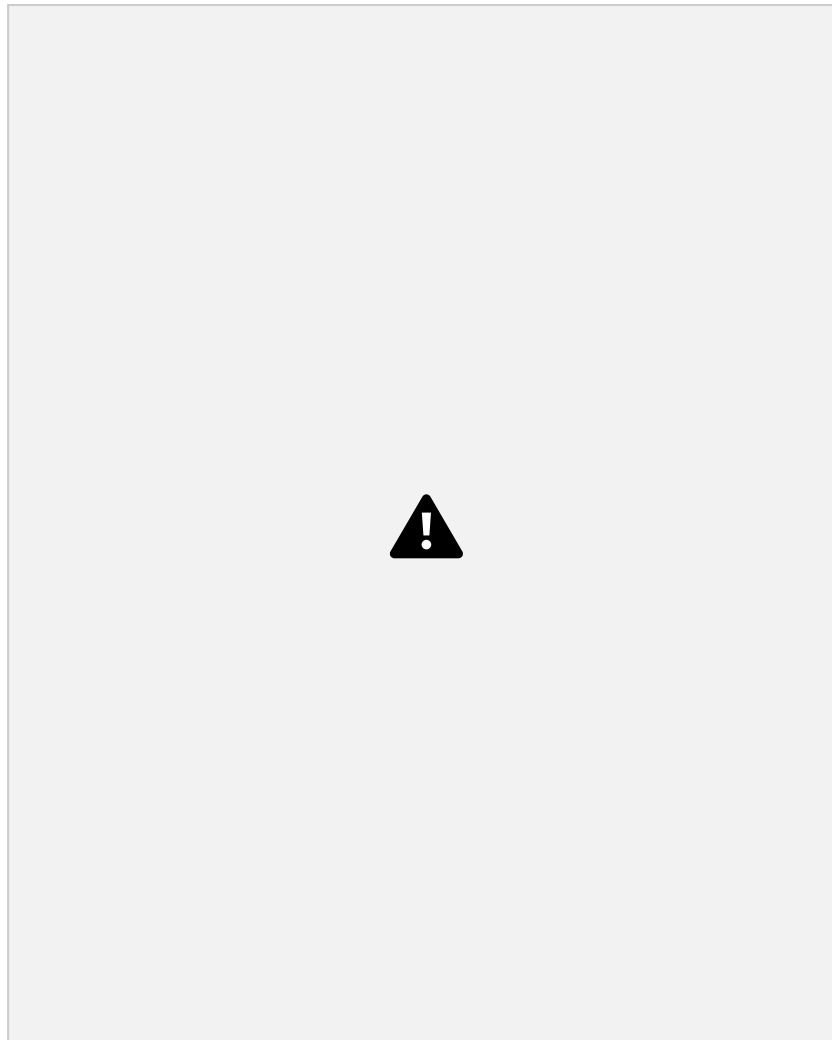


Figura 11. Patrón de difracción de rayos X de: a) almidón proveniente de maíz pozolero (HPZ 1) y b) almidón proveniente de maíz palomero (HPal 1).

El comportamiento observado en las muestras extrudidas sin pectina, así como las muestras de ambos almidones con pectina añadida (2, 5 y 7%) fue similar. En donde la disminución en cuanto a la intensidad de los picos correspondientes al ángulo 2θ 15° , 17° , 18° y 23° se puede asociar con la pérdida de cristalinidad del almidón debido a la gelatinización parcial de los gránulos de almidón por la combinación del estrés mecánico, la presión y la temperatura a la cual fueron sometidos durante el proceso termomecánico. En las muestras con 5% de pectina (línea magenta) se observó un ligero desplazamiento hacia la derecha de los picos correspondientes al ángulo 2θ : 15° y 18° . Dicho desplazamiento indica una modificación en la distancia interplanar, es decir, el tamaño del cristal disminuye (Cervantes-Ramírez et al., 2020). Sin embargo, a pesar de este desplazamiento y la disminución de la intensidad en los picos, el patrón ortorrómbico se mantiene tras ser sometido a la extrusión y tras adicionar pectina, lo que indicaría que la estructura cristalina de este polisacárido se preserva. Los resultados de rayos X se relacionan con lo observado en las micrografías de SEM, en donde se observan gránulos de almidón intactos después del tratamiento termomecánico (Figura 10), lo cual puede ser atribuido a un efecto protector de la pectina ante la extrusión de los gránulos de almidón.

Por otro lado, el patrón de rayos X de la pectina utilizada mostró picos definidos en los ángulos 2θ : 9° , 18.2° , 20.5° y 28.15° . Estos picos no se encuentran indexados o pertenecen a una estructura específica, sin embargo, al ser definidos podrían indicar un comportamiento cristalino de este hidrocólide, además, dichos resultados corresponden a lo reportado por Carbinatto et al. (2012) y Mishra et al. (2008) para pectina de bajo grado de metil esterificación.

6.4.3 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

En la Figura 12 se presentan los espectros FTIR de los almidones HPZ 1 y HPal 1

nativos (línea negra), extrudidos (línea roja), complejo almidón-pectina 2% (línea azul), complejo almidón-pectina 5% (línea magenta), complejo almidón-pectina 7% (línea verde) y pectina de bajo grado de metil esterificación (gris).

46

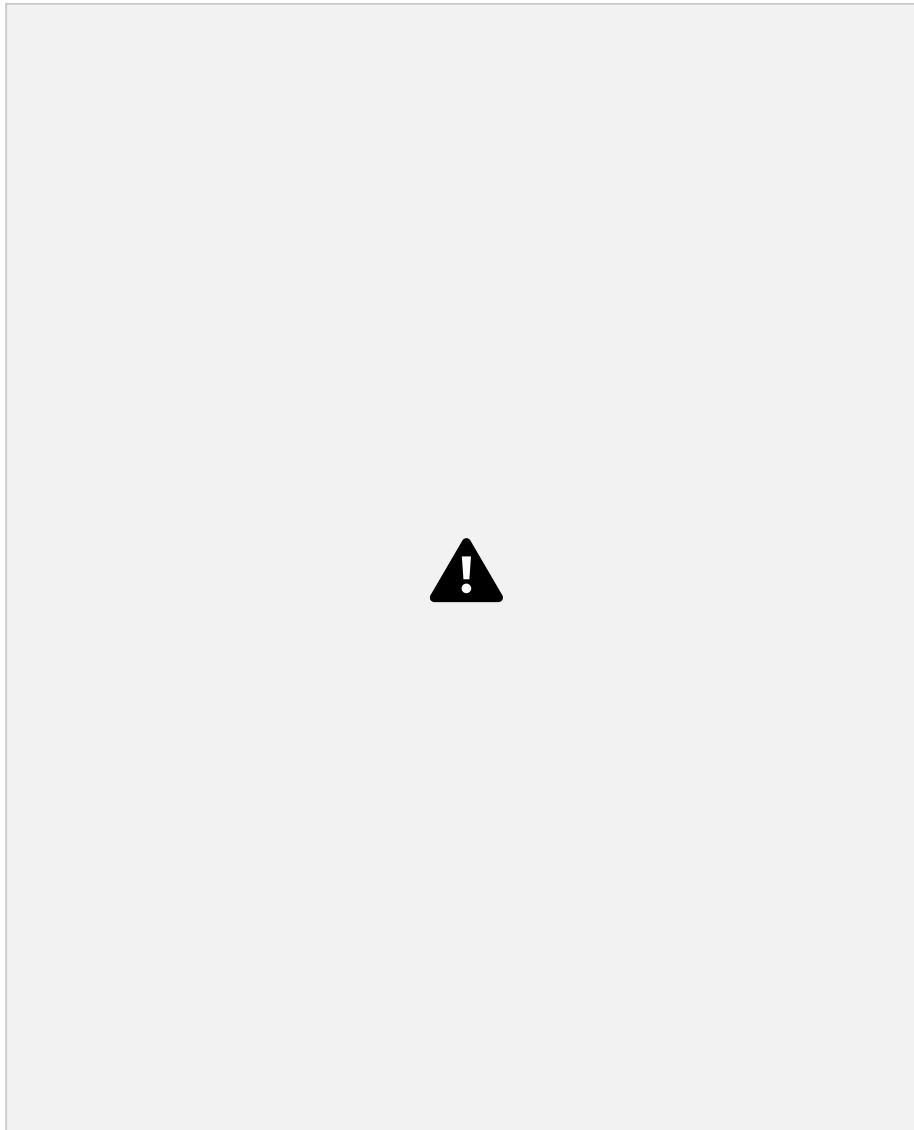


Figura 12. Espectro FTIR de almidón proveniente de: a) maíz pozolero (HPZ-1) y b) maíz palomero (HPal-1). n: almidón nativo; e: almidón extrudido; 2: complejos almidón-pectina al 2%; 5: complejos almidón-pectina al 5%; 7: complejos almidón pectina al 7%.

Todas las muestras de almidón (identificadas con líneas punteadas y letras) y la pectina (identificadas con líneas discontinuas y números) presentaron las bandas características de cada carbohidrato.

En las muestras de almidón nativo la banda a 3300 cm^{-1} [a] corresponde a los grupos hidroxilos presentes en el carbohidrato, específicamente al estiramiento O-

47

H. Por otro lado, la banda de 2927 cm^{-1} [b] se asocia con el estiramiento asimétrico del grupo C-H (López-Silva et al., 2019). La banda a 1637 cm^{-1} [c] se atribuye a la vibración de las moléculas de agua adsorbida, mientras que la banda a 1336 cm^{-1} [d] corresponde a la vibración del grupo $-\text{CH}_2$ (Xiong et al., 2017). La banda de 1150 cm^{-1} [f] corresponde al estiramiento del grupo C-O-H (Warren et al., 2016). La huella digital del almidón se encuentra en la zona de 1100 a 900 cm^{-1} , en donde la banda a 1022 cm^{-1} es asociada con la región amorfa del almidón, mientras que la banda a 1047 cm^{-1} con la región cristalina del carbohidrato (Cervantes-Ramírez et al., 2020). Finalmente, las bandas a 997 cm^{-1} [g] y 927 cm^{-1} [h] se identificaron como los enlaces hidrógeno de la unidad de glucosa anhidra y las vibraciones del enlace α

1,4 glucósido (C-O-C) (Xiong et al., 2017).

Por otro lado, en la muestra de pectina se observó la banda a 1745 cm^{-1} [1], que se identificó como la vibración del grupo carboxílico metil esterificado (COO-R). A 1243 cm^{-1} [2] y 1100 cm^{-1} [3] se observaron las bandas correspondientes al estiramiento de C-O. La banda a 1019 cm^{-1} [4] corresponde al estiramiento de C-C. Finalmente, la banda a 960 cm^{-1} [5] se atribuye a la unión C-O (Xiong et al., 2017).

En los espectros de las muestras de almidón con pectina añadida predomina el comportamiento del almidón, además de que no se identificaron la formación de nuevas bandas o desplazamientos de éstas que se esperaban como resultado de la interacción entre ambos carbohidratos. Esto puede atribuirse a dos factores; el primero es el que sugiere que los enlaces que se forman entre el almidón y la pectina no son covalentes, sino que la interacción entre ambos se lleva a cabo a través de puentes de hidrógeno (Dangi et al., 2020), además de que el contenido

de pectina fue muy bajo en comparación con el almidón para que la técnica detectara las interacciones entre ambos, sin embargo, los porcentajes de pectina se decidieron de acuerdo a lo reportado en literatura (Zhang et al., 2018), además, de que un alto porcentaje de pectina en la muestra de almidón podría generar dificultades en el paso de éste a través del extrusor. Por otro lado, el alto contenido de glucosa en la

48

pectina (Cuadro 3) pudo producir un enmascaramiento del efecto del hidrocoloide en el almidón.

6.4.4 Propiedades térmicas

La Figura 13 muestra los termogramas de los almidones HPZ 1 y HPal 1 respectivamente. El almidón nativo (línea negra) mostró una endoterma que se asocia a la gelatinización del almidón (65-75.41 °C) con una temperatura pico (T_p) de 70.25 °C en HPZ 1, mientras que en HPal 1 el rango fue de 63.16 °C a 74.76 °C, con una T_p de 69.25 °C, dichas temperaturas corresponden a lo reportado en literatura para el proceso de gelatinización del almidón de maíz (Cervantes-Ramírez et al., 2020; Morales-Sánchez et al., 2021). HPal 1 presentó un mayor rango de temperatura de gelatinización (ΔT 11.6 °C) respecto a HPZ 1 (ΔT 10.09°C). Las diferencias pueden atribuirse a las características físicas de los gránulos de almidón, ya que se ha reportado una correlación negativa entre el tamaño del gránulo de almidón y el rango de gelatinización, debido a que los gránulos de almidón pequeños provenientes de granos de maíz de alta dureza, al tener cristales más perfectos, tienen un proceso de gelatinización más lento (Narváez-González et al., 2007), como se observó en los resultados. Además, el contenido de amilosa en los almidones tiene un efecto en las propiedades térmicas, ya que un alto porcentaje de amilosa en el almidón aumenta las temperaturas de gelatinización (Xie et al., 2020). En este sentido, el almidón HPZ 1 nativo (Figura 13a) fue el que mostró un mayor porcentaje de amilosa (Cuadro 2), el cual presenta una mayor temperatura de gelatinización respecto con el

almidón HPal 1 (Figura 13b).

La entalpía de gelatinización (ΔH) de HPZ 1 fue mayor (10.53 J/g) respecto con HPal 1 (9.63 J/g). La entalpía representa la cantidad de energía necesaria para llevar a cabo una reacción, en este caso para llevar a cabo la gelatinización del almidón. En este sentido, HPZ 1 necesitó mayor energía para gelatinizar sus gránulos de almidón, lo que podría asociarse a que este almidón presenta mayor orden estructural en comparación con HPal 1 (Morales-Sánchez et al., 2021). Además, se ha reportado una correlación positiva entre el tamaño del gránulo y la

49

entalpía de gelatinización, sugiriendo que los granos suaves gelatinizan antes y tienen entalpías mayores en comparación con los granos pequeños (Narváez González et al., 2007).

En los almidones extrudidos (línea roja) de ambos almidones se observó un desplazamiento hacia la derecha de la endoterma de gelatinización, es decir, mayores temperaturas respecto con el almidón nativo. Dicho aumento podría atribuirse a la formación de un material térmicamente más estable, ya que requiere mayor temperatura para mostrar un cambio de fase (Figura 13). Tanto ΔH de HPZ 1 (5.39 J/g) como de HPal 1 (4.78 J/g) disminuyeron en comparación con el almidón nativo indicando que el tratamiento de extrusión al cual fueron sometidos provoca gelatinización parcial de los gránulos de almidón (Cervantes-Ramírez et al., 2020).

Almidones extrudidos de ambas fuentes mostraron una segunda endoterma a bajas temperaturas (39 °C a 61 °C) con una ΔH entre 0.3 J/g a 1.3 J/g, esta endoterma se observó independientemente si tenían pectina añadida o no, lo cual puede asociarse a la des-ramificación de la amilopectina debido al cizallamiento que se presenta en el proceso de extrusión (Morales-Sánchez et al., 2021).

La adición de pectina al almidón de maíz aumentó las temperaturas de gelatinización (Figura 13), se observó en HPZ 1 que a medida que aumentaba el

porcentaje de pectina añadido aumentaba la temperatura inicial de gelatinización (T_0) de 69.92 °C (HPZ1-2) a 70.61 °C (HPZ1-7). Por otro lado, en el almidón HPal 1 no se observó una tendencia en las temperaturas de gelatinización al aumentar el porcentaje de pectina. El aumento en la temperatura de gelatinización de los almidones con pectina en comparación con los almidones nativos y extrudidos puede asociarse a la formación de un material térmicamente más estable al interactuar las cadenas laterales de la pectina con el almidón a través de puentes de hidrógeno (Zheng et al., 2021). Por otro lado, la pectina pudo haber competido con el almidón por la captación de agua y por ende disminuir la relación almidón/agua, lo que retrasó la gelatinización del mismo (Dangi et al., 2020).

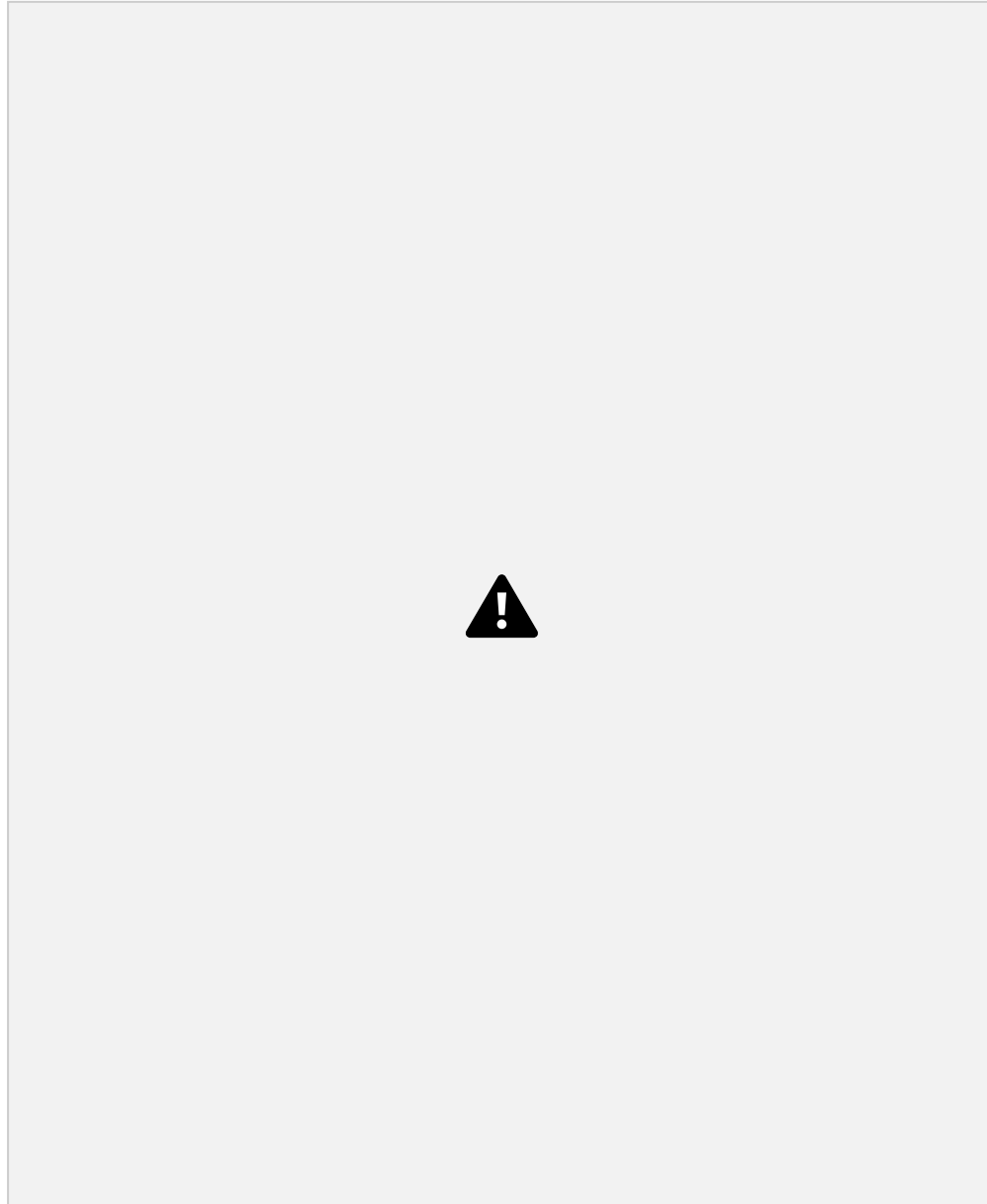


Figura 13. Termograma de almidón proveniente de: a) maíz pozolero (HPZ-1) y b) maíz palomero (HPal-1). n: nativo; e: extrudido; 2: 2% pectina añadida; 5: 5% pectina añadida; 7: 7% pectina añadida.

Uno de los factores que debe considerarse es el alto contenido de glucosa presente en la pectina. De acuerdo con la literatura, altas concentraciones de azúcares (relación almidón:azúcar 1:2), en principio los disacáridos seguidos de los monosacáridos, pueden reducir la cantidad de agua disponible en la matriz, por lo tanto, disminuye la movilidad de las cadenas del almidón, lo que inhibe la

gelatinización (Zhang et al., 2013). En este sentido, el contenido de glucosa presente en la pectina (Cuadro 3) pudo competir con el almidón por el agua, actuando junto con la pectina como protector del almidón ante el proceso de gelatinización.

Se observó una disminución de la ΔH en muestras con pectina en comparación con los almidones nativos y extrudidos, e independientemente del origen del almidón, se presentó una disminución de este factor a medida que aumentaba el porcentaje de pectina añadida, observándose un rango de ΔH para HPZ 1 de 4.99 J/g (2% pectina) a 4.29 J/g (7% pectina), mientras que en HPal 1 se observó un rango de ΔH de 3.47 J/g (2% pectina) a 3.25 J/g (7% pectina). Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado en literatura (Dangi et al., 2020; Zheng et al., 2021), en donde la disminución de la entalpía al añadir hidrocoloides, como la pectina, se asocia a una modificación que se produce en el almidón gelatinizado al interactuar con pectina.

6.4.5 Propiedades de pasta

Las Figura 14 a y b muestran los perfiles de viscosidad de los almidones nativos, extrudidos y de los complejos almidón-pectina provenientes de las variedades de maíz HPZ 1 y HPal 1, respectivamente. Se observó que ambos almidones nativos (líneas negras) fueron los que presentaron mayor viscosidad máxima (V_{max}) en comparación con el resto de las muestras. El almidón nativo HPZ1 presentó diferencias significativas en el parámetro de V_{max} en comparación con el almidón HPal 1 (HPZ1: 4858 ± 44.5 cP y HPal 1: 5628.5 ± 105 cP). Dichas diferencias se pueden asociar con la relación amilosa:amilopectina en el almidón. Se ha reportado una correlación negativa entre el contenido de amilosa y la viscosidad máxima del almidón (Karakelle et al., 2020). En este sentido, el almidón HPal 1, presentó menor contenido de amilosa (Cuadro 2) tuvo un mayor pico de viscosidad en comparación con el almidón HPZ 1 (Figura 14 a y b, línea negra), esto se debe a que el hinchamiento del almidón es dependiente del contenido de amilopectina, mientras

que la cadena lineal del almidón, es decir, la amilosa, puede actuar como inhibidor del hinchamiento (Karakelle et al., 2020).

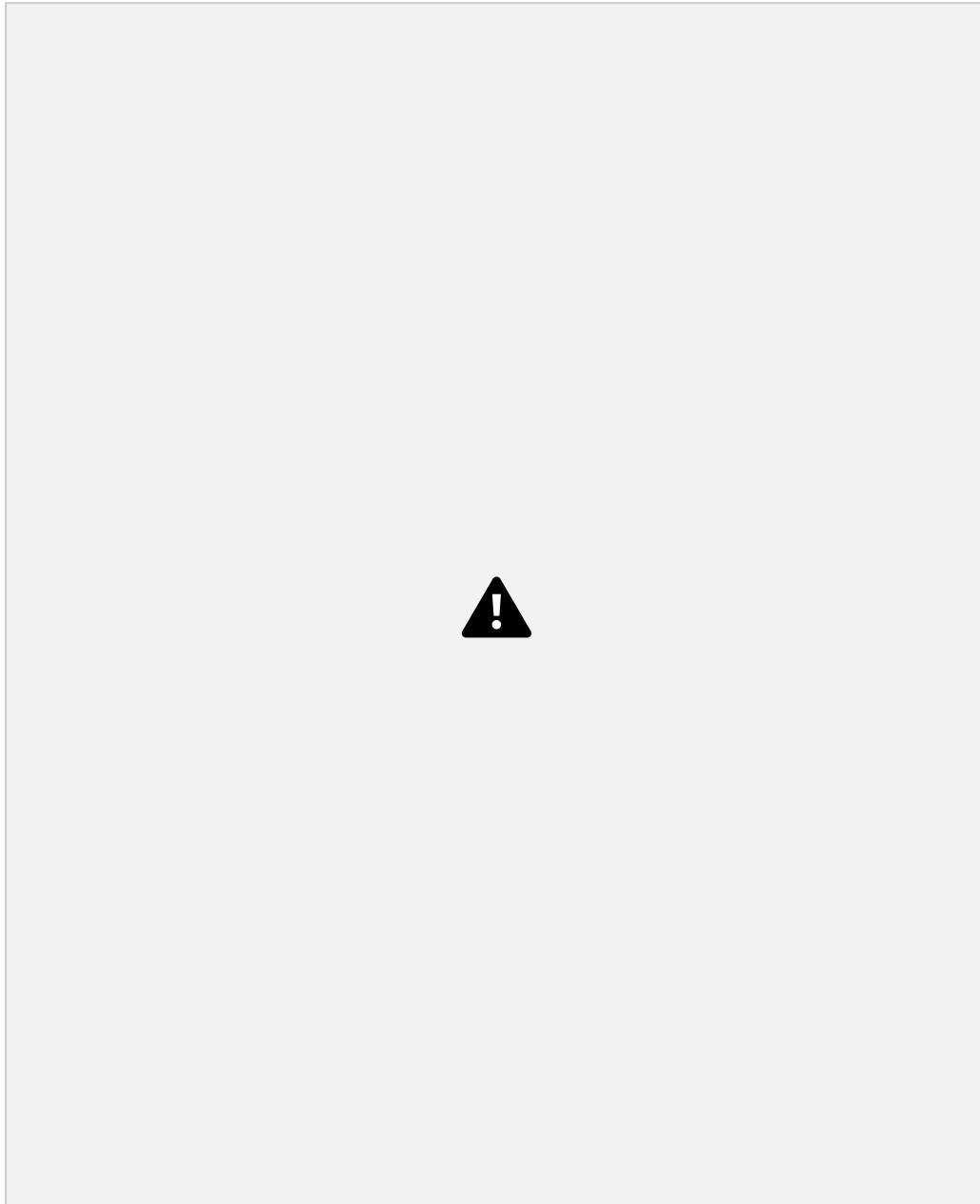


Figura 14. Viscoamilograma de almidón proveniente de: a) maíz pozolero (HPZ 1), b) maíz palomero (HPal 1) y c) pectina. n: nativo; e: extrudido; 2: 2% pectina añadida; 5: 5% pectina añadida; 7: 7% pectina añadida.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en las temperaturas de pasta (TP) de ambos almidones nativos (HPZ: 71.53 ± 0.1 °C y

53

HPal 1: 71.72 ± 0.20 °C), dichas temperaturas son similares a lo reportado en literatura para almidón de maíz (Narváez-González et al., 2006).

Una vez que todos los gránulos se disrumpan disminuye la viscosidad de la muestra hasta llegar a una viscosidad mínima (V_{min}). La diferencia entre la V_{max} y V_{min} se le conoce como viscosidad de ruptura (V_{rup}) y se relaciona con la estabilidad del material ante calentamiento y estrés mecánico (Dangi et al., 2020). El almidón HPal 1 tuvo una mayor V_{rup} en comparación con el almidón HPZ 1, siendo diferentes estadísticamente ($p < 0.05$). Por lo tanto, HPal 1 demostró ser un material más estable ante un calentamiento. Al disminuir la temperatura se observa un aumento en la viscosidad de las muestras (Figura 14a y b). Además, no se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ambos almidones nativos en el parámetro de viscosidad final (V_f). Por otro lado, la viscosidad de retroceso (V_{ret}) se asocia con la retrogradación que pueden presentar las muestras, dicho parámetro se obtiene a partir de las diferencias entre la V_f y V_{min} . El almidón HPZ 1 mostró una mayor V_{ret} en comparación con el almidón HPal 1, siendo estadísticamente diferentes ($p < 0.05$), dichos resultados pueden atribuirse al contenido de amilosa, el almidón HPZ 1 al tener un mayor contenido de amilosa (Cuadro 2) tiende a retrogradar más fácilmente que el almidón HPal 1.

Las muestras extrudidas (Figura 14, líneas rojas) tuvieron una menor V_{max} y V_f en comparación con las muestras nativas ($p < 0.05$), lo que se atribuye al tratamiento termomecánico al cual fueron sometidas las muestras durante el proceso de extrusión, que provocó una gelatinización parcial de los gránulos de almidón como se observó en las propiedades térmicas, resultados similares observó Cervantes Ramírez et al. (2020) en almidones de maíz extrudidos. En ambos almidones se presenta un aumento en TP de 1 °C, siendo diferentes significativamente con las muestras nativas. Dicho aumento, indica que se requiere mayor temperatura para

gelatinizar a los gránulos de almidón que no sufrieron daño durante la extrusión.

La V_{rup} y V_{ret} de los almidones extrudidos disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) comparados con los nativos. Lo anterior indica que al someter el almidón

54

a extrusión presenta mayor estabilidad al estrés mecánico en altas temperatura y, además, tiende a presentar menor retrogradación al disminuir la temperatura (Dangi et al., 2020).

La adición de pectina durante la extrusión de los almidones produjo un aumento en sus propiedades de pasta, mismo que aumenta respecto con el contenido de pectina en comparación con las muestras extrudidas (Figura 14, líneas azules, rosas y verdes). Los almidones HPZ 1 mostraron un aumento de su V_{max} a medida que se aumentaba la concentración de pectina, llegando a 4296.5 ± 85.5 cP con 7% de pectina, mientras que en HPal 1 se observó una V_{max} de 3275 ± 13.4 cP con 7% de pectina. Se observó en el perfil de viscosidad de la pectina (Figura 14 c) que, al aumentar la temperatura y el cizallamiento, la viscosidad del hidrocoloide disminuye, por lo que el aumento de la viscosidad en las muestras de almidón con pectina (Figura 14 a y b) se puede atribuir a una posible interacción entre ambos carbohidratos y no por la viscosidad propia de la pectina. Sin embargo, a pesar del aumento de V_{max} respecto con la concentración de pectina, ésta fue inferior a lo observado en almidones nativos. Dichos resultados pueden atribuirse a la competencia por el agua entre la pectina y el gránulo de almidón, que puede ser causado por el recubrimiento de los gránulos de almidón por el hidrocoloide, como se observó en las micrografías de SEM (Figura 10), por lo que el almidón no puede conseguir un máximo en su hinchamiento. Así mismo, el contenido de glucosa presente en la pectina puede tener un efecto en las propiedades de pasta del almidón, debido a que reduce el agua disponible para reaccionar con el almidón, por lo tanto, disminuye el grado de gelatinización de éste.

Almidones HPZ 1 con pectina (Figura 14 a) mostraron un perfil de viscosidad

similar al nativo a medida que la concentración de pectina aumenta, lo que podría estar indicando que la pectina presenta un efecto protector sobre el gránulo de almidón durante el proceso de extrusión, es decir, se causa una menor gelatinización del almidón, lo que explicaría su aumento de V_{max} en comparación con la muestra extrudida sin adición de pectina.

55

Por otro lado, los almidones HPal 1 extrudidos con y sin pectina (Figura 14 b) presentaron un pequeño hombro antes de su V_{max} , el cual se atribuye a la amilopectina des-ramificada producida durante el proceso de extrusión (Cervantes Ramírez et al., 2020). Dichos resultados se relacionan con las propiedades térmicas de las muestras, en donde se observó una endoterma antes de la temperatura de gelatinización del almidón.

La temperatura de pasta del almidón HPZ 1 con 2% de pectina fue más baja, siendo estadísticamente diferente a las muestras con mayor porcentaje de pectina (5 y 7%) (Figura 14a). En tanto, en el almidón HPal 1 no se encontraron diferencias significativas entre las temperaturas de pasta independientemente de la concentración de pectina añadida (Figura 14 b). Dichos resultados indican que el material requiere la misma temperatura para iniciar el proceso de hinchamiento a pesar del aumento de pectina en la muestra.

Finalmente, los almidones extrudidos con pectina mostraron una disminución significativa ($p < 0.05$) en V_{rup} , V_{ret} y V_f en comparación con ambos almidones nativos, resultados similares con la adición de pectina nativa y pectina hidrolizada en almidón de cebada han sido reportados (Dangi et al., 2020). En el caso de HPZ 1, las muestra con 2 y 5% de pectina añadida mostraron menores V_{rup} (Figura 14a), lo que indicaría que son más estables. En tanto, en las muestras de HPal 1 no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con diferentes concentraciones de pectina, por lo que se pueden considerar estables. Almidones extrudidos con pectina mostraron menor V_{ret} en comparación con

almidones nativos ($p < 0.05$), en HPZ 1, muestras con 2 y 5% de pectina mostraron menor Vret, mientras que en HPal 1, no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las tres concentraciones de pectina. Dicha disminución de Vret se puede atribuir a la interacción entre la pectina y la amilosa lixiviada del gránulo de almidón, reduciendo las asociaciones entre cadenas de amilosa al disminuir la temperatura, así mismo, la pectina, al recubrir los gránulos de almidón, puede restringir la salida de amilosa,

56

por lo que al disminuir las cadenas de amilosa lixiviada se disminuye su reasociación, y, por lo tanto, su retrogradación (Dangi et al., 2020; Ma et al., 2019b).

6.4.6 Sinéresis del sistema almidón-pectina

La Figura 15 representa el porcentaje de sinéresis del almidón nativo, extrudido y de los complejos almidón-pectina de ambos almidones estudiados. En el almidón HPZ 1 se observó un aumento significativo ($p < 0.05$) en la sinéresis proporcional a los ciclos de congelación-descongelación en las muestras nativas (Figura 15 a, círculo negro), observándose el mayor porcentaje de sinéresis al día 15 (6.2 ± 1.3 % de sinéresis). Por otro lado, el almidón nativo HPal 1 no presentó diferencias significativas al paso del tiempo, teniendo 0.9 ± 0.56 % de sinéresis en el día 15. Las diferencias entre ambos almidones se pueden atribuir al contenido de amilosa. El almidón HPZ 1 al tener mayor contenido de amilosa (Cuadro 2) que HPal 1, presentó mayor retrogradación (Figura 14 a), lo que se relaciona con una menor retención de agua y por lo tanto presentó valores mayores de sinéresis.

Las muestras extrudidas presentaron un aumento de sinéresis en comparación con el almidón nativo, sin embargo, esta diferencia no fue significativa. Lo anterior se pueden atribuir a que el proceso termomecánico aplicado al almidón, provocó que la amilopectina se des-ramificara y, por lo tanto, el contenido de amilosa aparente aumentó, teniendo como resultado una menor retención de agua en el almidón.

Finalmente, en los complejos almidón-pectina de ambos almidones, si bien, se observó un incremento de sinéresis con el paso del tiempo de almacenamiento en congelación, éste no fue significativo comparado con las muestras nativas y extrudidas, lo que indicaría que en los resultados de sinéresis dominó el efecto del almidón.

57

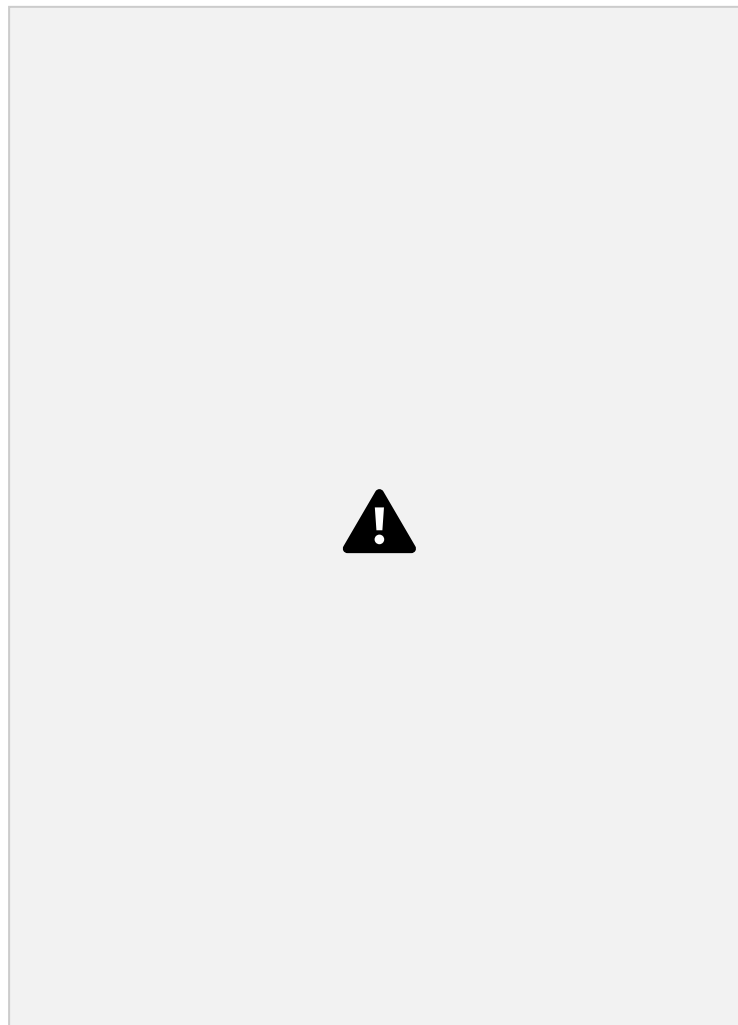


Figura 15. Sinéresis de almidón proveniente de: a) maíz pozolero (HPZ 1) y b)

maíz palomero (HPal 1). n: nativo; e: extrudido; 2: 2% pectina añadida; 5: 5% pectina añadida; 7: 7% pectina añadida.

En el almidón HPal 1 se observa que el porcentaje de sinéresis disminuye al aumentar el contenido de pectina, dichos resultados podrían atribuirse al contenido de glucosa presente en la pectina (Cuadro 3) que actúa como crioprotector dentro de la matriz, disminuyendo así la sinéresis del almidón. Resultados similares fueron reportados por Hedayati et al. (2016).

6.4.7 Índice de absorción y solubilidad en agua

La Figura 16 representa el índice de absorción de agua (IAA) correspondiente al almidón HPZ 1 (a) y el almidón HPal 1 (b). Las muestras nativas de ambos

58

almidones (Figura 16, círculos negros) no presentaron diferencias significativas a bajas temperaturas (30 °C y 60 °C). Los resultados obtenidos corresponden con lo reportado por Morales-Sánchez et al. (2021) para almidón de maíz nativo. Valores bajos de IAA en almidones nativos se atribuyen a la estructura que presenta el gránulo de almidón, que tiene pocos grupos hidrofílicos disponibles para interactuar con el agua y formar geles. Por otro lado, altas temperaturas (90 °C) se observó que el IAA de los almidones nativos se duplicó, observándose un 10 % en HPZ 1 y en HPal 1, dicho aumento se atribuye al proceso de gelatinización del almidón.

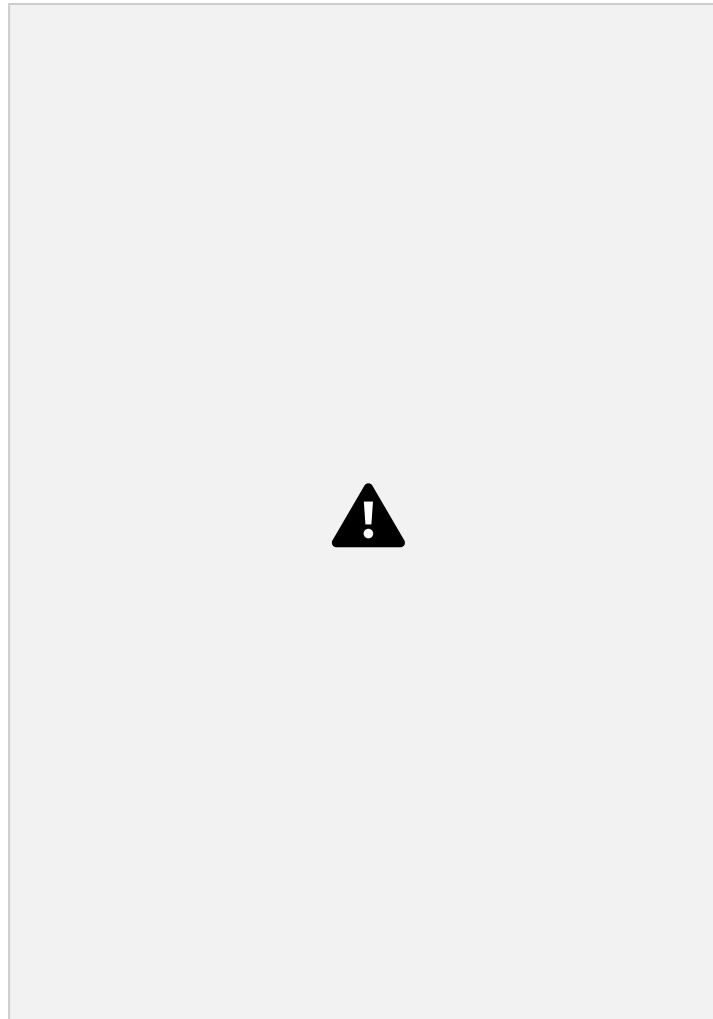


Figura 16. Índice de absorción de agua de almidón proveniente de: a) maíz pozolero (HPZ 1) y b) maíz palomero (HPal 1). n: nativo; e: extrudido; 2: 2% pectina añadida; 5: 5% pectina añadida; 7: 7% pectina añadida.

Por otro lado, las muestras extrudidas de ambos almidones (Figura 16, cuadros rojos), presentaron un mayor IAA en comparación con las muestras nativas en las tres temperaturas aplicadas, siendo estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) entre muestras y tratamientos. Dichos resultados se atribuyen al proceso termomecánico, el cual produjo una pre-gelatinización de los gránulos de almidón (Morales-Sánchez et al., 2021), la cual permitió una mayor absorción de agua debido a una mayor disponibilidad de grupo hidrofílicos en el gránulo de almidón.

Finalmente, en las muestras con pectina, se observó un mayor IAA que el almidón nativo, dicho efecto se atribuye al proceso de extrusión. Además, a medida que aumenta el contenido de pectina en el almidón se observó un incremento en el IAA en las tres temperaturas analizadas, estos resultados pueden atribuirse al carácter hidrofílico que tiene la pectina (Naqash et al., 2017), la cual permitió una mayor absorción de agua en las muestras.

La Figura 17 representa el índice de solubilidad del almidón (ISA) del almidón HPZ 1 (a) HPal 1 (b). El ISA indica la cantidad de sólidos disueltos en agua de la muestra (Neder-Suárez et al., 2018). En este caso, ambos almidones nativos fueron los que tuvieron los valores más bajos de ISA en comparación con el resto de las muestras, siendo estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). En el almidón HPal 1 nativo (Figura 17b, círculos negros) se observó que a temperaturas superiores de 60 °C se incrementó el porcentaje de sólidos solubles en la muestra, dichos resultados corresponden con lo observado en propiedades térmicas (Figura 13), en donde dicho almidón presentó menor temperatura para gelatinizar en comparación con el almidón nativo HPZ 1, el cuál necesitó de mayor temperatura (90 °C) para el proceso de gelatinización.

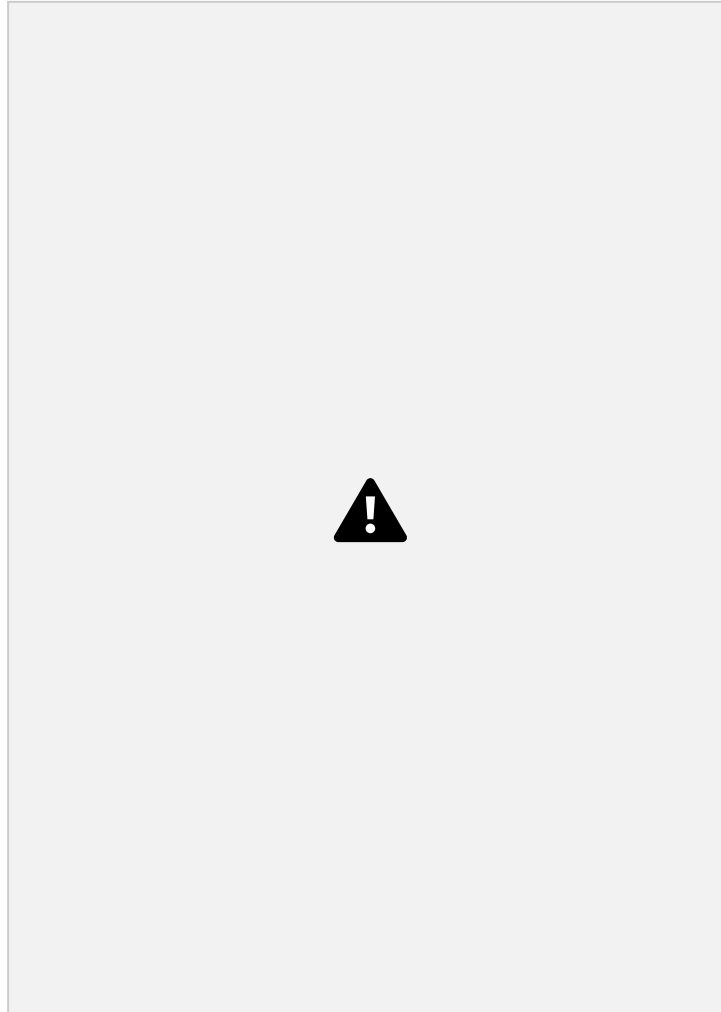


Figura 17. Índice de solubilidad en agua de almidón proveniente de: a) maíz pozolero (HPZ 1) y b) maíz palomero (HPal 1). n: nativo; e: extrudido; 2: 2% pectina añadida; 5: 5% pectina añadida; 7: 7% pectina añadida. Las muestras extrudidas con y sin pectina, fueron significativamente diferentes a las muestras de almidón nativo ($p < 0.05$), ya que mostraron un mayor porcentaje de ISA, lo cual se atribuye al daño causado por la combinación de temperatura y cizallamiento durante la extrusión de las muestras (Morales-Sánchez et al., 2021). El aumento en la concentración de la pectina provocó un mayor porcentaje de sólidos solubles debido a que a altas temperaturas la pectina puede ser soluble en agua (Naqash et al., 2017). Además, este aumento se puede atribuir al contenido

de glucosa presente en la pectina añadida, que al tener un azúcar soluble en agua aumenta el porcentaje de sólidos solubles en la muestra.

6.5. Modelo de digestión *in vitro* con extracto de intestino delgado de rata (EIDR)

Además del almidón nativo y extrudido, la muestra que se seleccionó para ser sometida a la digestión *in vitro* fue el almidón HPZ 1 con 7% de pectina. La elección de esta muestra se explica principalmente por las propiedades fisicoquímicas observadas, ya que fue la muestra con mayor temperatura de gelatinización (Figura 13), y por ende con mayor temperatura de pasta (Figura 14), dichos resultados indicarían una posible interacción entre ambos carbohidratos (pectina y almidón). Además, se ha reportado que almidones con mayor contenido de amilosa son menos susceptibles a la digestión que almidones con mayor contenido de amilopectina, debido a que la amilopectina contiene mayor número de puentes de hidrógenos intramoleculares que la amilosa (Yang et al., 2022). En este sentido, el almidón con mayor contenido de amilosa fue el HPZ 1, lo que robustece su elección.

6.5.1 Caracterización del extracto de intestino delgado de rata

(EIDR) 6.5.1.1 Contenido de proteína y actividad enzimática del EIDR

En el Cuadro 4 se presentan las actividades enzimáticas específicas del extracto de intestino delgado de rata (EIDR). Se evaluó la actividad enzimática específica de amilasa/glucosidasa, sacarasa, maltasa y pectinasa.

Cuadro 4. Actividades enzimáticas específicas y contenido de proteína* del extracto de intestino delgado de rata (EIDR).

Actividad Sustrato U (µmoles/min g proteína) Amilasa/glucosidasa

Almidón 1678 ± 127 Sacarasa Sacarosa 1431 ± 476 Maltasa Maltosa 306.98 ± 0.36 Pectinasa Pectina ND

*El contenido de proteína del extracto de intestino delgado de rata (EIDR) fue de 1.475 ± 0.29 %. Los resultados se expresan como la media ± DE. ND: no detectable.

El complejo enzimático amilasa-glucosidasa tuvo mayor actividad enzimática, seguido de la sacarasa y la maltasa, en contraste, no fue detectada la actividad enzimática de la pectinasa, lo que indicaría que no hay presencia de dicha enzima en el EIDR. Los datos obtenidos concuerdan con lo reportado por Ferreira-Lazarte et al. (2017), en donde hay una gran diferencia entre la actividad de sacarasa y maltasa del EIDR.

La enzima de mayor interés durante el estudio es la α -amilasa, además de ser la predominante en el EIDR, es asociada a la hidrólisis del almidón, su acción no selectiva y aleatoria hidroliza los enlaces α -(1-4) de la amilosa y de la amilopectina, produciendo maltosas, maltotriosas, dextrinas limitantes (proveniente de la amilopectina) y llegar hasta la unidad básica del almidón, la glucosa (Tomasik y Horton, 2012).

6.5.1 Digestión *in vitro* de la muestra HPZ 1

En la Figura 18 se presenta la cinética de degradación del almidón de maíz HPZ 1 nativo (barra negra), extrudido (barra roja) y con 7% de pectina (barra verde) tras una digestión con extracto del intestino delgado de rata. La hidrólisis del sustrato se siguió y cuantificó a través de cromatografía de gases (CG).

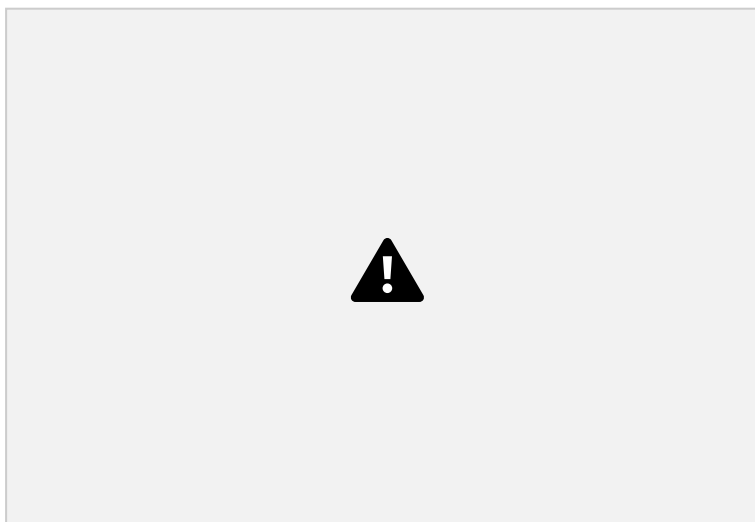


Figura 18. Cinética de degradación durante la digestión de almidón de maíz HPZ,

n: nativo, e: extrudido, 7: 7% pectina añadida. Letras mayúsculas indican

63

diferencias entre los tiempos de una misma muestra, letras minúsculas indican diferencias entre todos los tratamientos.

Las tres muestras presentaron una mayor liberación de glucosa en el minuto 60. La muestra nativa mostró una mayor hidrólisis durante de la digestión (507.6 ± 45.1 mg) en comparación con la muestra extrudida (379.7 ± 16.9 mg) y el complejo (391.2 ± 79.9 mg). Un comportamiento similar se observó hasta el término de la digestión (120 minutos). Dicha diferencia se puede atribuir al tratamiento de las muestras, ya que, en la muestra nativa, el almidón se encuentra más disponible para las enzimas presentes en el EIDR (amilasas-glucosidasas). Por otro lado, la muestra extrudida y con pectina añadida, al haber sido sometidas a un tratamiento termomecánico, como lo es la extrusión, es posible que se haya llevado la formación de almidón resistente tipo 3, es decir, almidón gelatinizado-retrogradado, el cual es resistente al ataque enzimático. La diferencia entre la muestra extrudida y la muestra con pectina es constante a través del tiempo, este efecto se puede atribuir al contenido de glucosa presente en la pectina que se utilizó durante el estudio, que pudo influir en la cuantificación del contenido de glucosa durante la digestión por el EDIR.

Aunado a esto, en la muestra almidón-pectina (7%), al ser sometido a una combinación de temperatura, presión y cizallamiento puede generar posibles interacciones entre ambos carbohidratos. Lo anterior contribuye con una menor actividad enzimática durante la digestión, que se atribuye a que la pectina recubre los gránulos de almidón (Figura 10) protegiéndolos de dicho ataque. Los datos de digestión obtenidos se relacionan con los resultados de las propiedades térmicas y de pasta, por lo tanto, la hipótesis de una interacción entre los dos carbohidratos, a pesar del contenido elevado de glucosa encontrada en la pectina, provocada durante el proceso de extrusión se robustece, modificando las propiedades tecno funcionales y nutricionales el almidón, dando como resultado final un ingrediente potencialmente benéfico al consumidor.

Durante el estudio únicamente se evaluó la digestión *in vitro* equivalente a la fase intestinal, debido a que, en la fase oral y estomacal se presenta únicamente el 15%

64

de hidrólisis del almidón, mientras que en la fase intestinal se obtiene la mayor hidrólisis de carbohidratos (Taylor et al., 2015). Sin embargo, sería de gran interés e importancia evaluar la fase oral y gástrica para tener una visión completa de la digestión de este ingrediente a base de almidón proveniente de maíz criollo.

7. CONCLUSIONES

Las propiedades físicas del grano de maíz, influyeron en las propiedades químicas y fisicoquímicas de los almidones aislados.

La caracterización de la pectina demostró tener una alta concentración de glucosa que no está presente en la estructura del hidrocoloide, por lo que no puede ser llamado como un aditivo E440 (pectina).

La extrusión causó una pre-gelatinización de los gránulos de almidón, modificando su estructura, así como sus propiedades térmicas, de pasta y tecno-funcionales.

Se obtuvo un ingrediente a base de almidón de maíz criollo y pectina producido a través de extrusión, el cual presentó propiedades fisicoquímicas y tecno-funcionales significativamente diferentes al almidón nativo.

La estructura del almidón y la integridad del gránulo se conservan, sin embargo, las temperaturas de gelatinización, temperaturas de pasta, así como su viscosidad aumentaron al incrementar el contenido de pectina, lo que demuestra una interacción entre la pectina y el almidón pre-gelatinizado formada durante el proceso termomecánico. Si bien, la pectina presentó un elevado contenido de glucosa en su composición, este monosacárido no disminuyó el efecto de la pectina en el almidón.

Se eligió el almidón nativo, extrudido y con pectina (7%) del maíz HPZ 1 para el estudio de digestión *in vitro* debido a su contenido de amilosa, así como las

características fisicoquímicas y tecno-funcionales que presentó dicho almidón con el mayor porcentaje de pectina.

Durante la digestión intestinal *in vitro*, se observaron diferencias significativas que demuestran que la extrusión, así como la adición de pectina disminuyen la

65

digestibilidad del almidón, permitiendo la formación de un ingrediente que resiste la digestión enzimática derivado de una interacción entre ambos carbohidratos.

Por lo tanto, de acuerdo con los datos obtenidos, se puede concluir que la pectina y el almidón forman un complejo al usar extrusión, que afecta sus propiedades fisicoquímicas, tecno-funcionales y de digestibilidad, teniendo como resultado la generación de un ingrediente funcional con posibles beneficios al consumidor.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Ai, Y., & Jane, J. L. (2018). Understanding Starch Structure and Functionality. En *Starch in Food: Structure, Function and Applications: Second Edition* (pp. 151–178). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100868-3.00003-2>
- Babić, J., Šubarić, D., Ackar, D., Piližota, V., Kopjar, M., & Tiban, N. N. (2006). Effects of pectin and carrageenan on thermophysical and rheological properties of tapioca starch. *Czech Journal of Food Sciences*, 24(6), 275–282. <https://doi.org/10.17221/3325-cjfs>
- Bonifacio Vázquez, E. I., Salinas Moreno, Y., Ramos Rodríguez, A., & Ocampo, A. C. (2005). Calidad Pozolera en colectas de Maíz Cacahuacintle. *Artículo Científico Rev. Fitotec. Mex*, 28(3), 253–260.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. (1998). Mini review Starch granules: structure and biosynthesis. En *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 23).
- Carbinatto, F. M., de Castro, A. D., Cury, B. S. F., Magalhães, A., & Evangelista, R. C. (2012). Physical properties of pectin-high amylose starch mixtures cross linked with sodium trimetaphosphate. *International Journal of Pharmaceutics*, 423(2), 281–288. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.11.042>
- Cerqueira, F. M., Photenhauer, A. L., Pollet, R. M., Brown, H. A., & Koropatkin, N. M. (2020). Starch Digestion by Gut Bacteria: Crowdsourcing for Carbs. En *Trends in Microbiology* (Vol. 28, Issue 2, pp. 95–108). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.09.004>

Cervantes-Ramírez, J. E., Cabrera-Ramírez, A. H., Morales-Sánchez, E., Rodríguez-García, M. E., Reyes-Vega, M. de la L., Ramírez-Jiménez, A. K., Contreras-Jiménez, B. L., & Gaytán-Martínez, M. (2020). Amylose-lipid complex formation from extruded maize starch mixed with fatty acids. *Carbohydrate Polymers*, 246. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116555>