



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL
CENTRO DE LA REPÚBLICA
(P R O P A C)

**PREPARACIÓN DE UN INGREDIENTE NUTRACÉUTICO DE
HARINA DE PLÁTANO VERDE**

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

PRESENTA:

IBQ. ALMA ROSA RODRÍGUEZ DAMIÁN

DIRECTOR DE TESIS:

DR. LUIS ARTURO BELLO PÉREZ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QRO. ENERO DE 2012



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química

Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República
(PROPAC)
Maestría en Ciencias y Tecnología de Alimentos

PREPARACIÓN DE UN INGREDIENTE NUTRACÉUTICO DE HARINA DE PLÁTANO VERDE

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencias y Tecnología de Alimentos

Presenta:

IBQ. Alma Rosa Rodríguez Damián

Dirigido por:

Dr. Luis Arturo Bello Pérez

SINODALES

Dr. Luis Arturo Bello Pérez
Presidente

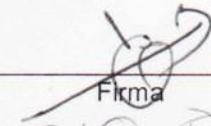
Dra. Perla Osorio Díaz
Secretario

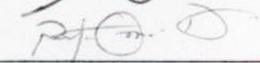
Dra. Ma. Guadalupe F. Loarca Piña
Vocal

Dr. Carlos Regalado González
Suplente

Dra. Minerva Ramos Gómez
Suplente

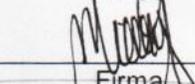
Dra. Ma. Guadalupe García Alcocer
Director de la Facultad


Firma


Firma


Firma


Firma


Firma


Dr. Irineo Torres Pacheco
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Enero de 2012
México

Resumen

La harina de plátano verde (HPV) es una fuente importante de carbohidratos no digeribles, principalmente almidón resistente. Sin embargo, durante la cocción del plátano verde los carbohidratos no digeribles se transforman en digeribles. El objetivo de la presente investigación fue estudiar el efecto de diferentes tratamientos: cocción, tratamiento humedad-temperatura, y THT con una condición de almacenamiento, con el fin de aumentar las fracciones de almidón de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR). El primer tratamiento consiste en la cocción a los plátanos verdes en agua a ebullición durante tres periodos de tiempo (5, 15 y 25 min), posteriormente se elaboraron las harinas. Posteriormente el tratamiento humedad temperatura (THT) se aplicó a las harinas de plátano cocido bajo las condiciones de 30% de humedad, 100 °C, 24 h. Una muestra de plátano verde sin cocción se incluyó como control (cruda). Finalmente, se aplicó THT y una condición de almacenamiento (THT+A) a -20 °C durante 72 h. Las propiedades moleculares, fisicoquímicas y de digestibilidad del almidón fueron evaluadas después de cada tratamiento. El contenido de amilosa lixiviada disminuyó conforme aumentó el tiempo de cocción, mientras que se observaron valores menores en las muestras con THT y THT+A. La intensidad de la cristalinidad disminuyó al cuando se aplicaron los tratamientos térmicos, debido a la desorganización de los componentes del almidón. La temperatura de gelatinización incrementó con el THT y THT+A. Sin embargo los valores de entalpía disminuyeron. Las muestras con THT y THT+A retardaron la retrogradación, lo que demuestra un muy bajo perfil de pasta debido a la reorganización de los componentes del almidón y de los agregados que se formaron durante los tratamientos. En las muestras no gelatinizadas, la fracción de AR disminuyó a mayor tiempo de cocción; mientras, que el THT y el THT+A incrementaron las fracciones de ADL y AR muestras gelatinizadas y no gelatinizadas. Además, la fracción indigerible insoluble incremento en las muestras con THT y THT+A. Estos resultados demuestran que las muestras pueden ser utilizadas como un ingrediente nutracéutico, debido a que presentaron un alto contenido de carbohidratos no digeribles.

(Palabras clave: plátano verde, tratamientos térmicos, digestibilidad del almidón, fracción indigerible, características fisicoquímicas)

Abstract

Unripe banana flour is an important source of indigestible carbohydrates, mainly resistant starch. However after cooking, the indigestible carbohydrates of unripe banana become digestible. The objective of the present research was to study the effect of different treatments: cooking, heat-moisture treatment (HMT), and HMT plus a storage condition, to increase the fractions of slowly digestible starch (SDS) and resistant starch (RS) of unripe banana flour. The first treatment consisted of cooking of unripe banana in boiling water during three periods of time (5, 15 and 25 min), before the preparation of the corresponding flours. Then, a heat-moisture treatment (HMT) was applied to the unripe cooked banana flours, with 30% of moisture at 100 °C during 24 h. A flour sample of unripe uncooked banana was included as a control (raw). Finally, HMT plus storage (HMT + S) at -20 °C for 72 h was applied to the unripe cooked banana flours. The molecular, physicochemical and digestibility properties of starch were evaluated after each treatment. The content of amylose leaching decreased as the cooking time increased; whereas, lower values were observed in samples with HMT and HMT+S. The intensity of crystallization decreased when applying the heat treatment due to the disruption of starch components. The temperature of gelatinization increased with HMT and HMT+S treatments, but the values of enthalpy decreased. Both HMT and HMT+S retarded the retrogradation of samples, thus showing very low pasting profile, due to reorganization of the starch components and aggregates formed during treatments. In non-gelatinized samples, the RS fraction decreased with cooking time; whereas, HMT and HMT+S treatments increased both SDS and RS fractions gelatinized and non-gelatinized samples. In addition, the insoluble indigestible fraction increased in the samples with HMT and HMT+S. These results showed that HMT-treated samples can be added to food as a nutraceutical ingredient, because of their higher content of indigestible carbohydrates.

(Keywords: Unripe banana; thermal treatments; starch digestibility; indigestible fraction; physicochemical features)

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Luis Arturo Bello por su apoyo como director de tesis en la realización de este proyecto y por sus consejos para mejorar mi desempeño académico.

A mi comité de tesis Dra. Perla Osorio Díaz, Dra. Ma. Guadalupe F. Loarca Piña, Dr. Carlos Regalado González, Dra. Minerva Ramos Gómez, por sus observaciones y sugerencias durante el desarrollo del proyecto de investigación.

Al PROPAC por permitirme ser una alumna de su programa y por todo el apoyo recibido.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo brindado para la realización de este trabajo.

Al Instituto Politécnico Nacional, al Centro de Desarrollo de Productos Bióticos y al Departamento de Desarrollo Tecnológico por todas las facilidades otorgadas durante este periodo de superación académica.

A mis queridos compañeros del PROPAC y CeProBi, que me apoyaron y me permitieron entrar en su vida durante estos dos años y medio conviviendo dentro y fuera del salón de clase.

A los amigos con quienes he compartido momentos que siempre llevaré en el corazón, porque han enriquecido mi vida con su cariño y alegría. Ustedes siempre me hacen recordar que hay personas valiosas en el mundo (Cecilia R., Esther, Olivia, Carlos, Cecilia A., David H., Leticia, Germán, Coral, Sara, Ericka, Enrique, Yuliana, Rosa, Fernando, Marcelo, Esaú, Pamela, Violeta, Rosario, Maribel, Carolina, Vicente, Perla, Cesar, Jazil, Cinthia, Francisco Javier, Fandila, Erika, Julián, Estrella, Sandra, Isai, Lilia, Victoria, Jonathan, Raquel, G. David, me faltan más pero no por eso dejan de ser importantes...). Gracias por formar parte de mi vida.

A los amigos que hice en el Instituto Tecnológico de Celaya que fomentaron este logro en mi vida, porque siempre han creído en mí y me acompañan en los momentos difíciles y en los de felicidad.

DEDICATORIAS

A Dios

Por permitirme llegar a la meta deseada.

A mis abuelos

Por quererme siempre

A mis padres

Por el valioso apoyo, amor y cariño que siempre me han brindado durante mi carrera profesional.

A ti papá: por la motivación y confianza que siempre me brindas.

A ti mamá: que con tus cuidados y sabios consejos me has sabido guiar.

A mis hermanos

Sergio y Andrés por su amor y apoyo incondicional.

Mis sobrinos

Enrique y Andrés, la alegría de mi vida.

A toda mi familia

Por escucharme, aconsejarme y creer en mí.

ÍNDICE

Resumen	i
Abstract	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIAS	iv
INDICE	v
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ABREVIATURAS	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Alimento	3
2.1.1 Alimento nutracéutico	4
2.2 Plátano (<i>Musa paradisiaca</i> L.)	7
2.2.1 Composición química del plátano	9
2.3 Harina de plátano	9
2.4 Biodisponibilidad de los carbohidratos	11
2.5 Almidón	15
2.5.1 Estructura química de la molécula de almidón	16
2.5.1.1 Amilosa	16
2.5.1.2 Amilopectina	18
2.5.1.3 Organización del gránulo de almidón	22
2.5.2 Tratamiento térmico del almidón en exceso de agua	27
2.5.2.1 Gelatinización	27
2.5.2.2 Retrogradación	28
2.5.2.3 Propiedades de formación de pasta	29
2.5.3 Digestibilidad del almidón	32
2.5.3.1 Factores que afectan la digestibilidad del almidón	32
2.5.3.2 Digestión del almidón	34
2.5.3.3 Fracciones del almidón	35

2.5.3.4 Almidón de digestión lenta (ADL)	36
2.5.3.4.1 Importancia fisiológica del ADL	37
2.5.3.5 Almidón resistente (AR)	39
2.5.3.5.1 Importancia fisiológica del AR	40
2.5.3.6 Características estructurales del ADL y AR	41
2.5.4 Almidón de plátano	42
2.5.4.1 Estructura del almidón de plátano	42
2.5.4.2 Digestibilidad del almidón de plátano	43
2.5.5 Modificación del almidón	44
2.5.5.1 Modificación física del almidón	45
2.6 Fracción indigerible	46
III. JUSTIFICACIÓN	48
IV. OBJETIVOS	49
4.1 General	49
4.2 Específicos	49
V. MATERIALES Y METODOLOGÍA	50
5.1 Materiales	50
5.1.1 Material empleado	50
5.2 Métodos	50
5.2.1 Cocción del plátano verde	50
5.2.2 Obtención de harina de plátano	51
5.2.3 Modificación física del almidón (Tratamiento con humedad y temperatura)	51
5.2.4 Análisis proximal	52
5.2.4.1 Humedad	52
5.2.4.2 Cenizas	52
5.2.5 Análisis químico	53
5.2.5.1 Almidón total (AT)	53
5.2.6 Caracterización fisicoquímica y molecular	54
5.2.6.1 Microscopía de luz polarizada	54
5.2.6.2 Amilosa lixiviada	54

5.2.6.3 Difracción de Rayos X	55
5.2.6.4 Calorimetría diferencial de barrido	55
5.2.6.5 Análisis rápido de viscosidad	56
5.2.7 Digestibilidad del almidón <i>in vitro</i>	57
5.2.7.1 Determinación de fracciones de almidón	57
5.2.8 Fracción indigerible	59
5.3 Análisis estadístico	60
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
6.1 Análisis proximal	61
6.2 Análisis químico	62
6.3 Caracterización fisicoquímica y molecular	63
6.3.1 Microscopia de luz polarizada	63
6.3.2 Amilosa lixiviada	66
6.3.3 Difracción de rayos X	70
6.3.4 Calorimetría diferencial de barrido	73
6.3.5 Análisis rápido de viscosidad	78
6.4 Digestibilidad <i>in vitro</i>	81
6.4.1 Determinación de las fracciones de ADR, ADL y AR	81
6.5 Fracción indigerible (FI)	85
CONCLUSIONES	89
ANEXO	91
LITERATURA CITADA	92

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pagina
1	Clasificación de los carbohidratos de acuerdo a su biodisponibilidad.	13
2	Contenido de almidón de productos agrícolas.	15
3	Análisis proximal y químico de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente.	62
4	Parámetros térmicos de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente.	74
5	Digestibilidad de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente.	82
6	Fracción indigerible de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente.	86
7	Amilosa lixiviada de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras		Pagina
1	Resumen de los factores que influyen en la biodisponibilidad de los carbohidratos.	14
2	Estructura química de los componentes del almidón.	17
3	Estructura de amilosa: a) Estructura lineal; b) Estructura tridimensional helicoidal que rodea a las unidades de yodo	18
4	Estructura lineal de amilopectina.	19
5	Modelos propuestos para la estructura de amilopectina por a) Nikuni (1964), b) French (1972), c) Robin (1974) y d) Hizukuri (1985).	21
6	Arreglo de láminas cristalinas y amorfas así como el esquema de la estructura del modelo de clúster del gránulo de almidón.	23
7	Patrones de difracción de almidones tipo A, B, C y V.	25
8	Empaquetamiento de las dobles hélices de amilopectina en base al tipo de patrón de difracción.	26
9	Representación esquemática de las propiedades de formación de pasta del almidón	30
10	Perfil de viscosidad de almidón de maíz normal, obtenido con un analizador rápido de viscosidad	31
11	Micrografía electrónica de barrido del almidón nativo de plátano (800X).	43
12	Microscopia de luz polarizada de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente: a) HPVC, b) HPVC + THT, c) HPVC + THT + A, d) HPV5*, e) HPV5* + THT y f) HPV5* + THT + A.	64

- 13 Microscopia de luz polarizada de las harinas de plátano verde modificadas físicamente: a) HPV15*, b) HPV15* + THT, c) HPV15* + THT + A, d) HPV25*, e) HPV25* + THT y f) HPV25* + THT + A. 65
- 14 Amilosa lixiviada de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente: a) HPVC (—), HPV5* (— — —), HPV15* (— — —) y HPV25* (— — — —); b) HPVC + THT (—), HPV5* + THT (— — —), HPV15* + THT (— — —) y HPV25* + THT (— — — —); c) HPVC + THT + A (—), HPV5* + THT + A (— — —), HPV15* + THT + A (— — —) y HPV25* + THT + A (— — — —). 68
- 15 Patrón de difracción de rayos X de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente: a) HPVC, b) HPV5*, c) HPV15*, d) HPV25*, e) HPVC + THT, f) HPV5* + THT, g) HPV15* + THT, h) HPV25* + THT, i) HPVC + THT + A, j) HPV5* + THT + A, k) HPV15* + THT + A y l) HPV25* + THT + A. 71
- 16 Perfiles rápidos de viscosidad de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente: a) HPVC (□), HPV5* (o) y HPV25* (Δ); b) HPVC + THT (□), HPV5* + THT (o) y HPV25* + THT (Δ); c) HPVC + THT + A (□), HPV5* + THT + A (o) y HPV25* + THT + A (Δ). 79

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
Å	Angstrom
AACC	American Association of Cereal Chemists
acetil-CoA	Acetil-coenzima A
ADL	Almidón de digestión lenta
ADR	Almidón de digestión rápida
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
ANN	Annealing
AR	Almidón resistente
ATP	Adenosina-5'-trifosfato
BU	Unidades Brabender
CDB	Calorimetría diferencial de barrido
CH ₃ COONa	Acetato de sodio
cm	Centímetros
CRCC	Carbohidratos resistentes de cadena corta
Da	Daltons
DNS	Ácido 3,5-dinitrosalicílico
EURESTA	European Re-search Project on Resistant Starch
FAOSTAT	Food and Agriculture Organization Statistical
FD	Fibra dietética
FI	Fracción indigerible
FII	Fracción indigerible insoluble
FIS	Fracción indigerible soluble
FIT	Fracción indigerible total
g	Gramo
<i>g</i>	Fuerza centrífuga relativa
GLL	Glucosa lentamente liberada
GOD/POD	glucosa oxidasa/peroxidasa
GP	Grado de polimerización
GRL	Glucosa rápidamente liberada

h	Hora
HCl	Ácido clorhídrico
HPV	Harina de plátano verde
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
IG	Índice glucémico
I ₂ /KI	Yodo/Yoduro de potasio
Kcal	Kilocaloría
KCl	Cloruro de potasio
KOH	Hidróxido de potasio
KV	Kilo volts
L	Litro
M	Molar
MEB	Microscopia electrónica de barrido
mg	Miligramo
min	Minuto
mL	Mililitro
mol	Mol
mm	Milímetro
NaOH	Hidróxido de sodio
nm	Nanómetro
pH	Potencial de hidrógeno
PNA	Polisacáridos no amiláceos
p/p	Peso/Peso
p/V	Peso/volumen
rpm	Revoluciones por minuto
RVA	Analizador de viscosidad rápida
RVU	Unidades visco rápidas
s	Segundo
SIAP	<i>Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera</i>
s/°	Segundo/grado
Tf	Temperatura final
Tg	Temperatura de transición vítrea

To	Temperatura de inicio
ton	Tonelada
Tp	Temperatura de pico
THT	Tratamiento humedad temperatura
U/mL	Unidades/Mililitro
θ	Ángulo de deflexión
°C	Grados Celsius
μ L	Microlitro
μ m	Micrómetro
%	Porcentaje

I. INTRODUCCIÓN

La población en la actualidad está más interesada en buscar y consumir alimentos que aporten beneficios al organismo. Diversos estudios muestran la importancia de llevar una alimentación más adecuada, debido a que puede ayudar a prevenir o reducir el riesgo de padecer ciertas enfermedades como el sobrepeso y la obesidad, los cuales puede generar desórdenes metabólicos como la diabetes. El efecto en el metabolismo de los carbohidratos ingeridos tiene un papel importante en la prevención de estas enfermedades. El almidón es el carbohidrato más importante en la dieta humana y es usado como fuente de energía. Existen diferentes fuentes botánicas para obtener el almidón como son el maíz, la papa y el arroz, pero también se ha hecho uso de los recursos naturales de diversas regiones del mundo para aislarlo, como es el caso de los tubérculos andinos, las leguminosas y algunos frutos verdes como el plátano y el mango. El plátano verde se ha considerado una fuente natural de almidón que ha presentado una alta resistencia a la hidrólisis por las enzimas digestivas. Cuando la digestión del almidón se lleva a cabo se pueden encontrar tres fracciones: almidón de digestión rápida (ADR), almidón de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR) (Englyst *et al.*, 1992). El ADL se considera benéfico debido a que se absorbe más lentamente, retardando la saciedad, además de que provee una cantidad de glucosa durante un periodo de tiempo largo (Björck y Asp, 1994), lo que puede prevenir un desorden metabólico (Wolever y Mehling, 2002). Estudios han reportado que el almidón resistente puede ayuda a prevenir el cáncer de colon, ya que sirve como sustrato de la microflora colónica, reduciendo la respuesta glucémica e insulinémica, disminuyendo el nivel de colesterol en sangre, además de que puede ayudar en la absorción de minerales (Sajilata *et al.*, 2006; Chung *et al.*, 2009).

Diversos estudios han reportado que las fracciones de ADL y AR se pueden incrementar mediante la modificación del almidón (Chung *et al.*, 2009). El tratamiento con humedad y temperatura (THT) es una modificación física, en la

cual el almidón es sometido a porcentajes de humedad bajos (<35% humedad p/p) durante un cierto periodo de tiempo (15 min-24 h) y altas temperaturas (80-120 °C) por arriba de las temperaturas de transición vítrea (T_g) y de gelatinización. Estudios reportan que el THT modifica la estructura molecular del almidón sin romper el gránulo (Hoover y Manuel, 1996). En todos los almidones aislados, el THT incrementa la temperatura de gelatinización, el intervalo de temperatura de gelatinización y disminuye el hinchamiento granular, la lixiviación de la amilosa y la viscosidad. Además, dependiendo de la fuente botánica, se presenta un cambio en el patrón de difracción de rayos X (tipo B a tipo A), favoreciendo la formación de complejos amilosa-amilosa y amilosa-amilopectina, provocando un arreglo molecular de los componentes del almidón, los cuales pueden aumentar o disminuir la susceptibilidad enzimática (Hoover *et al.*, 1996; Gunaratne y Hoover, 2002).

En la actualidad, las modificaciones físicas se pueden considerar más seguras que aquellas en las cuales se han empleado agentes químicos, contemplando así al THT como un método seguro y favorable en la modificación del almidón para elaborar alimentos (Maache *et al.*, 2008); por lo que al modificar el almidón contenido en la harina de plátano verde, se puede obtener un ingrediente nutracéutico que pueda presentar un alto porcentaje de carbohidratos indigeribles. El objetivo del presente trabajo fue realizar tratamientos hidrotérmicos y de almacenamiento en condición de congelamiento, para incrementar el ADL y carbohidratos indigeribles en la harina de plátano verde.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Alimento

El alimento es cualquier sustancia (sólida o líquida) ingerida por los seres vivos con fines nutricionales que son esenciales en la regulación del metabolismo así como el mantenimiento de las funciones fisiológicas. Por otra parte son psicológicos ya que generan satisfacción y obtención de sensaciones gratificantes. La alimentación es saludable cuando favorece el buen estado de salud y disminuye el riesgo de enfermedades relacionadas con ella. La investigación epidemiológica ha demostrado una relación entre la alimentación y el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas caracterizadas por una elevada morbimortalidad (Calañas-Continente y Bellido, 2006).

Los cambios en los hábitos alimenticios y la alimentación desequilibrada actualmente son factores de riesgo que podrían desencadenar enfermedades como obesidad, cáncer, diabetes, e hipertensión. El exceso de azúcares, grasas animales y proteínas, así como la falta de consumo de fibra son las características de la alimentación actual (Jeznach *et al.*, 2007). Debido a esta problemática los alimentos destinados al consumo humano son objeto de estudio en diversas investigaciones para conocer su composición química, mecanismos de digestión y cómo pueden ser metabolizados, sobre todo esos alimentos que ayuden a mejorar los mecanismos de defensa, prevengan enfermedades y retrasen los procesos de envejecimiento. Tal es el caso de los alimentos nutraceuticos, ya que pueden ofrecer una mejora en la calidad de vida (Francois, 1999).

2.1.1 Alimento nutracéutico

Es clara la relación existente entre la dieta y la salud. Sin embargo, el principal papel de la dieta es proveer los suficientes nutrientes para satisfacer los requerimientos metabólicos del cuerpo humano y pueden tener un papel determinante para la prevención de enfermedades (Roberfroid, 2000).

Actualmente, los países industrializados enfrentan nuevos retos en alimentación, debido al incremento en los costos de salud como consecuencia de una alimentación inadecuada y el cambio de estilo de vida, lo cual ha impulsado avances en cuanto a la mejora científica del conocimiento en el estudio de los alimentos así como el desarrollo de nuevas tecnologías (Reyes-Cruz, 2004). Diversos estudios se han enfocado en optimizar la calidad de la dieta diaria en término de su contenido de nutrientes así como de otras propiedades de los alimentos que podrían favorecer el mantenimiento de la salud; es aquí en donde los alimentos nutracéuticos pueden tener un papel importante (Aswell, 2002).

El término nutracéutico fue acuñado en 1989 por el Dr. Stephen DeFelice, uniendo los términos de “nutrición” y “farmacéutico”. De acuerdo con DeFelice, nutracéutico puede ser definido como “un alimento (o parte de un alimento) que proporciona beneficios médicos o que tienen una función benéfica sobre la salud, incluyendo la prevención y/o el tratamiento de enfermedades” (Kalra, 2003).

El concepto de alimento nutracéutico puede contemplar a los alimentos funcionales, considerando algunas diferencias para ambos conceptos (Rajasekaran *et al.*, 2008).

- ❖ Los alimentos nutracéuticos son productos de origen natural con propiedades biológicas activas, benéficos para la salud y con capacidad preventiva y/o terapéutica definida. Al hablar de nutracéuticos se hace referencia a una medicina biológica y de una

categoría amplia de productos que deben cumplir con algunos criterios:

1. Ser de origen natural.
2. Aislados y purificados por métodos no desnaturalizantes.
3. Que aporten efectos benéficos para la salud:
 - a) Mejora de una o más funciones fisiológicas
 - b) Acción preventiva y/o curativa
 - c) Mejora de la calidad de vida.

- ❖ Los alimentos funcionales son aquellos que aportan al organismo determinadas cantidades de vitaminas, grasas, proteínas, carbohidratos y otros elementos necesarios para el organismo. Cuando un alimento funcional ayuda a la calidad de vida, al mantenimiento de la salud o a la prevención de enfermedades, entonces se puede llamar nutracéutico. Desde esta perspectiva los alimentos funcionales son parte de los nutracéuticos (Sociedad Española de Nutraceutica Médica, 2010).

Es posible clasificar a los nutracéuticos en dos categorías: 1) los alimentos que debido a su naturaleza tienen diversas sustancias consideradas como nutraceuticas, y 2) los alimentos a los que se añaden ingredientes nutraceuticos obtenidos de diversas fuentes como los probióticos, prebióticos, proteínas bioactivas, fitoesteroles, fitoestrógenos, fitoesteroles, etc (Bello-Pérez *et al.*, 2010).

Los ingredientes nutraceuticos se pueden obtener a partir de frutas, vegetales y productos a base de cereales (principalmente los alimentos con cereales integrales). Estos productos incluyen sustancias como los polifenoles (flavonoides, antocianinas taninos, etc.) que muestran capacidad antioxidante, y

carbohidratos no digeribles presentes en la fracción llamada fibra dietética (FD) (Bello-Pérez *et al.*, 2010).

La definición de fibra dietética se encuentra en constante cambio, la American Association of Cereal Chemists (AACC) la definió como “la porción comestible de plantas o de los carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y a la absorción en el intestino delgado con completa o parcial fermentación en el intestino grueso”. Incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas de la planta. Promueve efectos fisiológicos benéficos tales como laxación, atenuación del colesterol en sangre, atenuación de glucosa en sangre (Anónimo, 2007). La fibra dietética se puede encontrar en los alimentos como una matriz vegetal que lleva asociados compuestos bioactivos como flavonoides y carotenoides y determinadas cantidades de otros nutrientes (Saura-Calixto, 1998). Otros compuestos importantes en la fibra dietética son los carbohidratos no digeribles los cuales suelen ser resistentes a la hidrólisis por las enzimas digestivas. Una fracción de gran importancia es el almidón resistente (AR) el cual no es digerido y es fermentado en el intestino grueso, produciendo ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que están asociados con diversos efectos benéficos a la salud (Saura-Calixto *et al.*, 1991). La fibra dietética presente en algunos frutos, incluyendo frutos verdes, pueden tener en general, mejor calidad nutricional que los que se han encontrado en cereales integrales, debido a su contenido significativo de compuestos bioactivos (flavonoides, carotenoides, etc.) y una composición más equilibrada de la fibra (fracción indigerible soluble e insoluble (FIS/FII), AR, capacidad de retención de grasa, etc.) (Bello-Pérez *et al.*, 2010).

Hay un interés por encontrar nuevas fuentes de fibra dietética que sirvan como ingredientes para la industria de alimentos. La riqueza y diversidad de materiales nutracéuticos de nuestra cultura tienen un papel preponderante, lo que ha llevado a investigar el uso de aquellos recursos regionales (Paredes-López y Valverde, 2006). El plátano verde es uno de los recursos regionales que se han

investigado ampliamente debido al alto contenido de almidón, el cual presenta una alta resistencia a la hidrólisis enzimática, por lo que la producción de una harina de plátano verde puede aprovecharse para el desarrollo de nuevos productos nutracéuticos.

2.2 Plátano (*Musa paradisiaca* L.)

El plátano se puede describir botánicamente como una planta herbácea perene gigante. Las distintas especies y variedades de plátano se han diferenciado por su tamaño, la disposición y dimensiones de las hojas, la forma y tamaño de los frutos, pero principalmente por la conformación del racimo. Este fruto pertenece a la familia de las *musaceae* y abarca variedades del género *Musa*. La especie *Musa paradisiaca* comprende al plátano macho o largo, mientras que otras variedades como dominico, manzano y roatán, entre otros, pertenecen a la especie *Musa sapientum* (Zhang *et al.*, 2005).

El plátano es el cuarto cultivo más importante del mundo, después del arroz, el trigo y el maíz. En el 2008, la producción mundial de plátano fue de 125.05 millones de ton. Entre los tres principales países productores se encuentran la India (18.56%), Uganda (7.99%) y Filipinas (6.95%); México ocupa el catorceavo lugar como productor con el 1.73% seguido por Tailandia (1.59%), Costa Rica (1.57%) y Costa de Marfil (1.53%) (FAOSTAT, 2008).

En México, los principales estados productores de plátano son: Campeche, Colima, Chiapas, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y Yucatán (SIAP, 2010).

El plátano es considerado uno de los cultivos más importantes en la agricultura. Dentro de las frutas ocupa el primer lugar, es considerado como una fruta básica en la alimentación mexicana, debido a su precio bajo, sabor y

disponibilidad durante todo el año. El plátano se consume en estado maduro, aunque dependiendo de la variedad en algunas regiones del sureste del país la variedad denominada “macho” se llega a consumir en estado inmaduro o verde en determinados platillos típicos (Bello-Pérez *et al.*, 2001).

El polisacárido que se puede encontrar en mayor proporción en el plátano en estado verde o inmaduro es el almidón. La pulpa del plátano verde o inmaduro puede producir alrededor del 70-80% de almidón en peso seco, porcentaje que se comparó con el endospermo de los granos de maíz y la pulpa de papa (Zhang y *et al.*, 2005). Esta variedad ha sido de gran interés, debido a que presenta una fracción considerable de almidón resistente, siendo este un componente importante para la salud (Bello-Pérez *et al.*, 2001).

Debido a que el plátano es considerado un fruto climatérico, lo que significa que, una vez cortado de la planta inicia el proceso de maduración acelerado, cuando esto ocurre el almidón es hidrolizado por enzimas endógenas a carbohidratos sencillos como glucosa y fructosa. Durante el proceso de maduración se pueden generar pérdidas ya que no se alcanza a consumir o comercializar; además de que los racimos que llegan a las estaciones centrales de recolección pueden presentar una alta incidencia de plagas y enfermedades que los afectan, por lo que deben ser rechazados en base a los parámetros de calidad; estos factores postcosecha ocasionan que cada año se pierdan del 30 al 50 % de la producción (FAOSTAT, 2004). La pulpa de los plátanos que son desechados, puede ser utilizada en la industria para la producción de un ingrediente a partir de harina o almidón de plátano, lo cual puede representar una alternativa para la comercialización de este fruto.

2.2.1 Composición química del plátano

El plátano en estado verde o inmaduro tiene una composición química con 70-74% de agua, 1% de proteína, 1% de cenizas, 0.3-0.5% de grasas, 20-30% de carbohidratos totales, y 0.5 de fibra total; con un contenido energético de aproximadamente 4 Kcal/g (Chávez *et al.*, 1992; Muller yTobin, 1995).

La materia seca del plátano verde consiste principalmente en almidón (72%), del cual una parte es almidón resistente (10-17%) (Juárez-García *et al.*, 2006).

2.3 Harina de plátano

La preservación de alimentos que implique una mayor vida de anaquel, disminución de costos de almacenamiento y transporte son ventajas que ha brindado la deshidratación. Uno de los alimentos deshidratados más comercializado son las harinas.

En años recientes se ha estudiado el procesamiento del plátano en su estado verde o inmaduro, debido a sus características como alimento funcional, considerado de gran importancia a la salud. El proceso de deshidratación del plátano verde para obtener harina, ha llevado a que esta materia prima tenga diversas aplicaciones en la industria alimenticia (Pacheco y Testa, 2005).

Estudios publicados han mostrado que el empleo de harina de plátano se lleva a cabo en Costa Rica, Honduras, Brasil y México, en la elaboración de panes, espaguetis, barras nutritivas para el desayuno, polvos para bebidas, con el fin de realizar productos con un alto contenido de almidón resistente y fibra (Da Mota *et al.*, 2000; Forster *et al.*, 2003; Juárez-García *et al.*, 2006). Se han encontrado estudios que muestran la importancia de los almidones extraídos a

partir de plátano, en los que se puede observar una alta resistencia a la digestión de tipo “*in vitro*” e “*in vivo*” (Faisant *et al.*, 1995a; Faisant *et al.*, 1995b).

El principal componente de la harina de plátano en estado verde es el almidón, el cual en su forma nativa se puede encontrar en forma de gránulos ovoides de 10-50 μm de diámetro, con una superficie suave y densa, lo cual está parcialmente relacionado con la resistencia a la hidrólisis enzimática (Millan *et al.*, 2005).

Aguirre-Cruz (2009) obtuvo harina de plátano verde la cual estaba compuesta de: almidón total (73.0%), fibra dietética total (17.1%), humedad (12.6%), cenizas (4.6%), proteínas (4.0%) y lípidos (3.2%). En esta harina el contenido de fibra es relativamente alto debido a que se empleó la cáscara del plátano en la elaboración de la harina, ya que la cáscara está compuesta por celulosa, hemicelulosa, lignina, pectinas, gomas, etc. Estudios previos mostraron que parte del almidón total contenido en harina de plátano verde es almidón resistente y constituye aproximadamente el 17 % del almidón total.

Juárez-García y colaboradores (1996) realizaron un estudio en el cual emplearon solo harina de plátano en la elaboración de un pan. Los estudios de digestibilidad del almidón mostraron que este producto de panificación mantenía una baja respuesta glucémica debido a la presencia de un alto contenido de almidón resistente y fibra, lo cual podría retardar su digestibilidad, por lo que podría ser consumido en dietas especiales.

Ovando-Martínez (2008) elaboró espaguetis sustituyendo la sémola de trigo por harina de plátano verde a diferentes concentraciones. El estudio mostró que los espaguetis adicionados con harina de plátano verde mostraban un mayor contenido de almidón resistente, compuestos antioxidantes naturales.

2.4 Biodisponibilidad de los carbohidratos

Los carbohidratos se consideran como uno de los principales componentes de la alimentación y son la fuente de energía del cuerpo humano. La biodisponibilidad de los carbohidratos define la utilización de estos en el tracto gastrointestinal y sus efectos biológicos, ya que dependiendo de su destino en el tracto gastrointestinal, se definirá si son carbohidratos glucémicos (absorbidos en el intestino delgado y disponibles para el metabolismo) o carbohidratos no glucémicos (llegan al colon una parte como sustrato para la fermentación y el resto es excretado por las heces) (Englyst y Englyst, 2005). La clasificación de los carbohidratos en base a su disponibilidad se presenta en el Cuadro 1. Dentro de los carbohidratos glucémicos se encuentran los azúcares libres, maltodextrinas y almidón disponible. Dentro de los carbohidratos no glucémicos se encuentra el almidón resistente, celulosa, hemicelulosa, lignina, pectinas, oligosacáridos y azúcares alcoholes (se absorben en poca cantidad en el intestino delgado, no se metabolizan y se excretan en la orina, los que no se absorben, se fermentan en el intestino grueso) (sorbitol, manitol, xilitol, entre otros) (Englyst y Englyst, 2005).

La biodisponibilidad de los carbohidratos está influenciada por:

- ❖ Los componentes del alimento.
- ❖ Las propiedades fisicoquímicas de los carbohidratos del alimento.
 - a) La matriz del alimento, que está determinada por el origen botánico y el grado de procesamiento del alimento durante su elaboración y preparación.
 - b) La identidad química de los carbohidratos está determinada por el origen botánico y en el caso de los alimentos compuestos por la mezcla de los ingredientes usados. Además, está definida por el tipo de monosacáridos, los enlaces entre los monosacáridos y el grado de polimerización. Esta identidad determina a nivel químico, si las enzimas digestivas pueden hidrolizar a los carbohidratos y

en qué forma están presentes para su metabolismo. La clasificación de los carbohidratos de acuerdo a su biodisponibilidad se presenta en el Figura 1.

- ❖ Individuo que lo consume (existe una variación genética).

Cabe mencionar que cuando se elaboran los alimentos se emplean materias primas sin refinar, en las cuales los constituyentes de la pared celular tienen un efecto de encapsulación, el cual restringe la velocidad a la cual el almidón y otros carbohidratos son digeridos, así como su absorción en el intestino delgado. Cuando el alimento es procesado en exceso se destruye este efecto de encapsulación, por lo que las propiedades de la matriz del alimento se pierden en gran parte debido a la molienda de granos enteros o cuando las frutas se cuecen o muelen.

Cuadro 1. Clasificación de los carbohidratos de acuerdo a su biodisponibilidad.

Tipo de carbohidrato	Componentes químicos	Agrupación nutricional	Principal función biológica
Carbohidratos glucémicos	Azúcares libres	Fructosa y azúcares libres	Metabolizado por el hígado. Posible efecto perjudicial en el metabolismo de lípidos
	Maltodextrinas	GRL y GLL	GRL y GLL refleja la velocidad de la glucosa liberada del alimento, lo cual es un factor importante para el índice glucémico
	Almidón		Las investigaciones sugieren que la respuesta metabólica asociada con los carbohidratos de lenta liberación (GLL) conducen a una salud óptima
Carbohidratos no glucémicos		AR	Varia la velocidad y duración de la fermentación
	PNA	PNA intrínsecos: se encuentran naturalmente como material de la pared celular en alimentos vegetales	La matriz del alimento modera la liberación de carbohidratos Señalados para una dieta alta en fibra, rica en macronutrientes
		PNA adicionados	Varían la velocidad y duración de la fermentación
	CRCC	CRCC intrínsecos: naturales	Varían la velocidad y duración de la fermentación
		CRCC adicionados	
Azúcares alcoholes	Presentes naturalmente y adicionados	Absorbidos, pero no metabolizados. Los que no son absorbidos, son fermentados en el intestino grueso	

CRCC: Carbohidratos resistentes de cadena corta; **GRL:** Glucosa rápidamente liberada; **GLL:** Glucosa lentamente liberada; **PNA:** Polisacáridos no amiláceos y **AR:** Almidón resistente.

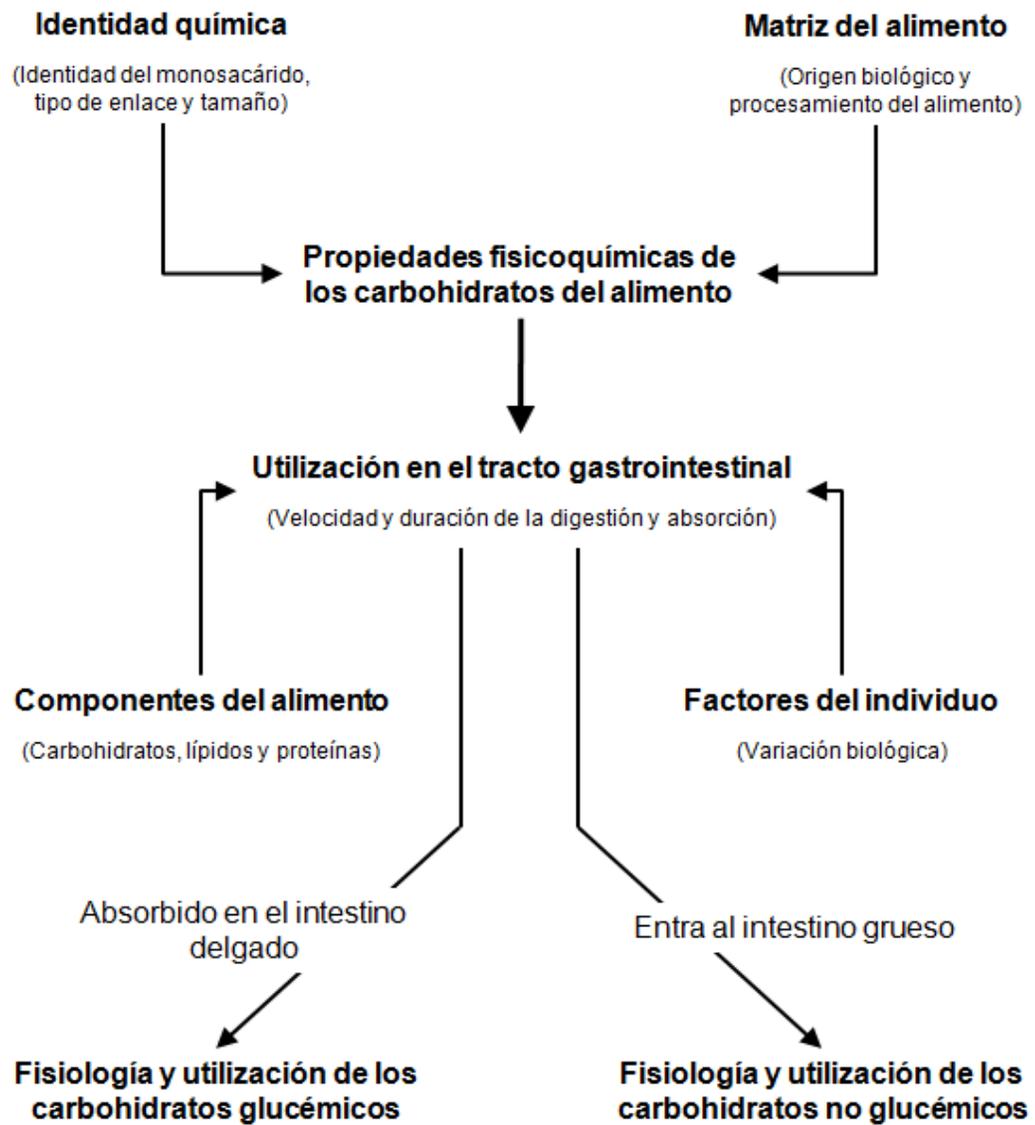


Figura 1. Resumen de los factores que influyen en la biodisponibilidad de los carbohidratos (Englyst y Englyst, 2005).

2.5 Almidón

El almidón se considera un polisacárido de reserva sintetizado por plantas y es una fuente de energía para muchos organismos, debido a que los productos de la hidrólisis del almidón constituyen la mayor parte de los carbohidratos digeribles de la dieta habitual. El almidón representa una fracción importante en una gran variedad de fuentes convencionales como son los cereales, leguminosas y los tubérculos, y fuentes no convencionales como algunas frutas verdes o inmaduras como son el plátano y el mango (Bello-Pérez y Paredes-López, 1999). En la Cuadro 2 se muestra el contenido de almidón reportado en la literatura para diferentes productos.

Cuadro 2. Contenido de almidón de productos agrícolas.

Producto	Contenido de almidón
Cereales (maíz, trigo, arroz)	30-80% *
Tubérculos (papa, Yuca)	60-90% *
Leguminosas (frijol, lenteja, Chícharo)	25-50% *
Frutas inmaduras (plátano, mango)	70% *

* % en base seca.

Fuente: Bello-Pérez *et al.*, 1999.

El polisacárido se encuentra en el interior de la célula vegetal en forma de agrupaciones o gránulos cuya morfología, composición química y estructura supermolecular (arreglo relativo de las moléculas en estado sólido) son características de la fuente botánica de donde proviene. El tamaño de los gránulos de almidón puede variar de 0.5 a 100 μm . Por ejemplo: en el almidón de papa pueden encontrarse gránulos de gran tamaño (15 a 100 μm) y en el almidón de amaranto se tienen gránulos pequeños (0.8 a 2.5 μm) (Bello-Pérez y Paredes-López, 1999). Estas variaciones en los gránulos de almidón son características

que pueden afectar las propiedades funcionales, así como su susceptibilidad al ataque enzimático (Guzmán-Maldonado y Paredes-López, 1995).

2.5.1 Estructura química de la molécula de almidón

Este polisacárido está constituido por dos polímeros de unidades de glucosa: amilosa, de carácter esencialmente lineal y la amilopectina, altamente ramificada (Figura 2). Estas moléculas tienen diferentes tipos de enlace, debido a esto tienen un diferente arreglo espacial en forma helicoidal en el caso de amilosa y de doble hélice en el caso de la amilopectina. Las cantidades estimadas de estos dos polímeros y su organización física dentro de la estructura granular, el grado de polimerización (GP), así como su longitud y distribución de cadena le confieren propiedades fisicoquímicas y funcionales (Bello-Pérez, 1995).

2.5.1.1 Amilosa

La amilosa es un polisacárido lineal, formado por unidades de D-glucosa unidas por enlaces glucosídicos α -1,4 (Figura 3a); sin embargo, se ha demostrado que pueden existir algunas ramificaciones las cuales tienen enlaces del tipo α -1,6 (Thomas y Atwell, 1999).

La amilosa forma cadenas lineales largas conteniendo un promedio de 500 a 6000 unidades de D-glucosa y pesos moleculares de hasta 1×10^6 Dalton (Da), repartidas en un número de cadenas que va de 1 a 20 (MacAllister, 1979).

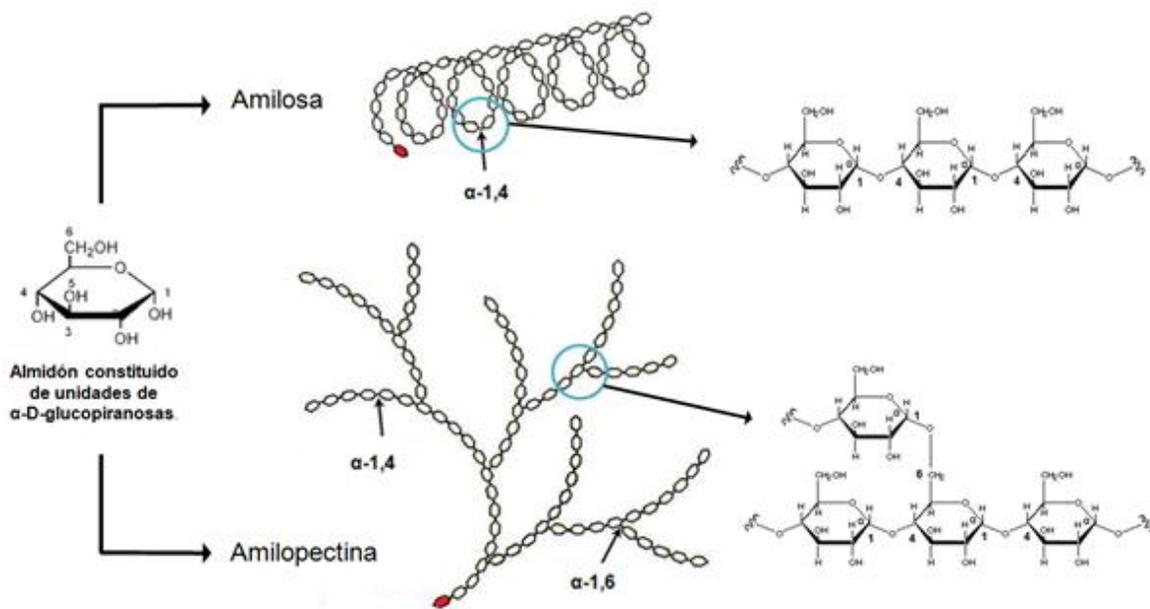


Figura 2. Estructura química de los componentes del almidón (Zugriff, 1997).

La amilosa tiene una conformación tridimensional helicoidal, donde cada vuelta de hélice consta de 6-8 unidades de glucosa por cada vuelta. La amilosa tiene la capacidad de enlazar al yodo del orden de 20 mg de yodo por 100 mg de amilosa a una longitud de onda de máxima absorción entre 620 y 640 nm, debido a que la hélice tiene la capacidad de acomplejar en el centro por ser carácter hidrofóbico o iónico (Figura 3b) (Stick, 2001).

La intensidad del color azul del complejo amilosa-yodo proporciona información acerca de la longitud de cadena de la amilosa, ya que a mayor longitud de cadena mayor número de moléculas de yodo se podrán enlazar y esto ocasiona una coloración azul más intensa.

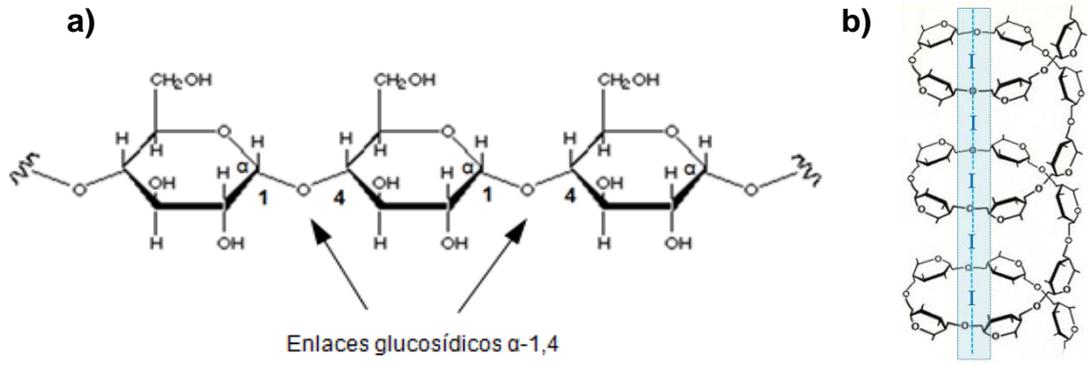


Figura 3. Estructura de amilosa: a) Estructura lineal; b) Estructura tridimensional helicoidal que rodea a las unidades de yodo (Davis *et al.*, 1994).

La técnica que más se emplea para determinar el contenido de amilosa de almidón es la titulación potenciométrica de la amilosa con yodo (Schoch, 1964). Los alcoholes de longitud de cadena larga y los lípidos, también pueden formar complejos con la amilosa, los cuales evitan la retrogradación, estos complejos pueden utilizarse para separar la amilosa de la amilopectina y para modificar sus propiedades (Schoch, 1942).

Generalmente, la amilosa es el componente que está en menor proporción en el almidón, constituye aproximadamente de un 20 a un 30% de su totalidad dependiendo del origen botánico (Sajilata *et al.*, 2006). Existen también almidones que pueden alcanzar niveles mayores al 40%, estos se denominan “altos en amilosa” o no cerosos, esto depende de la fuente botánica de almidón (Zobel, 1988).

2.5.1.2 Amilopectina

La amilopectina es un polisacárido ramificado, formado por unidades de D-glucosa unidas con enlaces glucosídicos α -1,4 y enlaces α -1,6 en los puntos de

ramificación localizados cada 25-30 unidades lineales de glucosa (Figura 4), los cuales representan un 5-6% de los enlaces totales (Buleón *et al.*, 1998). La amilopectina puede formar estructuras que llegan a ser de 2000-200000 unidades de glucosa, con peso molecular que varía entre 1×10^6 y 1×10^8 Da. Normalmente, se encuentran en proporciones del 70 al 80%, en ciertos casos alcanza niveles de hasta un 98-99% en los almidones denominados cerosos o “waxy”, dependiendo de la fuente botánica del almidón (Zobel, 1988).

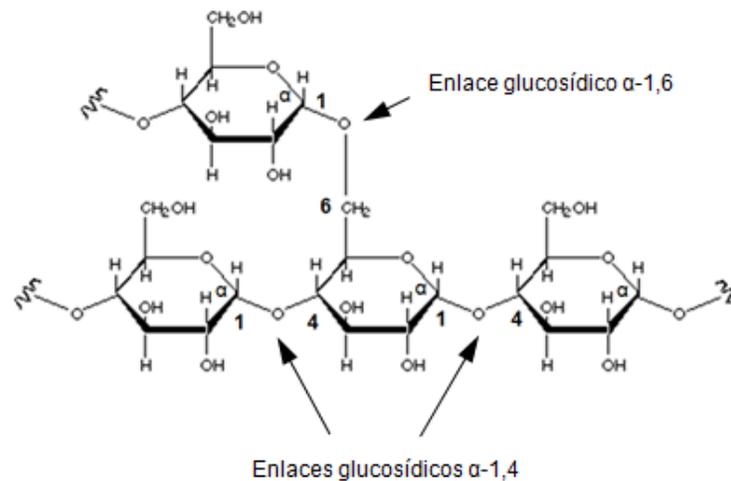


Figura 4. Estructura lineal de amilopectina.

Existen técnicas que se utilizan para la caracterización de la estructura de la amilopectina en las cuales se han utilizado enzimas desramificantes (pululanasa o isoamilasa), ya que éstas hidrolizan selectivamente los enlaces glucosídicos α -1,6 en los puntos donde existen ramificaciones.

La desramificación de la amilopectina da como resultado cadenas lineales, por lo que de esta forma se pueden proponer modelos, con los cuales se puede explicar la forma en que esta molécula se encuentra dentro de los gránulos de almidón y la relación que existe en base a las propiedades fisicoquímicas,

funcionales y de digestibilidad del almidón (Meyer *et al.*, 1940; Robin *et al.*, 1974; Hizukuri, 1985).

El tamaño y modelo de la amilopectina se basa en la estructura de racimo o “clúster” (Nikuni, 1969), este modelo explica la presencia de zonas cristalinas y amorfas (Figura 5a). La región cristalina proviene de la organización de las moléculas de amilopectina dentro del gránulo, mientras que la región amorfa está formada por la amilosa que está distribuida al azar entre los “clústers” de amilopectina (Abd-Karim *et al.*, 2000). French (1972) propuso un modelo de “clúster” más compacto, donde parte de la molécula de amilopectina debe cristalizar durante la biosíntesis del almidón para que no fuese elongada (Figura 5b).

Robin y colaboradores (1974) realizaron estudios enzimáticos (α -amilasa y pululanasa) y cromatográficos (filtración en gel) con almidón de papa lintnerizado, estos estudios confirmaron y modificaron el modelo de “clúster”. En este modelo, las cadenas “A” y “B” son lineales con un GP de 15 y 45, respectivamente. La cadena “B” soporta la columna de la molécula de amilopectina y se extiende sobre dos o más “clúster”. Cada “clúster” contiene de dos a cuatro cadenas “A” estrechamente asociadas, un clúster mide aproximadamente 9 nm de largo (Figura 5c).

Hizukuri (1985) propuso un modelo de racimo modificado, el cual existen diferentes arreglos de las cadenas de amilopectina. En este modelo se introdujo la terminología “A”, “B” y “C”, para diferenciar cadenas. La cadena “A” se enlaza al resto de la molécula a través de un extremo reductor, la cadena “B” esta enlazada con una cadena “A” pero transporta otras cadenas “A” y/o “B” en uno o más de los grupos hidroxilos primarios; la cadena “C” no está sustituida en el grupo o extremo reductor y sólo existe una cadena de este tipo por molécula. No obstante esta nomenclatura ocasionaba confusiones en la interpretación de los resultados de los análisis de la estructura de la amilopectina. Posteriormente, Hizukuri (1985)

analizó los clústers de amilopectina desramificada utilizando cromatografía de permeación en gel, clasificando cadenas tipo “A”, que no presentaban ramificaciones; cadenas tipo “B”, que estaban ramificadas tanto por cadenas “A” o “B”. Las cadenas “A” ($GP \leq 12$) se pueden encontrar en un sólo clúster; las cadenas “B” se dividieron en cadenas “B1” (GP13-24), “B2” (GP 25-36) y “B3” (≥ 37) se extienden sobre 2, 3 o 4 clúster, respectivamente (Figura 5d) (Jane, 2006).

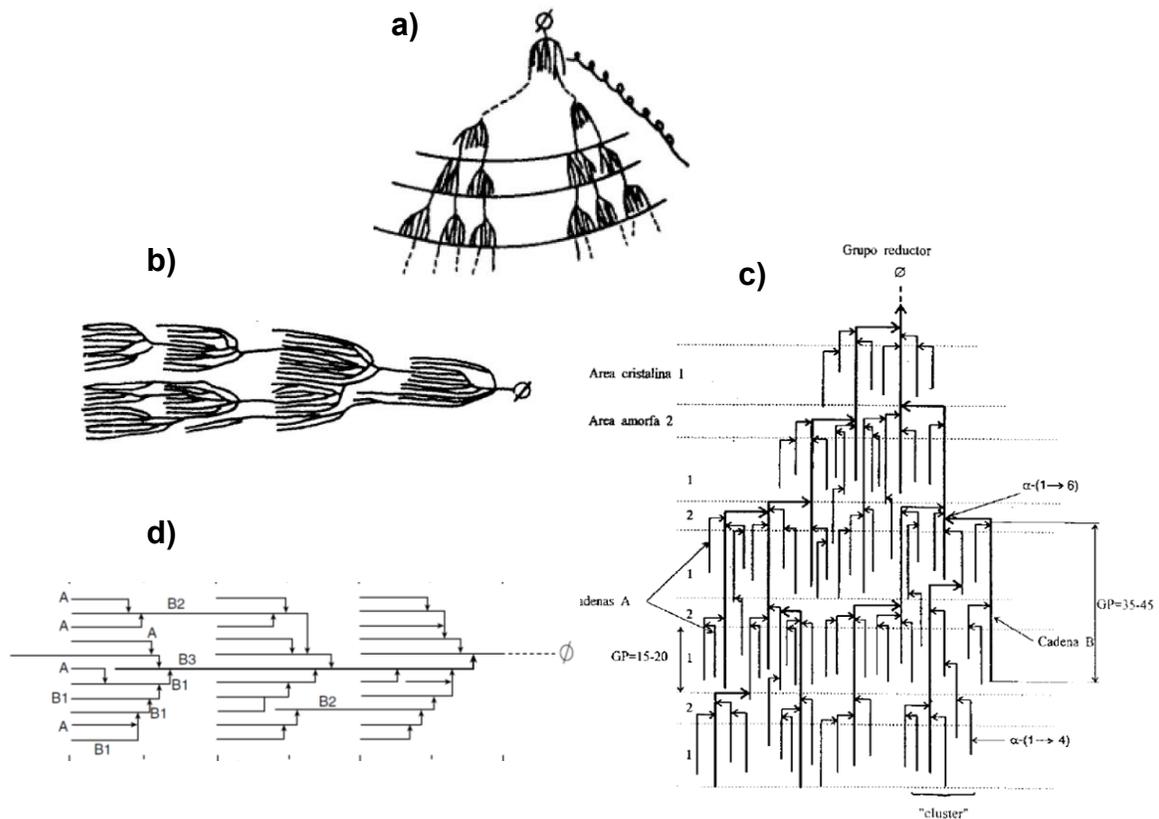


Figura 5. Modelos propuestos para la estructura de amilopectina por a) Nikuni (1964), b) French (1972), c) Robin (1974) y d) Hizukuri (1985).

El GP de las cadenas de la amilopectina está directamente relacionado con las características fisicoquímicas, como la temperatura y entalpía de gelatinización y la tendencia a retrogradar. Las cadenas cortas (GP ~12-24) son

características en un arreglo cristalino tipo A, estas generalmente presentan temperatura de gelatinización menor y retrogradan a velocidad mayor; en cambio cadenas largas (GP >25) son características de un arreglo cristalino tipo B, gelatinizan a temperatura mayor y su velocidad de retrogradación es menor (Ao y Jane, 2006).

La estructura, composición y proporción de la amilopectina en el gránulo contribuye en las propiedades funcionales del almidón, es por eso que se ha estudiado en términos de su tamaño molecular, ramificación y longitud de las cadenas (Bello-Pérez *et al.*, 2002).

2.5.1.3 Organización del gránulo de almidón

En la naturaleza, la amilosa y amilopectina se encuentran en forma semi-cristalina, en entidades llamadas gránulos. Los gránulos de almidón presentan anillos de crecimiento compuestos por láminas amorfas y cristalinas, las cuales rodean al hilum.

La amilopectina llega a formar clústers, los cuales se alinean perpendicularmente a los anillos de crecimiento y crecen a partir del hilum hacia la superficie del gránulo en un arreglo radial (French, 1984). El arreglo semi-cristalino y la cristalinidad se deben al ordenamiento y longitud de las cadenas de amilopectina (Robin *et al.*, 1974; Hizukuri, 1985). La amilosa presenta diferentes grados de polimerización y se encuentra en las zonas amorfas, donde se mantiene unida entre sí, por enlaces de puentes de hidrógeno, pero posee menos movilidad intramolecular que la amilopectina, mientras que las dobles hélices de la molécula de amilopectina se encuentran en las regiones cristalinas (Figura. 6).

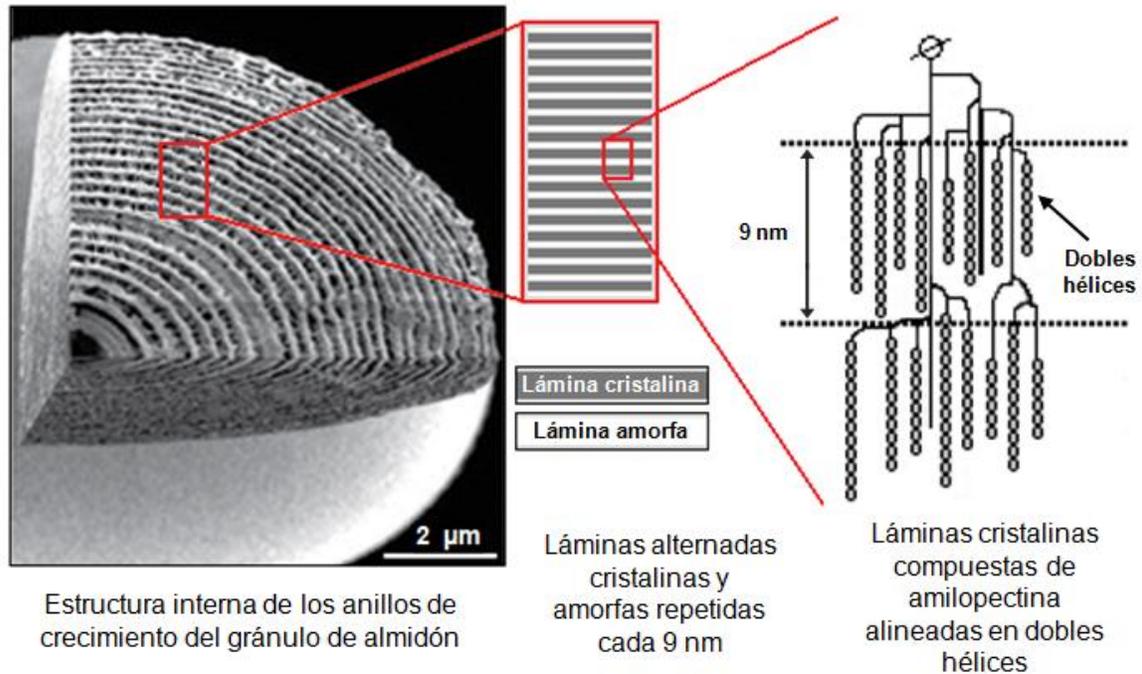


Figura 6. Arreglo de láminas cristalinas y amorfas así como el esquema de la estructura del modelo de clúster del granulo de almidón (Nikuni, 1969; Donald *et al.*, 1997; Zeeman *et al.*, 2010).

Alrededor del 70% de la masa del gránulo de almidón está considerada como amorfa y alrededor del 30% es cristalina (Sajilata *et al.*, 2006).

Debido a que los gránulos son sintetizados en capas, se ha sugerido que la amilosa es sintetizada a la par con la amilopectina. Las ramificaciones de la amilopectina tienen una mayor tendencia a interactuar entre ellas y formar estructuras cristalinas construidas por dobles hélices. Las ramificaciones α -(1-6) de la amilosa al igual que las ramificaciones de la amilopectina, interactúan con otras cadenas para formar dobles hélices. Así, la amilosa permanece amorfa en el gránulo de almidón e intermezclada con la amilopectina (Jane, 2006). La región cristalina ha sido más estudiada, ya que proporciona la estructura y soporte,

además de la conformación a los gránulos, debido a las dobles hélices de amilopectina (Tester y Karkalas, 2004).

Los gránulos de almidón pueden ser estudiados mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), la cual ha probado ser una herramienta efectiva para su caracterización morfológica. Cuando los gránulos de almidón nativo son sometidos a microscopía de luz polarizada, muestran un patrón de birrefringencia conocido como Cruz de Malta. Esta cruz de Malta indica un alto orden dentro del gránulo. En el centro de la cruz de Malta se encuentra el hilum, el cual se cree que es el punto de inicio de la biosíntesis de los componentes del almidón (French, 1984). Otro tipo de estudio es el de difracción de rayos X, que es una técnica que estudia la cristalinidad de los polímeros (orden de largo rango) y puede dar la información de su estructura, definiendo las cantidades relativas de áreas amorfas y cristalinas dentro del gránulo de almidón. Se ha empleado también como una herramienta para medir el grado de gelatinización, además de que se emplea para diferenciar entre almidones (cereales, tubérculos y leguminosas) (Zobel, 1988), detectando cambios en la cristalinidad de la amilopectina, causados por tratamientos físicos y químicos de los gránulos de almidón. La estructura del gránulo de almidón y el arreglo de sus componentes en diferentes niveles de organización, permite explicar las propiedades fisicoquímicas y funcionales, así como la digestibilidad de los diferentes almidones.

Las dobles hélices, formadas por las cadenas de la amilopectina, se pueden ordenar en tres arreglos, lo cual da lugar a tres patrones de difracción de rayos X. Estos tipos de almidón están designados como tipo A, tipo B y tipo C (Figura 7). Estos dependen parcialmente de las longitudes de cadena que conforman el arreglo de la amilopectina, la densidad de empaquetamiento en el gránulo y la presencia de agua (Wu y Sarko, 1978).

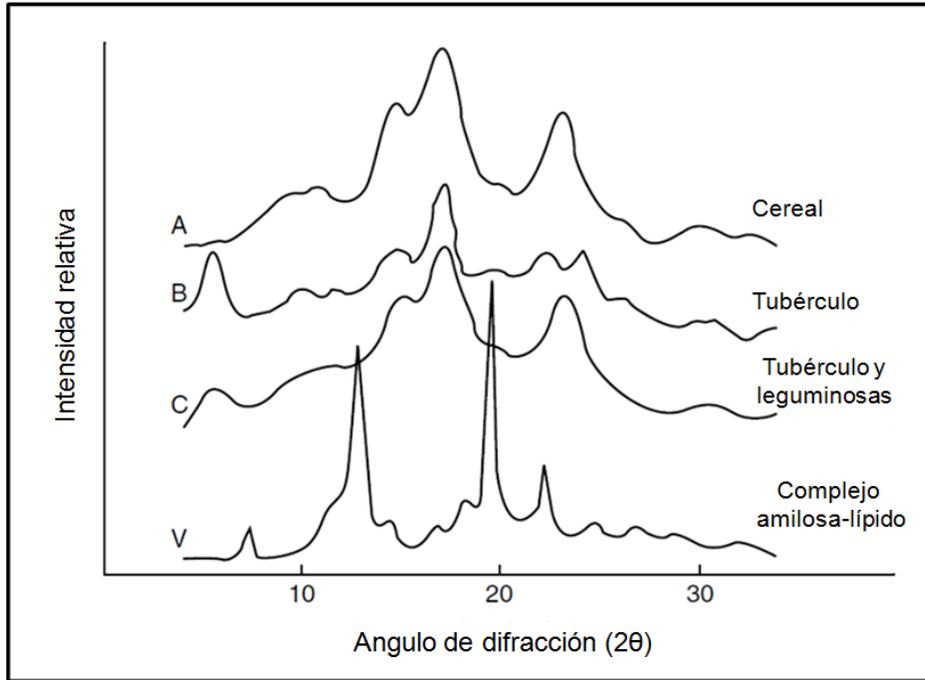


Figura 7. Patrones de difracción de almidones tipo A, B, C y V (Zobel, 1988).

Las características de los tipos de almidón son los siguientes:

- ❖ Tipo A. La estructura de tipo A tiene cadenas de amilopectina de 23-29 unidades de glucosa. Los puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de las cadenas de las moléculas de amilopectina resulta en la formación de una estructura de doble hélice. El canal central está rodeado de 6 dobles hélices y está ocupado por otra doble hélice, haciendo el empaquetamiento más estrecho. En este tipo hay de 4-8 moléculas de agua insertadas entre las dobles hélices. Entre estas celdas, las cadenas lineales de fracciones de amilosa están empaquetadas para formar puentes de hidrógeno con las cadenas externas de amilopectina. Este patrón es muy común en cereales (Figura 8).

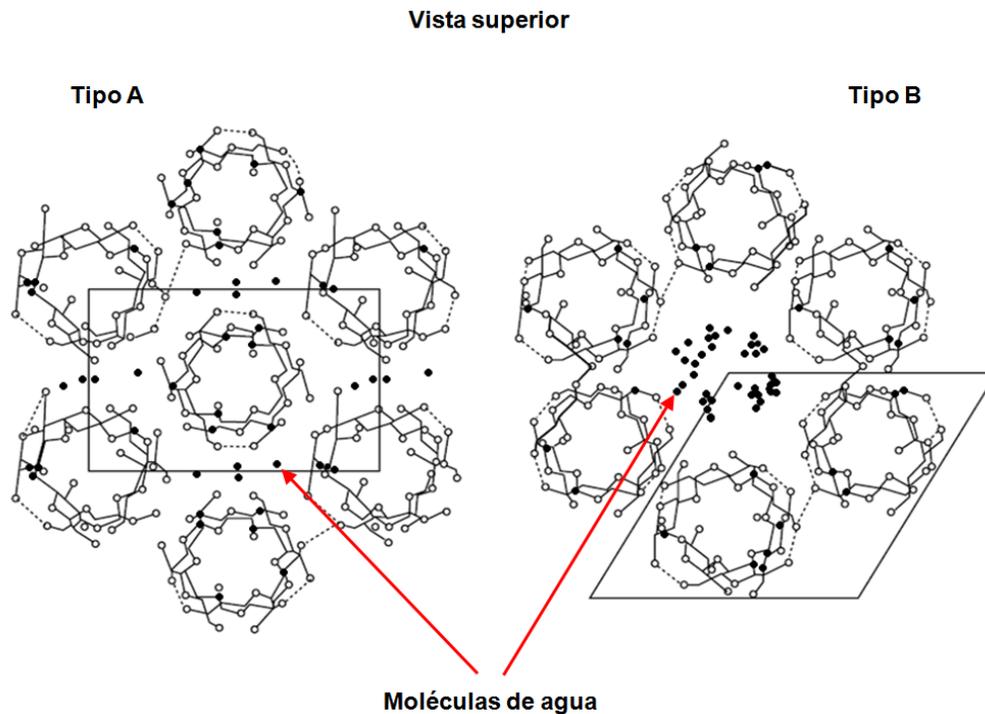


Figura 8. Empaquetamiento de las dobles hélices de amilopectina en base al tipo de patrón de difracción (Galliard, 1987).

- ❖ Tipo B. La estructura tipo B se compone de cadenas de amilopectina de 30-44 moléculas de glucosa con agua inter-difundida. El canal central está rodeado por 6 dobles hélices en donde se encuentran las 36 moléculas de agua. Este patrón es usual en almidones de tubérculos y plátano en estado verde o inmaduro (Figura 8).
- ❖ Tipo C. La estructura tipo C está conformada de cadenas de amilopectina de 26-29 moléculas de glucosa, una combinación de tipo A y tipo B, que es típico en almidón de leguminosas, y también de algunos tipos de almidones que crecieron bajo condiciones de humedad y temperatura específicas (Colonna *et al.*, 1981).

- ❖ Tipo V. Este tipo de complejos de amilosa acomplejada con ácidos grasos y monoacilglicéridos, la cual aparece durante la gelatinización del almidón y es poco usual detectarla en almidones nativos (Gernat *et al.*, 1993).

Un estudio realizado con almidones de maíz con diferentes contenidos de amilosa-amilopectina, reportó que los almidones con mayor contenido de amilosa requerían de menor energía para desorganizar su estructura que aquellos que presentaban mayores contenidos de amilopectina (Kuakpetoon y Wang, 2007).

El almidón tiene una función muy importante en la apariencia, textura y valor nutricional, ya que, la proporción en las que se encuentren la amilosa y la amilopectina en el gránulo de almidón determinará las características fisicoquímicas y a su vez su posible aplicación tecnológica.

2.5.2 Tratamiento térmico del almidón en exceso de agua

2.5.2.1 Gelatinización

La baja solubilidad de los gránulos de almidón a temperatura ambiente es debida a su estructura semicristalina. Cuando el almidón se encuentra en suficiente agua, los gránulos absorben una pequeña cantidad de esta y se hinchan hasta cierto límite (30-50% del peso seco de almidón) (French, 1984). Este proceso es reversible antes de que alcance la temperatura de gelatinización.

Mediante el calentamiento de los gránulos de almidón en exceso de agua, a una cierta temperatura los gránulos de almidón alcanzan el máximo hinchamiento, en la cual la estructura del gránulo se altera significativamente, perdiendo su orden molecular con cambios irreversibles en las propiedades como pérdida de la estructura cristalina nativa (solubilización) y pérdida de

birrefringencia, lo cual indica que las molécula se encuentran desorganizadas (Atwell, 1988). Este proceso es conocido como gelatinización, el cual ocurre a una temperatura denominada temperatura de gelatinización.

La gelatinización del almidón es un proceso endotérmico que corresponde a la disociación de las moléculas de almidón. De acuerdo a la teoría de Jenkins y Donald (1997), el agua entra en las regiones amorfas, causando que estas regiones se desorganicen provocando el estrés suficiente para que el agua llegue a las regiones semicristalinas, resultando en la disrupción de los cristales del almidón, lo que explica la pérdida de cristalinidad. Por otra parte, se ha sugerido también que durante el proceso de gelatinización, el orden de las dobles hélices, así como la estructura cristalina, se pierden simultáneamente durante el calentamiento (Waigh *et al.*, 2000).

Existen varios factores que se deben considerar cuando se lleva a cabo la gelatinización como son: la cantidad de agua, la velocidad de calentamiento y el tipo de arreglo cristalino del almidón. Para tener un entendimiento más claro de la gelatinización del almidón se cuenta con la utilización de la calorimetría diferencial de barrido (CDB), la cual es una herramienta termoanalítica que monitorea cambios en la energía térmica asociada con las transformaciones físicas que ocurren en el almidón (Donovan, 1979).

2.5.2.2 Retrogradación

La retrogradación se presenta durante el almacenamiento prolongado de las dispersiones de almidón gelatinizado. Las moléculas de almidón se presentan en forma amorfa, que gradualmente se reasocian formando cristales, que están compuestos por las dobles hélices de la amilopectina. La formación de las dobles hélices se deben a interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno, los cuales se forman entre las cadenas del almidón. Las moléculas de amilosa retrogradan

más rápido que las moléculas de amilopectina. La formación de dobles hélices en las moléculas de amilosa se presentan inmediatamente después de la gelatinización, por lo cual, la amilosa es la responsable de los cambios reológicos iniciales de las pastas de almidón. Por otra parte, la retrogradación de la amilopectina es más lenta y puede presentarse a lo largo de días o semanas, debido a su estructura altamente ramificada. La velocidad de retrogradación depende de varios factores como son: la longitud de las cadenas de la amilopectina, la concentración de lípidos y derivados monoéster y fosfatos (Srichuwong y Jane, 2007).

2.5.2.3 Propiedades de formación de pasta

La formación de pasta de almidón engloba varios procesos: el hinchamiento del gránulo, la lixiviación de amilosa y eventualmente la desintegración del gránulo (Figura 9) (Atwell, 1988). La amilopectina es la responsable del hinchamiento y viscosidad de la pasta de almidón (Tester y Morrison, 1990). Durante el hinchamiento de los gránulos, los puentes de hidrógeno entre las cadenas de almidón se disocian y son reemplazados por puentes de hidrógeno con las moléculas de agua, lo cual incrementa la viscosidad. La amilosa es el componente principal que lixivia del gránulo y la concentración de la amilopectina solubilizada incrementa conforme la temperatura aumenta. En general, las propiedades de formación de pasta de los almidones son afectadas por la concentración del almidón, la velocidad de calentamiento, el esfuerzo de corte aplicado, contenido de amilosa del almidón, estructura molecular de la amilopectina, tamaño del gránulo y contenido de componentes minoritarios (Srichuwong y Jane, 2007).

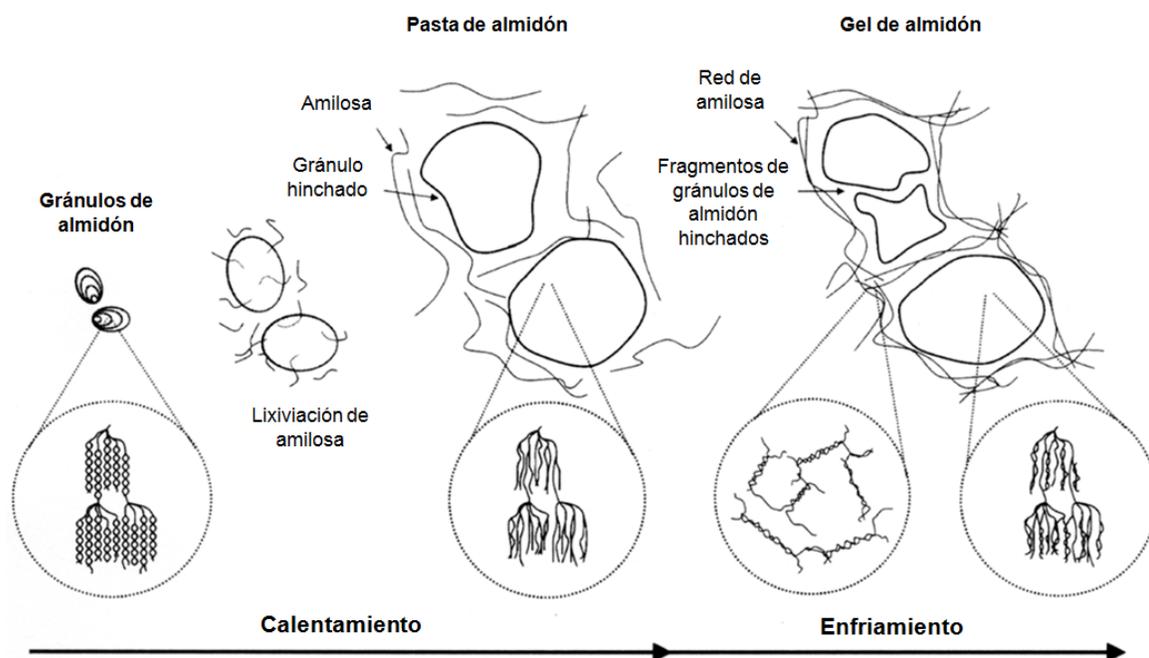


Figura 9. Representación esquemática de las propiedades de formación de pasta del almidón (Srichuwong y Jane, 2007).

Los cambios de viscosidad en las dispersiones de almidón durante el calentamiento, comúnmente son medidos con instrumentos llamados viscoamilógrafos (Brabender, Inc.) y analizadores de viscosidad rápidos (RVA) (Newport Scientific Inst., Warriewood, Australia). Los resultados se reportan en unidades arbitrarias de medición: unidades Brabender (BU) y unidades Visco rápidas (RVU) para el viscoamilógrafo y el RVA, respectivamente. Estos viscosímetros trabajan con programas que controlan el mezclado, calentamiento y enfriamiento, lo que genera perfiles altamente reproducibles de gelatinización y formación de pastas. Los resultados con estas técnicas han resultado ser útiles en la evaluación de la calidad el almidón y su comportamiento como agente espesante en muchos alimentos.

Un perfil típico de viscosidad registrado por RVA se presenta en la Figura 10. Cuando los gránulos de almidón se encuentran por debajo de 50 °C los

gránulos son insolubles, conforme aumenta la temperatura los gránulos de almidón se calientan y absorben grandes cantidades de agua y se hinchan aumentando su tamaño. La viscosidad se incrementa con el cizallamiento cuando estos gránulos hinchados ejercen presión uno sobre otro.

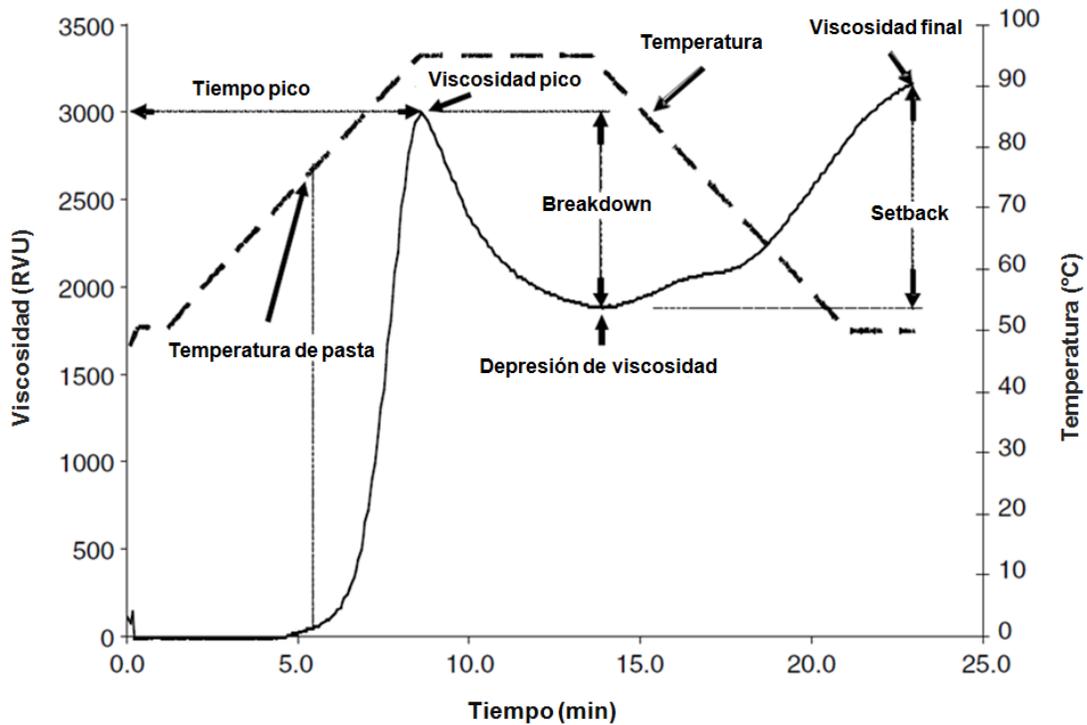


Figura 10. Perfil de viscosidad de almidón de maíz normal, obtenido con un analizador rápido de viscosidad (Liu, 2005).

La temperatura en el inicio de este aumento de viscosidad se conoce como temperatura de formación de pasta. La temperatura de pasta es un indicativo de la mínima temperatura requerida para la cocción del almidón. En este punto, los polímeros de bajo peso molecular, particularmente las moléculas de amilosa, comienzan a lixiviar a partir del gránulo. Durante la formación de pasta, se obtiene un pico de viscosidad, el cual indica que la mayoría de los gránulos se han hinchado. Durante el rompimiento (breakdown), la temperatura se mantiene a

95 °C, registrándose una disminución de la viscosidad, debido al rompimiento de los gránulos hinchados, a la disociación de la amilosa y a que las moléculas de almidón continúan solubilizándose. Por último, en la fase de enfriamiento, la amilosa y la amilopectina solubilizadas empiezan a reasociarse, manifestándose otro incremento en la viscosidad, el cual es conocido como la viscosidad de recuperación (Setback) (Thomas y Atwell, 1999).

2.5.3 Digestibilidad del almidón

El almidón es uno de los principales carbohidratos digeribles en la dieta (Ao *et al.*, 2007), provee la mayor fuente de energía en la dieta humana y contribuye con el 60-70% de los carbohidratos glucémicos o disponibles. Estos se definen como la fracción del almidón digerida por las enzimas digestivas humanas en el tracto gastrointestinal y absorbida al torrente sanguíneo (principalmente como glucosa) (Slaughter *et al.*, 2001).

2.5.3.1 Factores que afectan la digestibilidad del almidón

Los gránulos de almidón tienen un ordenamiento complejo que comprende estructuras amorfas y cristalinas. La digestión del almidón es un proceso en el cual influyen diversos factores que se pueden clasificar como intrínsecos e intrínsecos (Martínez-Puig, 2006).

Dentro de los factores intrínsecos se puede considerar las barreras físicas y la estructura del almidón:

❖ Barreras físicas:

- a) Tamaño de partícula, afecta la digestión del almidón, debido a que las partículas más pequeñas brindan una mayor área de contacto, lo que

facilita la acción de las amilasas y se digieren más rápidamente que las partículas con mayor volumen (Lehmann y Robin, 2007).

- b) Matriz proteica, en algunos casos, los gránulos de almidón pueden estar encapsulados en una matriz proteica, por lo que la proteína debe ser degradada por proteasas para que la actividad de la amilasa pueda ser efectiva (Tovar *et al.*, 1992).
- c) Complejo amilosa-lípido, en almidón de cereales restringen la capacidad de hidrólisis por las amilasas, ya que evita la hidratación del gránulo, dificulta la penetración de las amilasas y restringen la actividad hidrolítica (Holm *et al.*, 1983).

❖ Estructura del gránulo de almidón:

- a) Estructura cristalina, es un factor que determina la susceptibilidad de las amilasas. Los gránulos con patrón de difracción tipo B y C (papa, plátano verde y leguminosas) y tamaños moleculares más grandes, son más resistentes a las amilasas que los que tienen un patrón de difracción tipo A (cereales) (Zhang *et al.*, 2006).
- b) Tamaño de gránulo, los gránulos de mayor tamaño tienen menos superficie en relación al volumen, por lo que la capacidad de enlace por parte de las amilasas y consecuentemente su actividad hidrolítica es menor que en los gránulos más pequeños (Lehmann y Robin, 2007).
- c) Composición del gránulo, la proporción de amilosa y amilopectina es otro factor que afecta la digestibilidad del almidón debido a que las regiones amorfas (amilosa) son más susceptibles a la amilólisis que las regiones cristalinas (amilopectina), así como la presencia de enlaces α -(1-6) ya que estos obstaculizan la acción de la enzima α -amilasa (Colonna *et al.*, 1992; Lehmann y Robin, 2007).

Como parte de los factores extrínsecos se puede considerar al tipo de procesado, en el cual se puede considerar a aquellos procesos tecnológicos como

la molienda, los tratamientos térmicos, así como la modificación del gránulo de almidón.

- ❖ Gelatinización, los almidones gelatinizados son menos resistentes a la hidrólisis enzimática que los crudos, debido a que la gelatinización produce cambios irreversibles en los cuales se destruye la estructura semicristalina del gránulo de almidón.
- ❖ Retrogradación, durante el procesamiento de los alimentos la amilosa retrograda más fácilmente que la amilopectina, lo cual afecta también la digestibilidad del almidón en el intestino delgado, presentando además una resistencia elevada a la degradación microbiana en el intestino grueso. Almidones con este nivel de resistencia tienen limitado valor nutritivo, comparado con otros almidones fermentables y podrían ser considerados análogos de la celulosa (Martínez-Puig, 2006).
- ❖ Modificaciones, de tipo físico, químico y enzimático, en las cuales existen cambios irreversibles, en la estructura molecular del almidón. La digestibilidad del almidón se ve interrumpida debido a que estas modificaciones impiden que las amilasas puedan reconocer sitios activos para romper los enlaces glucosídicos entre monosacáridos.

2.5.3.2 Digestión del almidón

La digestión del almidón inicia en la boca cuando el alimento se mezcla con la α -amilasa salival, la cual rompe enlaces α -1,4 liberando maltosas, maltotriosas y dextrinas a partir de las moléculas de almidón. La masticación contribuye a aumentar la superficie de contacto, facilitando el acceso de la enzima a los sitios de hidrólisis, la digestión salivar continúa en el esófago y en la parte esofágica del estómago.

En el estómago, el pH ácido inactiva a la α -amilasa salival, y no es hasta el duodeno en donde el pH se neutraliza, por lo que las enzimas pancreáticas y de

la mucosa intestinal pueden actuar. La α -amilasa pancreática es muy similar a la salivar; sin embargo, esta última no hidroliza enlaces al azar, sino que presenta una tendencia a actuar sobre los extremos, produciendo residuos de maltosa. Los productos de esta hidrólisis para la amilosa son: maltosa, maltotriosa y glucosa, mientras que para la amilopectina son: maltosa, maltotriosa, α -dextrinas y glucosa (Eliasson, 1996). Estos productos se difunden de la superficie luminal hacia los enterocitos (borde de cepillo) de la mucosa intestinal, en donde se encuentran una serie de carbohidrasas, entre ellas se encuentran las maltasas que convierten la maltosa en glucosa y las isomaltasas las cuales hidrolizan los enlaces α -1,6 de isomaltosas y α -dextrinas. La glucosa resultante de estos procesos de hidrólisis enzimática atraviesa la membrana del borde de cepillo por difusión simple; posteriormente, la glucosa atraviesa la membrana basolateral mediante transporte activo ingresando a los capilares sanguíneos y al sistema venoso porta para ser transportada al hígado. En el organismo humano el hígado desempeña una función central en el metabolismo de los carbohidratos, manteniendo la regulación de glucosa en sangre, en donde participan las hormonas (Insulina y glucagón), los metabolitos (adenosina-5'-trifosfato (ATP)) y las coenzimas (acetil-coenzima A (acetil-CoA)). Entre las capacidades importantes del hígado figura la de poder almacenar el exceso de glucosa en forma de glucógeno, para luego liberarla según la necesidad fisiológica (función amortiguadora). Si las reservas de glucógeno se agotan, el hígado puede obtener glucosa sintetizándola de nuevo por medio de la gluconeogénesis (Koolman y Röhm., 2004).

2.5.3.3 Fracciones del almidón

Hasta hace algunos años, se pensaba que prácticamente todo el almidón era digerido y absorbido en el intestino delgado. Años más tarde se comprobó que aproximadamente entre el 8 y el 10% del almidón contenido en la dieta no era digerido es decir, mostraba resistencia al ataque enzimático de las secreciones intestinales, surgiendo así el término de almidón no digerible o almidón resistente.

Englyst y colaboradores (1992) propusieron una clasificación del almidón de acuerdo a sus propiedades de digestión, basada en un método *in vitro*. La clasificación de las fracciones es: almidón de digestión rápida (ADR), almidón de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR).

- ❖ ADR es aquella fracción en que la cantidad de glucosa es liberada después de los 20 min de hidrólisis.
- ❖ ADL es la fracción de almidón en que la cantidad de glucosa es liberada entre 20 y 120 min después de la hidrólisis.
- ❖ AR es la cantidad de almidón que no es hidrolizado después de los 120 min de la hidrólisis.

Los factores que determinan la respuesta glucémica de un alimento es la velocidad de digestión que éstos tienen (ADR, ADL y AR); por lo tanto, la velocidad de liberación de los carbohidratos en el proceso de digestión se ve reflejada en la respuesta de la glucosa en sangre.

Por otra parte, también existen factores intrínsecos y extrínsecos que pueden alterar la velocidad de la movilidad gastrointestinal así como también la digestión y absorción del almidón; estos factores pueden ser el método de cocción, tamaño de partícula, la presencia de fibra, grasa y proteínas, y todo esto puede verse reflejado en el índice glucémico (IG). En este sentido, existen algunos alimentos tradicionales que muestran índices glucémicos bajos como son las pastas, panes integrales de centeno, etc.

2.5.3.4 Almidón de digestión lenta (ADL)

Los efectos metabólicos de los carbohidratos, en particular de la glucosa, están relacionados con la velocidad de absorción de los carbohidratos después de una comida (glucosa postprandial) (Ells *et al.*, 2005). El almidón de digestión lenta

libera glucosa en un periodo de tiempo entre los 20 y 120 min en el intestino delgado, por lo que hay un nivel sostenido de glucosa postprandial en sangre. En el caso del ADR, el nivel de glucosa en sangre incrementa rápidamente, no se mantiene y disminuye de manera rápida (Englyst *et al.*, 1992). Como se mencionó, la respuesta metabólica y hormonal depende de la glucemia postprandial y, por lo tanto esta característica hace que el ADL tenga diferencias fisiológicas con respecto al ADR. Esto puede tener implicaciones para el rendimiento físico y mental, así como para el control de la diabetes y la saciedad (Lehmann y Robin, 2007). Dentro de los pocos estudios, se ha reportado que las concentraciones de glucosa, insulina y ácidos grasos fueron más altos cuando se consumió ARD, en comparación con el ADL (Ells *et al.*, 2005).

2.5.3.4.1 Importancia fisiológica del ADL

Actualmente, existen nuevos desafíos en la industria alimentaria para la elaboración de productos saludables con perfiles de digestión a la medida, que proporcionen suministros de energía rápido o lento, y una fuente de fibra dietética, que ayuden a superar los problemas de salud (Lehmann y Robin, 2007).

Diversas investigaciones reportaron que una cantidad alta de glucosa rápidamente liberada (GRL) presente en un alimento, tiene un IG y una respuesta insulinémica alta. En cambio, los productos que presentaron contenido alto de glucosa lentamente liberada (GLL), mostraron una correlación positiva con un IG y respuesta insulinémica baja (Englyst *et al.*, 2003; Ells *et al.*, 2005). La lenta y prolongada liberación de glucosa durante la hidrólisis del almidón puede reducir los factores de riesgo de que se llegue a presentar un síndrome metabólico como la obesidad, diabetes e hipertensión (Seal *et al.*, 2003).

La ingesta de productos alimenticios elaborados con alto contenido de ADL manifiesta una respuesta metabólica benéfica a pacientes con diabetes tipo II

(Axelsen *et al.*, 1999; Seal *et al.*, 2003; Ells *et al.*, 2005). Estudios epidemiológicos han mostrado que reduce los episodios de hipoglucemia, mejorando la respuesta de lípidos, disminuyendo la concentración de hemoglobina glucosilada y fructosamina, y una mayor sensibilidad a la insulina, los cuales son benéficos para el control de la diabetes (Wolever, 2003). Otro estudio mostró que el consumo de alimentos con ADL en pacientes tratados con insulina mejora en cuanto a la reducción del requerimiento de insulina (Golay *et al.*, 1992).

El consumo de alimentos con IG bajo permite prolongar la saciedad durante un periodo de tiempo sostenido, disminuyendo el deseo de comer, por lo que puede emplearse en pacientes que lleven un programa de pérdida de peso (Han y BeMiller, 2007). También se pueden elaborar productos que sean utilizados por los atletas, debido a que el ADL proporcionará un tiempo prolongado y constante de fuente de glucosa sistémica (Wolf *et al.*, 1999).

El consumo de alimentos que contienen ADL pueden afectar la viscosidad en el tracto gastrointestinal, por lo que su consumo puede ayudar en la prevención o reducción de la prevalencia de enfermedades cardiovasculares y diabetes (Cook *et al.*, 2003; Hu *et al.*, 2004; Giugliano *et al.*, 2006). El AR al no ser digerido, como sucede con el ADL, es una fuente potencial de energía para la microflora presente en el colon (Björck y Asp, 1994).

La glucosa es el combustible primario para el cerebro. Se ha demostrado que los niveles de glucosa en sangre pueden influir en el rendimiento intelectual, particularmente en la memoria y en etapas de esfuerzo prolongado. La propuesta en este estudio es que un desayuno alto en ADL puede ayudar a contrarrestar el descenso en el rendimiento durante la mañana en comparación con carbohidratos rápidamente disponibles. Estos efectos positivos se muestran con 7.9 g de ADL consumidos en voluntarios sanos (Benton y Nabb, 2003.).

2.5.3.5 Almidón resistente (AR)

Durante mucho tiempo se consideró al almidón como un carbohidrato digerido y absorbido totalmente en el intestino delgado. Sin embargo, se conoce que una porción del almidón presente en los alimentos, llamada AR, escapa a la digestión enzimática en el intestino delgado y es fermentada en el colon por la microflora (Shamai *et al.*, 2003). Diferentes grupos de trabajo de la comunidad Europea en un proyecto conocido como EURESTA definen al AR como “la suma del almidón y sus productos de degradación que no son hidrolizados ni absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos y es fermentada en el colon por la microflora” (EURESTA, 1992). El contenido de AR en un alimento es muy dependiente del grado de procesamiento, el cual puede resultar en un incremento o decremento en su contenido con respecto a lo encontrado en forma cruda. Debido a esto, el AR debe medirse en los alimentos como estos normalmente son consumidos (Champ *et al.*, 2003; Englyst *et al.*, 2005).

El AR se clasifica en cuatro diferentes tipos (Englyst y Cummings, 1986).

AR1: Almidón físicamente inaccesible, éste se encuentra encapsulado dentro de las paredes celulares de las plantas. Este tipo de almidón se encuentra en granos y semillas parcialmente molidos y leguminosas (frijol y lenteja), las cuales también son fuentes de almidón (Champ *et al.*, 2003).

AR2: Almidón nativo en forma granular, los cuales presentan fracciones no gelatinizadas de almidón, por lo que resiste la digestión enzimática. Los gránulos de almidón nativo se encuentran empaquetados de forma radial y están relativamente deshidratados. Esta estructura densa y cristalina limita la accesibilidad de las enzimas digestivas (Gallart *et al.*, 1992).

AR3: Almidón presente en la mayoría de los alimentos que han sido sometidos a un proceso de cocción, enfriados y posteriormente almacenados por varias horas.

Corresponde al almidón retrogradado, que es el almidón que se ha reorganizado después de la gelatinización. Este tipo de almidón es producto de los cambios que han ocurrido en las moléculas de la amilosa y la amilopectina (Champ *et al.*, 2003).

AR4: Almidón modificado obtenido por varios tratamientos químicos, fisicoquímicos y enzimáticos que interfieren con la digestión de las enzimas.

2.5.3.5.1 Importancia fisiológica del AR

Los efectos fisiológicos de los carbohidratos indigeribles dependen de la interacción de las bacterias con los carbohidratos y con sus productos de fermentación. Se pueden observar efectos en la composición de la flora bacteriana y en su actividad enzimática, cambios en las condiciones ecológicas del intestino y repercusiones positivas y negativas del huésped. La mayor parte de los efectos se relacionan directa o indirectamente con la producción de los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Aparicio-Saguilán, 2007).

Como resultado de diferentes investigaciones científicas, se ha remarcado la importancia del consumo de almidón resistente, debido a que sus funciones son similares a las de la fibra dietética (Asp, 1994; Eerlingen y Delcoour, 1995).

La fermentación del AR en el colon produce AGCC, los cuales disminuyen el pH intestinal y ejercen un efecto vasodilatador local (Rombeau *et al.*, 1990), por lo que incrementa la absorción de agua y sales en el intestino grueso (Lutz y Scharrer, 1991), además de que incrementa el bolo fecal, lo que favorece una mejor evacuación.

Los AGCC ayudan a estimular la velocidad de tránsito, debido a que constituyen estímulos químicos de la motilidad intestinal, que junto con los

estímulos mecánicos producidos por el incremento de gases y la masa bacteriana, producen una mejor evacuación de las heces fecales (Richardson *et al.*, 1991).

2.5.3.6 Características estructurales del ADL y AR

En la actualidad, se han realizado algunas investigaciones tratando de relacionar el contenido de ADL y AR, con la estructura de los componentes del almidón. Estos estudios muestran los diferentes aspectos que provocan la digestión lenta del almidón, así como la disminución de la accesibilidad y la acción de las enzimas hidrolíticas. Algunos de los aspectos importantes para la digestión lenta de almidones gelatinizados es la estructura molecular, que contempla la longitud de cadena, densidad de ramificaciones, porcentaje de cristalinidad, etc., así como una entidad física que es producida principalmente por la retrogradación del almidón (Zhang *et al.*, 2008a y b).

Lehmann y Robin (2007) demostraron que la longitud de cadena de la amilopectina se correlaciona con la digestibilidad, debido a que cadenas cortas en las dobles hélices (cristal tipo A), son digeridas lentamente, mientras que, las cadenas largas (cristal tipo B) forman hélices más estables en la región cristalina, que producen una disminución en la digestibilidad, proporcionando una mayor cantidad de AR.

Zhang y colaboradores (2008a) realizaron experimentos en almidón de maíz, encontrando una correlación parabólica entre la relación de cadenas cortas y largas de la amilopectina y el contenido de ADL, proponiendo entonces que pueden existir dos estructuras diferentes de la amilopectina que favorecen el incremento de esta fracción: una en donde sus cadenas son largas pero con pocas ramificaciones y otra en donde las cadenas son más cortas pero con un incremento en la cantidad de ramificaciones.

Existe una correlación entre el contenido de amilosa y la producción de AR en almidones retrogradados (Silgeström *et al.*, 1989; Pomeranz, 1992). En cuanto al tamaño de las cadenas de amilosa y la formación de AR, Eerlingen *et al.* (1993) concluyeron que diversos tamaños de amilosa inducen la producción de AR con un GP entre 19 y 26, con un patrón de cristalinidad tipo B.

2.5.4 Almidón de plátano

Actualmente en México, se está en la búsqueda de recursos ricos en almidón contemplando nuevas alternativas de materias primas que puedan sustituir a los cereales considerados como fuente tradicional de obtención de almidón.

Una alternativa es el empleo del plátano en estado verde o inmaduro. Diversas investigaciones muestran que el almidón de plátano representa una alternativa resistencia al ataque por las enzimas digestivas.

2.5.4.1 Estructura del almidón de plátano

La funcionalidad de los almidones depende de algunas características como la proporción de amilosa/amilopectina, tamaño molecular, estructura y de las características del gránulo. El almidón nativo de plátano se presenta en gránulos ovalados (Figura 11), con una longitud promedio de 40 μm y un radio promedio de 20 μm (Espinosa-Solis, 2009). Tiene un contenido de amilosa de 37% y un patrón de difracción de rayos X tipo C (mezcla de los patrones A y B) (Millan-Testa *et al.*, 2005), que dependiendo de la variedad, condiciones de crecimiento (medio ambiente) y la técnica de aislamiento del almidón (Zhang *et al.*, 2005) puede variar. Otros estudios han reportado patrones de cristalinidad tipo A (Bello-Pérez *et al.*, 2000) o tipo B (Faisant *et al.*, 1995) para el almidón de plátano nativo de la especie *Musa paradisiaca*.

Espinosa-Solis (2008) realizó una caracterización del almidón nativo de plátano, en el cual reportó un contenido de amilosa aparente de 36.2%, con un peso molecular de 3.371×10^8 g/mol, así como un estudio de la distribución de longitud de cadenas de amilopectina, el cual presentó una menor proporción de cadenas cortas (20.5%) con GP 6-12 y una mayor proporción de cadenas largas (18.6%) con $GP \geq 37$, en comparación con el almidón de maíz. La distribución de longitud de cadenas y el GP están directamente relacionadas con las propiedades de digestión y las características fisicoquímicas.

2.5.4.2 Digestibilidad del almidón de plátano

En base a las características fisicoquímicas y funcionales del almidón de plátano, diversos estudios han reportado que este almidón presenta resistencia al ataque por las enzimas α -amilasa y glucoamilasa.



Figura 11. Micrografía electrónica de barrido del almidón nativo de plátano (800X).
(Aparicio-Saguilán, 2007).

Resultados *in vivo* mostraron que entre el 75-84% de los gránulos de almidón ingeridos se encontraron en la sección final del intestino delgado (íleon) (Englyst y Cummings, 1986; Faisant *et al.*, 1995a). Además, la resistencia a la hidrólisis que presenta el almidón de plátano disminuye al ser sometido a un proceso de cocción (González-Soto, 2006).

Hasta el momento, no hay muchos estudios que describan las fracciones del almidón de plátano con respecto a su velocidad de digestión; sin embargo, Englyst *et al.* (1992) reportaron 3% de ADR, 15% de ADL y 57% de AR en harina de plátano que contenía 75% de almidón total.

2.5.5 Modificación del almidón

Desde hace mucho tiempo el almidón nativo (aquel que se encuentra en su forma natural o que no ha sufrido ningún tipo de modificación), se ha utilizado como materia prima para preparar diferentes productos alimenticios. Sin embargo, este almidón tiene una baja resistencia a los esfuerzos de corte, es altamente susceptible a altas temperaturas, pH ácidos o extremos, a la retrogradación, sinéresis y a la hidrólisis enzimática. Estos inconvenientes pueden ser superados por medio de una modificación. La modificación del almidón incluye aquel almidón que ha sido sometido a uno o más tratamientos físicos, químicos o enzimáticos, donde se promueven alteraciones de los gránulos en su estructura molecular.

Actualmente, se han reportado diversos estudios acerca de la importancia atribuida al almidón de digestión lenta y al almidón resistente en la salud, en la prevención de ciertas enfermedades. Diferentes grupos de investigación así como industrias, se han dado a la tarea de desarrollar metodologías de modificación que permitan la obtención de materiales ricos en ADL y AR, los cuales puedan ser adicionados como ingredientes en diversos productos alimenticios (Wongsagonsup *et al.*, 2008).

2.5.5.1 Modificación física del almidón

La modificación de tipo físico incluye el “tratamiento con humedad y temperatura” (THT) y el “annealing” (anillado) (ANN), las cuales son metodologías hidrotérmicas empleadas para modificar las propiedades de los almidones (Stute, 1992). En el THT, el almidón es sometido a un porcentaje de humedad bajo (<35% humedad p/p) a temperaturas que generalmente se encuentran por encima de las temperaturas de transición vítrea y de gelatinización (70-120 °C), en un periodo de tiempo (15 min-24 h). En el ANN, el almidón es sometido a un exceso de humedad (>60% humedad p/p) o a una humedad intermedia (40-55% humedad p/p) a temperaturas por encima de la temperatura de transición vítrea pero por debajo de la temperatura de gelatinización (20-50 °C), en un periodo de tiempo (30 min-72 h) (Stute, 1992; Jacobs *et al.*, 1998). Las modificaciones en los componentes del gránulo de almidón van a depender de diferentes factores como son: el tamaño y la forma del gránulo, la relación amilosa-amilopectina y la fuente botánica.

Al realizar un tratamiento THT bajo condiciones bien controladas, se modifican las propiedades fisicoquímicas del almidón, mientras que se mantiene la estructura granular y la birrefringencia. Estos cambios dependen de las condiciones de humedad durante el tratamiento (Stute, 1992; Jacobs *et al.*, 1998). El THT produce cambios en la cristalinidad del gránulo de almidón (cambio de polimorfismo), en los cuales hay una reorganización o un mayor grado de interacciones entre las cadenas de amilosa-amilosa, amilosa-amilopectina, y el incremento de la cantidad de complejos amilosa-lípido. Este tratamiento físico ha demostrado incrementar la temperatura de gelatinización, reduciendo el valor de entalpía, el hinchamiento del gránulo, la lixiviación de la amilosa y aumentando la estabilidad de pasta (Hormdok *et al.*, 2007).

El THT se ha utilizado para modificar las propiedades nutricionales del almidón, así como para incrementar el AR (Sajilata *et al.*, 2006). Diversos autores han reportado el impacto del THT en la formación de ADL, dependiendo de la

temperatura y del contenido de humedad (Shin *et al.*, 2005). Niba (2003) investigó el efecto del THT, la temperatura de almacenamiento y la digestibilidad en harinas de maíz, papa, cocoyam, plátano, ñame y arroz. La digestibilidad se incrementó para las harinas de cocoyam, maíz, papa y arroz, y disminuyó en harina de plátano. Sin embargo, para todas las harinas la fracción de ADL aumentó. El almacenamiento a una temperatura de enfriamiento incrementó la fracción de ADL de las harinas de plátano y ñame.

En la actualidad, las modificaciones físicas del almidón se consideran más seguras que aquellas en las cuales emplean sustancias químicas, considerando al TMT como un método adecuado en alimentos (Maache *et al.*, 2008).

2.6 Fracción indigerible

La mayor proporción de los carbohidratos contenidos en los alimentos pueden ser utilizados (biodisponibles) por el organismo, ya sea en la proporción de intestino delgado o de intestino grueso. El conjunto de compuestos que resisten a la digestión en el intestino delgado se denomina como fracción indigerible (FI) de los alimentos. La fracción indigerible se define como aquella parte de los alimentos que no es digerida o absorbida en el intestino delgado y que se libera en el colon, en donde es fuente de sustrato para la microflora (Saura-Calixto *et al.*, 2000). Esta fracción no sólo comprende a los componentes de la fibra dietética, si no también otros compuestos que proveen resistencia a la acción de las enzimas digestivas tales como almidón resistente, proteína resistente, ciertos polifenoles y otros compuestos asociados de importancia nutricional (Saura-Calixto y Goñi, 2004).

La FI total, a su vez se divide en: fracción indigerible soluble (FIS), la cual está constituida por los componentes de la fibra soluble (pectinas, gomas y mucílagos), oligosacáridos; y la fracción indigerible insoluble (FII), que engloba a los componentes de la fibra insoluble (celulosa, hemicelulosa y lignina), almidón

resistente, proteína resistente, taninos condensados y minerales (Saura-Calixto *et al.*, 2000).

La determinación de la FI es una alternativa para estudiar a la fibra dietética, debido a que la determinación de esta última subestima algunos componentes que resisten a la digestión. El uso de la FI es una alternativa para evaluar valores más cercanos a la cantidad de sustrato que se pudiera liberar en el colon, además de que imita las condiciones fisiológicas y evita las modificaciones artificiales de la digestibilidad de los nutrientes así como algunos errores asociados a la determinación analítica de la fibra (Saura-Calixto y Goñi, 2004).

Se ha reportado que el valor de la FI es mayor a su correspondiente valor de fibra dietética, por lo que el valor de la fibra pudiera estar subestimando el porcentaje del alimento que no es digerido y fermentado en el colon (Trujillo-Hernández, 2010). Sin embargo, el concepto de FI, hasta ahora, no ha sido ampliamente acogido por la comunidad científica, por lo que aún queda hacer estimaciones sobre su relación con la fibra.

III. JUSTIFICACIÓN

Hoy en día la tendencia en la nutrición para ayudar a mejorar salud se ha enfocando en ingredientes ó alimentos con un alto contenido de carbohidratos indigeribles y carbohidratos de digestión lenta. La industria alimentaria se ha interesado cada vez más en desarrollar ingredientes nutracéuticos que puedan generar efectos benéficos a la salud al ser consumidos. Uno de los ingredientes más utilizados en los alimentos es el almidón, el cual es ampliamente estudiado por su digestibilidad y el efecto que ejerce en el metabolismo del cuerpo humano. Una fuente alternativa de almidón con una alta resistencia a la hidrólisis por las enzimas digestivas se presenta en el plátano verde. La elaboración de una harina de plátano verde representa una gran cantidad de carbohidratos indigeribles que puede aprovecharse para el desarrollo de un ingrediente nutracéutico, lo cual representa la diversificación del uso de este fruto. Sin embargo, cuando la harina de plátano verde se ha sometido a tratamientos de cocción, parte de sus carbohidratos se pueden transformar en digeribles. Por lo que se han buscado tratamientos que ayuden a mantener un alto contenido de almidón indigerible y de digestión lenta. Diversos estudios han utilizado las modificaciones de tipo físico, químico y enzimático para incrementar las fracciones del almidón de digestión lenta y almidón resistente, estos métodos se han llevado a cabo en almidones aislados, lo que incrementa el costo de producción de dichos almidones modificados.

El presente trabajo involucra usar la harina de plátano verde, que puede representar materia prima de bajo costo y emplear una modificación física (tratamiento hidrotérmico) y almacenamiento en condición de congelamiento, para así incrementar el almidón de digestión lenta y carbohidratos indigeribles, y evaluar a este ingrediente en función de los atributos moleculares, fisicoquímicos y de digestibilidad.

IV. OBJETIVOS

4.1 General

Evaluar el incremento de almidón de digestión lenta y carbohidratos indigeribles de la harina de plátano verde (*Musa paradisiaca L.*) modificada físicamente (THT).

4.2 Específicos

1. Modificar físicamente a la harina de plátano verde mediante la aplicación de tratamientos hidrotérmicos y de almacenamiento.
2. Evaluar las propiedades fisicoquímicas y estructurales de la harina de plátano verde cruda y modificada.
3. Evaluar la digestibilidad *in vitro* de la harina de plátano verde cruda y modificada.
4. Determinar la fracción indigerible de la harina de plátano verde cruda y modificada

V. MATERIALES Y METODOLOGÍA

5.1 Materiales

5.1.1 Material empleado.

Se empleó plátano macho (*Musa paradisiaca* L.), en estado fisiológico inmaduro (verde) con una longitud de 25 a 30 cm, el cual se obtuvo de la Central de Abastos de Cuautla, Morelos, México.

5.2 Métodos

5.2.1 Cocción del plátano verde

El fruto verde se dividió en cuatro grupos con peso similar, tres de ellos fueron sumergidos en un baño de agua hirviendo (100°C); el primero durante 5 min (5*), el segundo durante 15 min (15*) y el tercero durante 25 min (25*). Después del tiempo establecido los frutos se retiraron del baño de agua en ebullición y se colocaron en un baño de hielo (3-4 °C) hasta que la temperatura del centro del fruto alcanzó 20 °C. El perfil de temperatura en el centro de la fruta durante la etapa de enfriamiento fue determinado con un termómetro digital (Radioshack, EU); el cuarto grupo que no se sometió a cocción (crudo) se utilizó como control.

* Tiempo de cocción del plátano verde (min).

5.2.2 Obtención de harina de plátano

Los grupos de plátano verde crudo y cocidos se descascararon y se cortaron en rebanadas (aproximadamente de 1 cm de grosor), las rebanadas se sumergieron en una solución de ácido cítrico (0.5 g/L), se colocaron en charolas de acero inoxidable y se sometieron a un proceso de secado por convección a 40 °C durante 24 h. Las muestras se molieron en un molino (Sample Mill, modelo 1093) y fueron tamizadas por malla 50 (0.295 mm) para obtener las harinas de plátano verde cruda (HPVC) y cocidas por 5 min (HPV5*), 15 min (HPV15*) y 25 min (HPV25*).

5.2.3 Modificación física del almidón (Tratamiento con humedad y temperatura)

Las harinas de plátano verde se dividieron en tres porciones, la primera porción se mantuvo sin modificación, la segunda porción se modificó con el tratamiento con humedad y temperatura (THT) y a la tercera porción se le aplicó el tratamiento con humedad y temperatura y posteriormente se utilizó una condición de almacenamiento (THT+A).

El tratamiento con humedad y temperatura de las harinas de plátano se realizó de la siguiente manera: Las harinas de plátano se pesaron (base seca) en envases de vidrio. El contenido de humedad de las harinas se llevó a 30% mediante la adición de la cantidad apropiada de agua destilada mezclando homogéneamente. Los recipientes se sellaron y se mantuvieron 24 h a temperatura ambiente, y luego se les aplicó el tratamiento térmico, manteniéndolos a 100 °C durante 24 h en un horno de convección. Después del tiempo transcurrido, los frascos se dejaron templar y se abrieron para secar las muestras de harina a 40 °C, posteriormente se molieron y se tamizaron por malla 50 (0.295 mm). Las harinas modificadas se mantuvieron en bolsas plásticas herméticas hasta su análisis. El tratamiento de almacenamiento se realizó de la

siguiente manera: después del tratamiento térmico a 100 °C, los contenedores de vidrio sellados se mantuvieron en refrigeración a – 20 °C durante 72 h, posteriormente las harinas se secaron a temperatura ambiente, se molieron y tamizaron por malla 50 y se mantuvieron en bolsas de plástico hasta su análisis.

5.2.4 Análisis proximal

Se determinaron las siguientes características a todas las harinas de plátano verde:

5.2.4.1 Humedad

Se determinó por el método oficial 44-19, de la AACC (2000). Se pesaron 0.5 g de muestra (base seca) en charolas de aluminio (previamente a peso constante), se colocaron en una estufa a 100 ± 1 °C durante 3 h, y posteriormente se enfriaron en un desecador por 20 min. Finalmente se pesaron y se determinó la humedad por diferencia de peso con la siguiente ecuación.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso de muestra (g)} - (\text{Peso final (g)} - \text{Peso de charola (g)})}{\text{Peso de la muestra en base seca (g)}} \times 100$$

5.2.4.2 Cenizas

Se analizaron con el método 08-01 de la AACC (2000). Se pesó 1 g de muestra (base seca) en un crisol (a peso constante), se carbonizó la muestra sobre la flama de un mechero y se introdujo en la mufla a 550 ± 1 °C por 5 h. Cuando las cenizas se pusieron blancas, se enfrían en un desecador. Finalmente se pesaron y se calculó el porcentaje de cenizas como:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso del residuo (g)}}{\text{Peso de la muestra en base seca (g)}} \times 100$$

5.2.5 Análisis químico

Se determinó el contenido de almidón total a todas las harinas de plátano verde:

5.2.5.1 Almidón total (AT)

El contenido de almidón total se evaluó por el método de Goñi y colaboradores (1997), el cual se fundamenta en cuantificar la glucosa liberada como resultado de la hidrólisis enzimática con amiloglucosidasa, que hidroliza los enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$ y $\alpha(1 \rightarrow 6)$ de las cadenas de amilosa y amilopectina. Para ello se pesaron 50 mg (base seca) de muestra, la cual se dispersó con 3 mL de agua destilada y 3 mL de hidróxido de potasio (KOH) 4M se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se agregaron 3 mL de regulador de acetato sódico (CH₃COONa) (pH 4.7) 0.4 M y 5.5 mL de ácido clorhídrico (HCl) 2M para ajustar a pH 4.75. Se adicionaron 60 μ L de amiloglucosidasa (300 U/mL; Sigma, A7095), se incubó en un baño de agua a 60 °C durante 45 min con agitación constante. Se centrifugó a 3000 g durante 15 min y se recolectó el sobrenadante en un matraz aforado de 50 mL. Se agregaron al residuo 10 mL de agua destilada con el fin de lavarlo, se centrifugó y se recolectó el sobrenadante nuevamente. Para determinar la cantidad de glucosa liberada durante la hidrólisis enzimática, se tomaron 50 μ L del contenido del matraz aforado y se transfirieron a tubos que contenían 1 mL de reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa (GOD/POD), se incubaron por 10 min a 37 °C y se leyó la absorbancia a 510 nm con un espectrofotómetro Espectronic Genesys 5 (Spectronic Instruments, Inc. Rochester, N. Y., EU). Las muestras se leyeron a la par con una curva patrón de glucosa para calcular la concentración de

glucosa a través de un análisis de regresión lineal. El porcentaje de almidón total se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ AT} = \frac{(\mu\text{g de glucosa/mL}) \times (50) \times (0.9)}{\mu\text{g muestra en base seca (g)}} \times 100$$

Donde:

0.9 = Factor de transformación de glucosa a glucano.

50 = Factor de dilución.

5.2.6 Caracterización fisicoquímica y molecular

5.2.6.1 Microscopía de luz polarizada

El análisis se realizó con un microscopio de luz polarizada (Leitz-Wetzlar, Alemania) con un objetivo de 40X, equipado con una cámara digital. Las muestras de harina se espolvorearon en un portaobjetos y se agregó una gota de agua destilada, se mezcló con una espátula y posteriormente se colocó un cubreobjeto.

5.2.6.2 Amilosa lixiviada

Las suspensiones de agua y almidón al calentarse a temperaturas de más de 50-55 °C ocasionan la ruptura de los puentes de hidrógeno de las estructuras de amilosa y amilopectina, por lo que se lleva a cabo la absorción de agua y el hinchamiento de los gránulos de almidón. A medida que se incrementa la temperatura aumenta el agua absorbida y parte de las moléculas de amilosa lixivian. El método yodométrico se basa en la capacidad que tiene la amilosa para ligar yodo dando lugar a un complejo de color azul cuya absorbancia puede

medirse espectrofotométricamente, para cuantificar el contenido de amilosa lixiviada durante la gelatinización del almidón. Se pesaron 20 mg muestra (base seca) (en base al AT) en tubos con tapa (4 tubos por muestra) y se añadieron 10 mL de agua destilada. Se calentó la muestra a cuatro temperaturas que comprendieron los 50, 65, 80 y 95 °C, por un periodo de 30 min. Después, los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 5 min y posteriormente se centrifugaron a 2000 g por 10 min. El contenido de amilosa lixiviada se determinó en base a lo descrito por Hoover y Ratnayake (2002). El sobrenadante se colectó en un matraz aforado de 25 mL, de esta dilución se tomó una alícuota de 1 mL a un matraz volumétrico de 50 mL agregando 1 mL de una solución de I₂/KI (0.0025 M I₂ y 0.0065 M KI), ajustando el volumen a 50 mL con agua destilada y dejando reposar durante 15 min. Se leyó la absorbancia a 600 nm. Las muestras se leyeron a la par con una curva patrón de amilosa para calcular la concentración de amilosa a través de un análisis de regresión lineal.

5.2.6.3 Difracción de Rayos X

Las muestras se colocaron sobre el portamuestra del difractómetro de rayos X (Bruker advance D8) de ángulo amplio, equipado con una fuente de cobre operado a 35 KV, produciendo una radiación de CuK α con una longitud de onda de 1.54 Å. Los datos arrojados fueron colectados en un intervalo de 3-37° cada 0.05°, con una velocidad de barrido de 60 s/°.

5.2.6.4 Calorimetría diferencial de barrido

Las propiedades térmicas de las muestras fueron estudiadas usando un calorímetro diferencial de barrido (TA Instruments, modelo 2010), calibrado previamente con indio y siguiendo la metodología propuesta por Paredes-López y colaboradores (1994). Se pesaron 2 mg de muestra (base seca) dentro de una

charola de aluminio, posteriormente se le adicionaron 7 μL de agua desionizada. La charola se selló herméticamente y se dejó equilibrar por espacio de 1 h antes de realizar el análisis. Como referencia se utilizó una charola vacía. La muestra se sometió a un programa de calentamiento en un intervalo de temperatura de 20-120 $^{\circ}\text{C}$ y una velocidad de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. La temperatura de inicio (T_0), temperatura de pico (T_p) y temperatura final (T_f) se obtuvieron directamente del análisis con el software TA Instruments Analisis Universal 2000 para Windows versión 3.2. Para inducir la retrogradación del almidón de las harinas de plátano, las muestras que se sometieron al calentamiento y posteriormente se almacenaron a 4 $^{\circ}\text{C}$ durante 7 días. Transcurrido el tiempo de almacenamiento las charolas se volvieron a analizar en el calorímetro bajo las mismas condiciones, para de esta manera obtener las propiedades térmicas de retrogradación. El porcentaje de retrogradación es la relación entre la $\Delta H_R/\Delta H_G$.

5.2.6.5 Análisis rápido de viscosidad

Para determinar el perfil de viscosidad de las muestras se empleó la técnica propuesta por la AACC 61-02 (2000). El análisis se llevo a cabo en el equipo “Rapid Visco Analyzer” (RVA) (Newport Scientific Inst., Australia). El contenido de humedad de las muestras se ajustó al 14% (peso/volumen) de sólidos totales basándose en tablas para corregir el contenido de humedad, en el caso de harinas fue de la siguiente manera: se pesaron 3.5 g de muestra en un cilindro de aluminio y se adicionaron aproximadamente 25.2 mL agua destilada hasta obtener un peso constante total de 29 g (muestra y agua).

Para la determinación de la viscosidad se utilizó el siguiente perfil de tiempo-temperatura: homogenización de la muestra durante 10 seg, 5 min de calentamiento desde 50 hasta 90 $^{\circ}\text{C}$, permaneciendo constante a esta temperatura durante 5 min. Posteriormente, la muestra se enfrió a 50 $^{\circ}\text{C}$ durante 6 min. El tiempo total del análisis fue de 16 min manteniendo una velocidad de

agitación constante de 160 rpm, la viscosidad se reportó en una unidad arbitraria como parte del equipo (RVA) en función del tiempo y la temperatura.

5.2.7 Digestibilidad del almidón *in vitro*

5.2.7.1 Determinación de fracciones de almidón

Las fracciones de almidón de digestión rápida (ADR), de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR), se determinaron de acuerdo a su completa o incompleta digestión siguiendo la metodología propuesta por Englyst y colaboradores (1992). El análisis de las muestras sin gelatinizar se realizó de la siguiente manera: se pesaron 800 mg de muestra (base seca) y 50 mg de goma guar (Sigma-Aldrich) en matraces erlenmeyer de 125 mL. Se adicionaron 10 mL de una solución de pepsina (50 mg enzima/10 mL, Sigma, P7000) en HCl 0.05 M y 5 canicas (12 mm de diámetro), para ayudar a homogenizar el contenido y simular los movimientos peristálticos. Los matraces se colocaron en un baño de agua con agitación con movimiento orbital (velocidad de 200 strokes/min) a 37 °C durante 30 min. Después se adicionaron 5 mL de acetato de sodio (CH_3COONa) 0.25 M y se dispersó el contenido. Los matraces se colocaron en baño de agua con agitación orbital a 37 °C para equilibrar. Se adicionaron 5 mL de una mezcla de enzimas: pancreatina, (Sigma, P1750), invertasa (Sigma, I4504) y amiloglucosidasa (Sigma, A7095); en intervalos de 1 min entre cada matraz. Transcurridos los primeros 20 min se tomó una alícuota (G_{20}) de 0.5 mL de la muestra, se transfirió a un tubo de centrifuga de 50 mL, el cual contenía 20 mL de etanol al 66% y se homogeneizó con ayuda de un vortex. Después de 120 min, se tomó la segunda alícuota (G_{120}) de 0.5 mL. De igual manera, la alícuota se transfirió a un tubo de centrifuga con 20 mL de etanol al 66%. Los tubos con las muestras (G_{20} y G_{120}) se centrifugaron a 1500 g durante 5 min y se cuantificó el contenido de glucosa con el reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa (GOD/POD) y se leyó la absorbancia a 510 nm.

El análisis de las muestras gelatinizadas se realizó de la siguiente manera: se pesaron 800 mg de muestra y 50 mg de goma guar (Sigma-Aldrich) en matraces erlenmeyer de 125 mL. Se adicionaron 10 mL de agua destilada y se mezcló homogéneamente, posteriormente los matraces se colocaron en un baño de agua a ebullición agitando constantemente durante 30 min, después del tiempo transcurrido los matraces se dejaron a temperatura ambiente durante 10 min. Las muestras gelatinizadas se analizaron de acuerdo a la técnica descrita anteriormente.

Se utilizaron las siguientes ecuaciones para la determinación de glucosa y las fracciones del almidón de digestión rápida, lenta y resistente:

$$\% \text{ de glucosa} = \frac{A_t \times V_t \times C \times D}{A_s \times W_t} \times 100$$

Donde:

A_t = Absorbancia de la muestra

V_t = Volumen total

C = Concentración del estándar usado

D = Factor de dilución

A_s = Absorbancia del estándar usado

W_t = Peso de la muestra

$$ADR = (G_{20} - GL) \times 0.9$$

$$ADL = (G_{120} - GL_{20}) \times 0.9$$

$$AR = AT - (ARD + ALD)$$

Donde:

GL = Glucosa libre (cantidad no considerable)

GL_{20} = Glucosa medida en la muestra después de 20 min

G_{120} = Glucosa medida en la muestra después de 120 min

5.2.8 Fracción indigerible

La fracción indigerible de las harinas de plátano se determinó con la metodología reportada por Saura-Calixto y colaboradores (2000), la cual surgió como una alternativa fisiológica al concepto de fibra dietética. El método emula la digestión de los alimentos en el tracto gastrointestinal. La fracción indigerible total se determina como la suma de las fracciones no digeribles solubles e insolubles. Se pesaron 300 mg de muestra (base seca) en tubos de centrifuga de 50 mL con tapa (previamente a peso constante) y se adicionaron 10 mL de una solución reguladora de ácido clorhídrico y cloruro de potasio (HCl-KCl) (pH 1.5) y una solución de pepsina (300 mg/mL, Sigma, P7000); las muestras se incubaron en un baño de agua con agitación constante a 40 °C durante 60 min. Después de la incubación, el pH se ajustó a 7.5 y se añadieron 5 mL de una mezcla de enzimas que contiene pancreatina (5 mg/mL, Sigma, P1750), lipasa (3.5 mg/mL, Sigma, L3126) y el extracto de bilis (8.75 mg/mL, Sigma, B8631) disueltas en una solución reguladora de fosfatos (pH 7.5) y se incubaron a 37 °C en un baño de agua con agitación constante durante 60 min. Posteriormente, se añadieron 9 mL de solución amortiguadora de trismaleato (pH 6.9) y un 1 mL de una solución de α -amilasa (120 mg/mL, Sigma A3176), posteriormente se incubaron a 37 °C durante 16 h. Las muestras se centrifugaron a 3000 g durante 15 minutos y el sobrenadante se recolectó. La fracción indigerible insoluble se secó a 105 °C durante 16 h y se cuantificó por gravimetría. El sobrenadante se dializó en membranas de diálisis de celulosa (12,000-14,000 MWCO, Sigma-Aldrich, St Louis MO, EE.UU.) en agua a 25 °C durante 48 h con flujo de agua de 7 L/h. Transcurrido el tiempo, el contenido de la bolsa de diálisis se transfirió a un matraz volumétrico de 100 mL, terminando el aforo con agua destilada. Se tomó una alícuota de 17 mL en un matraz Erlenmeyer y con 1 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄), el matraz se colocó en un baño de agua hirviendo durante 90 min. La fracción indigerible soluble se midió tomando una alícuota de 2 mL de las muestras hidrolizadas en un tubo de ensaye con tapa adicionando 1 mL de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) y 0.5 mL de una solución saturada de hidróxido de sodio

(NaOH), las muestras se colocaron en un baño de agua hirviendo durante 15 min. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se añadieron 15 mL de agua destilada. Posteriormente, las muestras se leyeron a una absorbancia a 530 nm y se elaboró una curva patrón de glucosa para calcular la concentración de glucosa a través de un análisis de regresión lineal.

La fracción indigerible insoluble (FII), soluble (FIS) y total (FIT) se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ FII} = \frac{\text{Peso del residuo (g)}}{\text{Peso de muestra seca (g)}} \times 100$$

$$\% \text{ FIS} = \frac{\text{Maltosa mg/L} \times 10.58}{\text{Peso de muestra seca (g)}} \times 100$$

$$\% \text{ FIT} = \text{FII} + \text{FIS}$$

5.3 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos, se utilizó un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía con un nivel de significancia $p < 0.05$, utilizando el paquete estadístico JMP (software de descubrimiento Statistical). Cuando se encontraron diferencias estadísticas significativas se utilizó una prueba de comparación múltiple de Tukey.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Análisis proximal

El análisis proximal de las HPVC, HPV5*, HPV15* y HPV25*; modificadas con el THT y THT+A se muestran en la Cuadro 3. La muestra HPVC presentó un contenido de humedad de 9.9%, este valor es similar al obtenido por Ovando-Martínez (2008) para HPV (7.75%). Por otra parte Aguirre-Cruz (2009) realizó un estudio en donde empleo HPV con cáscara en el cual reportó un contenido de humedad de 12.6%, lo cual indica que el valor obtenido en este estudio se encuentra dentro de los valores reportados. La diferencia en cuanto al contenido de humedad puede deberse al método y tiempo de secado utilizado. Las muestras HPV5*, HPV15* y HPV25* mostraron una disminución en comparación con la HPVC. En las HPVC, HPV5*, HPV15* y HPV25* modificadas con THT y THT+A, el contenido de humedad se mantuvo sin cambios en comparación con las HPV cocidas bajo diferentes tiempos y estos valores son similares a lo reportado por diversos autores (Juárez-García *et al.*, 2006; Ovando-Martínez, 2008; Rodríguez-Ambríz *et al.*, 2008) para HPV. Esta disminución pudo deberse a los tratamientos térmicos que se utilizaron para modificar la estructura del almidón.

El contenido de cenizas de las HPVC, HPV5*, HPV15* y HPV25*; modificadas con el THT y THT+A se muestran en la Cuadro 3. El contenido de cenizas de la HPVC fue de 2.6%, este valor fue similar al obtenido por Aguilar-Sandoval (2008) y Ovando-Martínez (2008) que fue de 2.4% y 2.67%, respectivamente. Los valores de cenizas se mantuvieron sin cambio en las HPV5*, HPV15* y HPV25* y al modificarse con THT y THT+A. Cabe señalar que el alto contenido de cenizas en la HPV puede deberse a que el plátano presenta un alto contenido de potasio y magnesio (Bello-Pérez *et al.*, 2010).

Cuadro 3. Análisis proximal y químico de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente.[†]

Muestra	Humedad (%)	Cenizas (%)	Almidón total (%)
HPVC	9.9 ± 0.3 ^a	2.6 ± 0.1 ^{ab}	75.0 ± 0.1 ^c
HPV5*	5.6 ± 0.3 ^d	2.5 ± 0.1 ^{ab}	75.0 ± 0.1 ^c
HPV15*	5.4 ± 0.3 ^d	2.8 ± 0.1 ^{ab}	75.0 ± 0.1 ^c
HPV25*	5.3 ± 0.2 ^d	2.9 ± 0.1 ^a	75.0 ± 0.1 ^c
HPVC + THT	5.9 ± 0.4 ^{cd}	2.7 ± 0.3 ^{ab}	76.9 ± 0.4 ^a
HPV5* + THT	5.4 ± 0.5 ^d	2.3 ± 0.1 ^{ab}	76.5 ± 0.3 ^{ab}
HPV15* + THT	5.6 ± 0.3 ^{cd}	2.6 ± 0.1 ^{ab}	76.9 ± 0.3 ^a
HPV25* + THT	5.5 ± 0.2 ^{cd}	2.7 ± 0.1 ^{ab}	76.9 ± 0.2 ^a
C + THT + A	7.2 ± 0.1 ^b	2.4 ± 0.1 ^{ab}	76.5 ± 0.4 ^{ab}
HPV5* + THT + A	6.8 ± 0.1 ^{bc}	2.2 ± 0.1 ^b	75.9 ± 0.3 ^b
HPV15* + THT + A	5.6 ± 0.2 ^{cd}	2.4 ± 0.1 ^{ab}	76.5 ± 0.4 ^{ab}
HPV25* + THT + A	8.1 ± 0.1 ^b	2.6 ± 0.1 ^{ab}	76.5 ± .3 ^{ab}

† Media de tres réplicas ± desviación estándar.

Valores en la misma columna con diferente letra son diferentes ($p < 0.05$).

HPVC: Harina de plátano verde cruda; HPV5*: Harina de plátano verde cocida por 5 min; HPV15*: Harina de plátano verde cocida por 15 min; HPV25*: Harina de plátano verde cocida por 25 min.

THT: Tratamiento humedad temperatura (100 °C, 24 h, 30% humedad (p/p)).

THT + A: Tratamiento humedad temperatura y almacenamiento (72 h, -20 °C).

6.2 Análisis químico

Los valores de almidón total (AT) en las muestras de HPVC, HPV5*, HPV15* y HPV25*; modificadas con el THT y THT+A se muestran en la Cuadro 3. Para la HPVC se presentó un contenido de AT del 75% similar al que obtuvo Rodríguez-Ambríz y colaboradores (2008) que fue de 76.8%. Los valores de AT no

mostraron cambios en las HPV cocidas a diferentes tiempos, así como al modificarse con THT y THT+A. Esto se debe a que al aplicar estos tratamientos hidrotérmicos no alteran el contenido de AT.

6.3 Caracterización fisicoquímica y molecular

6.3.1 Microscopia de luz polarizada

La birrefringencia es la propiedad de refractar la luz en dos direcciones. Tester y Karkalas (2004) reportaron que la cruz de Malta indica que los componentes del almidón (amilosa y amilopectina) se encuentran organizados dentro del granulo.

En la Figuras 12 y 13 se muestran las imágenes del análisis de luz polarizada para las HPV bajo diferentes tratamientos. Las HPVC y HPV5* (Figuras 12a y 12d) mostraron que los gránulos de almidón permanecieron intactos, además de que no se observó algún cambio en cuanto a la propiedad de birrefringencia. Millán-Testa (2004) realizó un estudio en el cual determinó las características moleculares y estructurales en almidones aislados de mango, plátano y okenia. En cuanto al análisis de birrefringencia para almidón de plátano aislado el comportamiento fue similar a lo que se observó en la muestra de HPVC. La HPV5* no afectó la organización de los componentes del almidón; sin embargo, se observó un ligero hinchamiento de algunos gránulos de almidón.

Los tiempos cortos de cocción no producen una desorganización de los componentes del almidón, lo que puede deberse a que existen otros componentes en la harina de plátano, como proteínas y fibra, que pueden proteger de cierta manera a los gránulos de almidón, evitando que penetre calor al interior de los gránulos y se lleve a cabo la gelatinización del almidón.

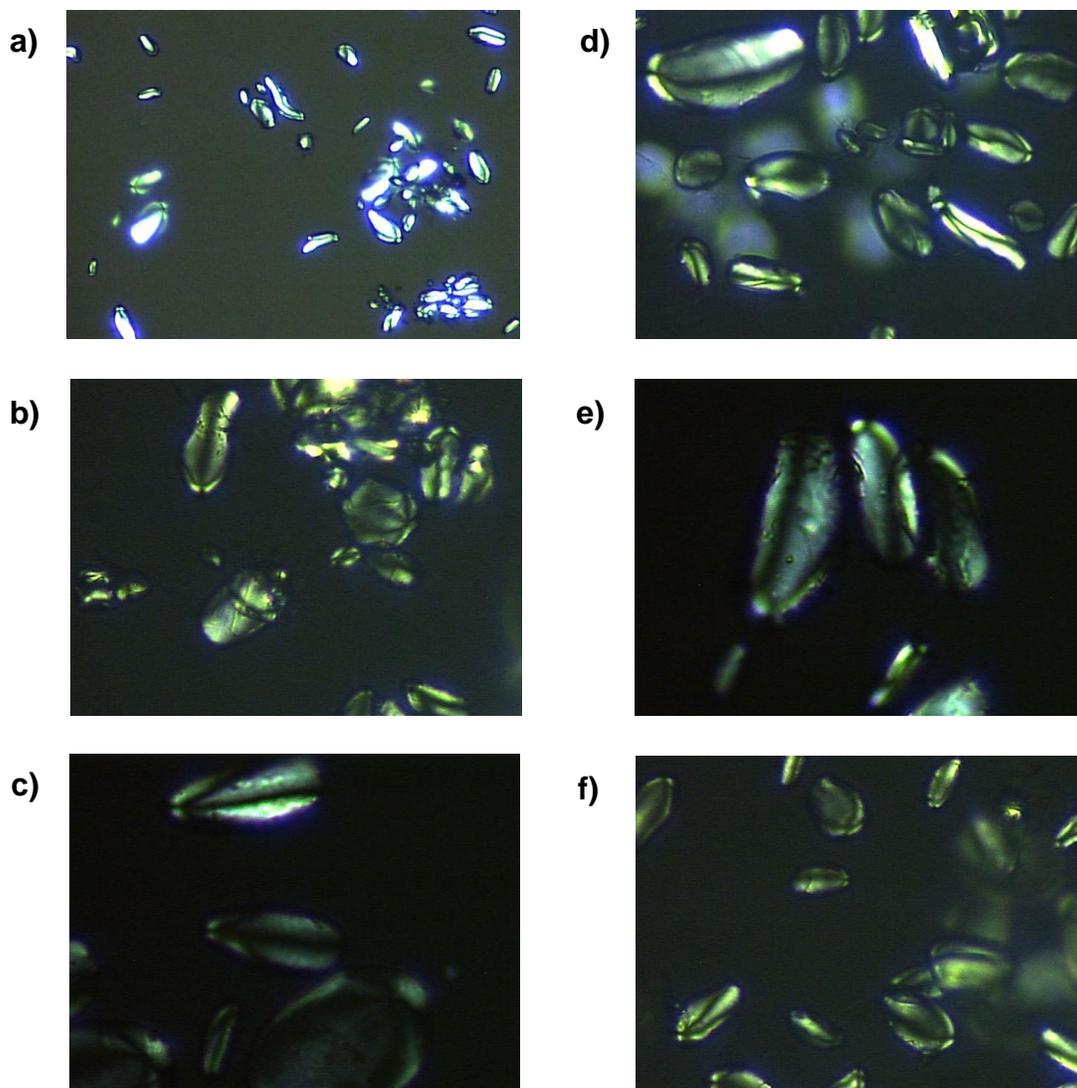


Figura 12. Microscopia de luz polarizada de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente: a) HPV, b) HPV + THT, c) HPV + THT + A, d) HPV5*, e) HPV5* + THT y f) HPV5* + THT + A.

En las HPV15* y HPV25* (Figuras 13a y 13d) se produjo un mayor hinchamiento de los gránulos, así como la formación de agregados debido a la fusión de los gránulos de almidón. Esto pudo deberse a que algunos gránulos de almidón gelatinizaron y cierta cantidad de amilosa lixivió formando un gel, lo que permitió la formación de agregados de almidón.

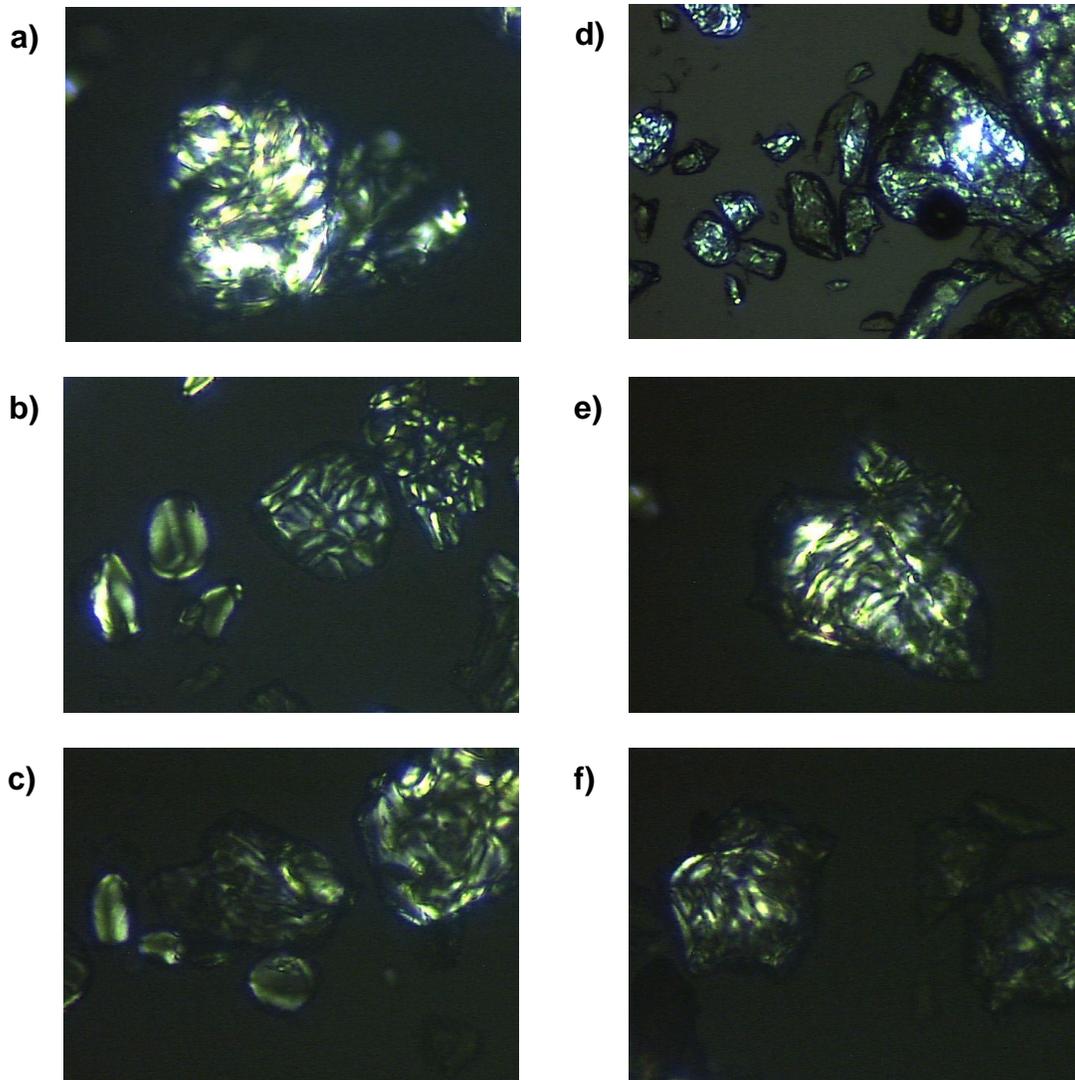


Figura 13. Microscopia de luz polarizada de las harinas de plátano verde modificadas físicamente: a) HPV15*, b) HPV15* + THT, c) HPV15* + THT + A, d) HPV25*, e) HPV25* + THT y f) HPV25* + THT + A.

Por lo que se observa todavía la propiedad de birrefringencia de los agregados de almidón contenidos en las HPV analizadas, esto demostró que aún existe una organización de los componentes del almidón, incluso después de este tratamiento térmico.

Las HPVC y HPV5* modificadas con el THT (Figuras 12b y 12e) no presentaron un cambio de la propiedad de birrefringencia. En las HPV15* y HPV25* modificadas con el THT (Figuras 13b y 13e) se observa la formación de agregados más compactados debido a la gran cantidad de energía térmica que se aplicó en el THT, los agregados presentaron un comportamiento de la propiedad de birrefringencia diferente en comparación con las HPV15* y HPV25*, lo que demuestra una pérdida gradual del orden en los gránulos de almidón. Esto se debió a que hubo una modificación de la estructura del almidón provocada por el THT.

En las muestras de HPVC, HPV5*, HPV15* y HPV25* modificadas con el THT+A (Figura 12c, 12f, 13c y 13f) se observó un cambio un poco más acentuado de la pérdida de la propiedad de birrefringencia, debido al aumento de la desorganización de los componentes del almidón. Esto puede deberse a que los agregados formados a partir de algunos gránulos de almidón que gelatinizaron sufrieron una modificación debido a la condición de almacenamiento (retrogradación), presentándose un reordenamiento de los componentes del gránulo de almidón. Por lo que no es necesaria una condición de almacenamiento para modificar aún más a estos componentes.

6.3.2 Amilosa lixiviada

La amilosa es susceptible a formar complejos con moléculas hidrofóbicas como el yodo, los ácidos grasos o los hidrocarburos. En este tipo de complejos los grupos hidrofílicos de la cadena de amilosa están orientados hacia el exterior y los hidrofóbicos hacia el interior de la cavidad (Guilbot y Mercier, 1985). La reacción de acomplejamiento de la amilosa con el yodo es la base para la caracterización analítica y determinación cuantitativa de esta macromolécula.

La cocción del plátano puede llegar a producir la despolimerización de los componentes del almidón que, dependiendo del tiempo de cocción, puede llegar a producir la lixiviación de la amilosa a partir de la gelatinización de los gránulos del almidón. La amilosa que lixivía y se separa del gránulo de almidón y ejerce un impacto en cuanto a la funcionalidad y digestibilidad de la HPV.

Los resultados de amilosa lixiviada de la HPV con diferentes tratamientos se muestran en el anexo (Cuadro 7) y en la Figura 14. A bajas temperaturas (50 y 65 °C), la amilosa lixiviada fue similar para las HPVC y cocidas a diferentes tiempos (Figura 14a). Cuando la temperatura incrementó a 80 y 95 °C (como cuando los alimentos son cocinados), se observó un incremento y diferencias entre muestras. La HPVC presentó un contenido alto de amilosa lixiviada. Este comportamiento se debió a que la cocción del plátano verde causó una lixiviación, por el efecto de la gelatinización de algunos gránulos de almidón. Por el contrario, las muestras de HPV cocidas a diferentes tiempos mostraron valores del contenido de amilosa lixiviada más bajos conforme el tiempo de cocción aumentó. Los agregados que se formaron con otros componentes como resultado de la gelatinización de algunos gránulos de almidón influyeron en la cantidad de amilosa lixiviada.

Las muestras de HPVC, HPV5*, HPV15* y HPV25*; modificadas con el THT se presentan en la Figura 14b. A bajas temperaturas (50 y 65 °C), la amilosa lixiviada fue similar para las HPVC y cocidas a diferentes tiempos y no se presentaron cambios con respecto a las muestras sin el THT (Figura 14b). A temperaturas por encima de la temperatura de gelatinización (80 y 95 °C) para la HPVC+THT se presentó una disminución en el contenido de amilosa lixiviada en comparación con la HPVC, la muestra HPV5*+THT mostró valores similares al de la HPVC+THT.

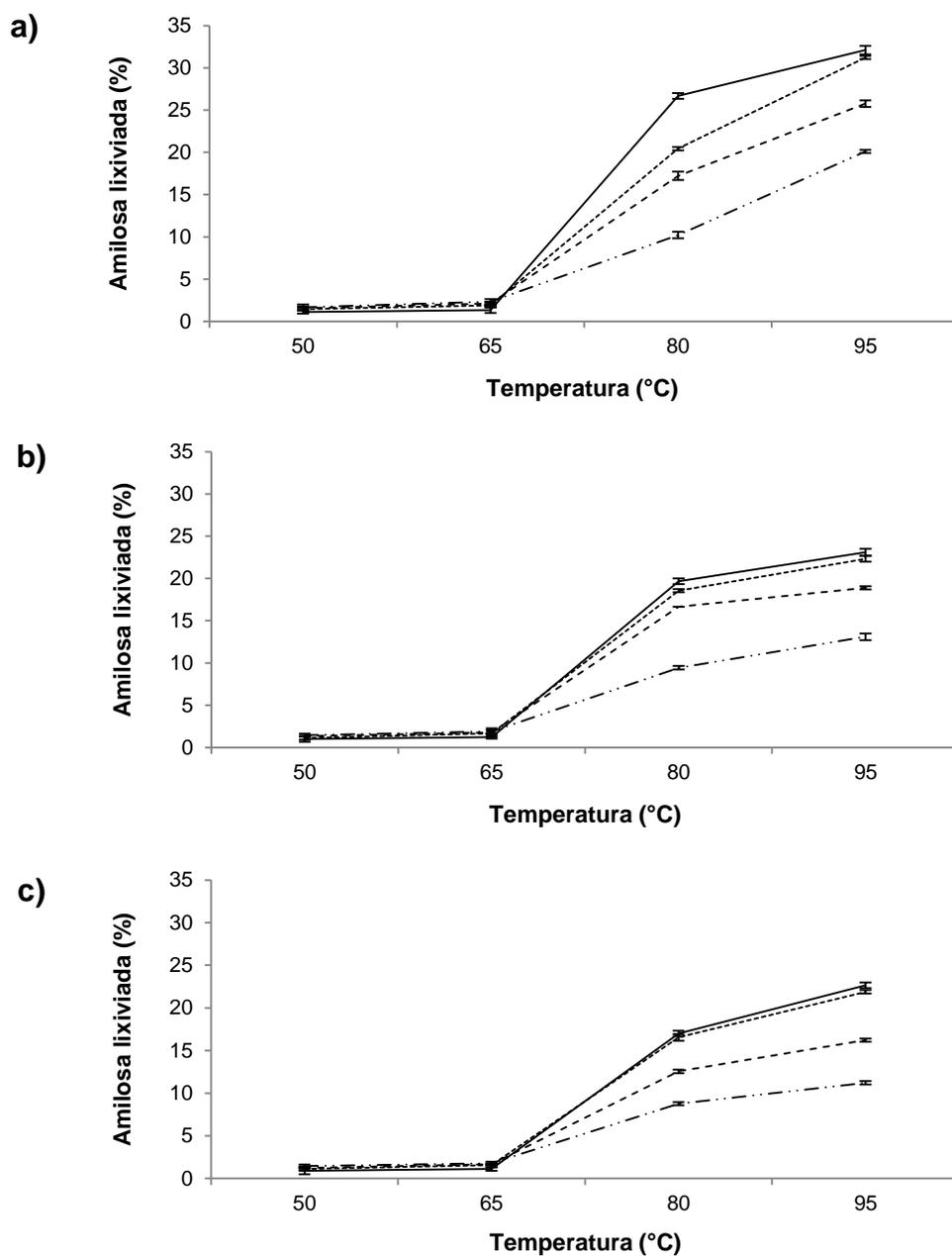


Figura 14. Amilosa lixiviada de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente: a) HPVC (—), HPV5* (-----), HPV15* (---) y HPV25* (— · — ·); b) HPVC + THT (—), HPV5* + THT (-----), HPV15* + THT (---) y HPV25* + THT (— · — ·); c) HPVC + THT + A (—), HPV5* + THT + A (-----), HPV15* + THT + A (---) y HPV25* + THT + A (— · — ·).

Para las muestras de HPV15*+THT y HPV25*+THT se observó una disminución de amilosa lixiviada en comparación con las HPV15* y HPV25*. La disminución del contenido de amilosa lixiviada en muestras tratadas con THT puede atribuirse a: interacciones adicionales que se forman entre cadenas de amilosa-amilosa y/o amilosa-amilopectina (Hoover y Vasathan, 1994a; Hoover y Vasathan, 1994b; Tester *et al.*, 2000). Kawabata y colaboradores (1994) y Franco y colaboradores (1995) observaron la formación de los enlaces intermoleculares entre la amilosa y la amilopectina; posteriormente, Chung y colaboradores (2009) proponen que estas interacciones se deben a la energía térmica impartida a las cadenas de amilosa que fue mayor durante el THT, resultando en un incremento de la movilidad, facilitando así la interacción.

Las muestras de HPVC, HPV5*, HPV15* y HPV25* modificadas con el THT+A se muestran en la Figura 14c. A temperaturas de 50 y 65 °C el contenido de amilosa lixiviada fue similar para las HPVC y cocidas a diferentes tiempos y no se presentaron cambios con respecto a las muestras con el THT. En las muestras de HPVC y cocidas a diferentes tiempos con THT+A a temperaturas de 80 y 95 °C, se observó una disminución en el contenido de amilosa lixiviada. El comportamiento para las HPVC+THT+A y HPV5*+THT+A mostró la misma tendencia en comparación con las HPVC+THT y HPV5*+THT, con valores del contenido de amilosa similares a su contraparte. En el caso de las HPV15* Y HPV25* los valores de amilosa lixiviada fueron menores al comparar con las HPV15*+THT Y HPV25*+THT, además de que en estas muestras se observó un comportamiento similar, que pudo atribuirse a que hubo una mayor reorganización que pudo deberse a la condición de almacenamiento, en la cual se pudo llevar a cabo la retrogradación de algunos gránulos de almidón gelatinizado durante la cocción del plátano verde. Por otra parte cabe resaltar que también se debe considerar la formación de las interacciones de los componentes del gránulo de almidón.

6.3.3 Difracción de rayos X

Los patrones de difracción de rayos X de las muestras se muestran en la Figura 15. La HPVC (Figura 15a) mostró un patrón de difracción tipo C, similar a lo reportado por Espinosa-Solis (2008) en almidón aislado de plátano. Ese patrón de difracción tipo C es una mezcla polimórfica del patrón tipo A y tipo B. Algunos de los picos observados en el almidón nativo de plátano fueron similares a aquellos que se observan en almidones tipo A; sin embargo, existen algunas diferencias que indican la presencia de cristales tipo B, como el pico a $2\theta=17^\circ$ que fue más prominente que el pico a $2\theta=18^\circ$ y el pico $2\theta=23^\circ$ fue más ancho. Otros estudios han reportado patrones de difracción de tipo B en almidón de plátano (Faisant *et al.*, 1995b), y tipo A en almidón de plátano macho y criollo (Bello-Pérez *et al.*, 2000a). En el caso de las muestras de HPV5*, HPV15* y HPV25* la intensidad de los picos $2\theta=17^\circ$ y $2\theta=23^\circ$ disminuyó cuando el tiempo de cocción se incrementó (Figuras 15b, 15c y 15d), debido a una modificación en la cristalinidad. El comportamiento de este patrón de difracción se atribuye a la desorganización de los componentes en el gránulo de almidón y a los agregados que se presentan en función del tiempo de cocción.

Cuando la HPVC se modificó con el THT se observaron cambios en el patrón de difracción (Figura 15e). El pico $2\theta=17^\circ$ de esta muestra se dividió en dos picos ($2\theta=17^\circ$ y $2\theta=18^\circ$), mostrando que hay una transformación polimórfica de tipo C a tipo A (Shin *et al.*, 2005). Hoover y Vasanthan (1994) reportaron la alteración del patrón de difracción de tipo B a tipo A (ó tipo C) para almidón aislado de papa después del THT. Este tipo de transformación polimórfica es provocada por el THT y puede atribuirse a un empaquetamiento de las dobles hélices, que se debió a la deshidratación de la estructura tipo B, producida por las altas temperaturas que emplea esta modificación física, por lo que se generó un cambio en el patrón de difracción de rayos X (Lorenz y Kulp, 1982).

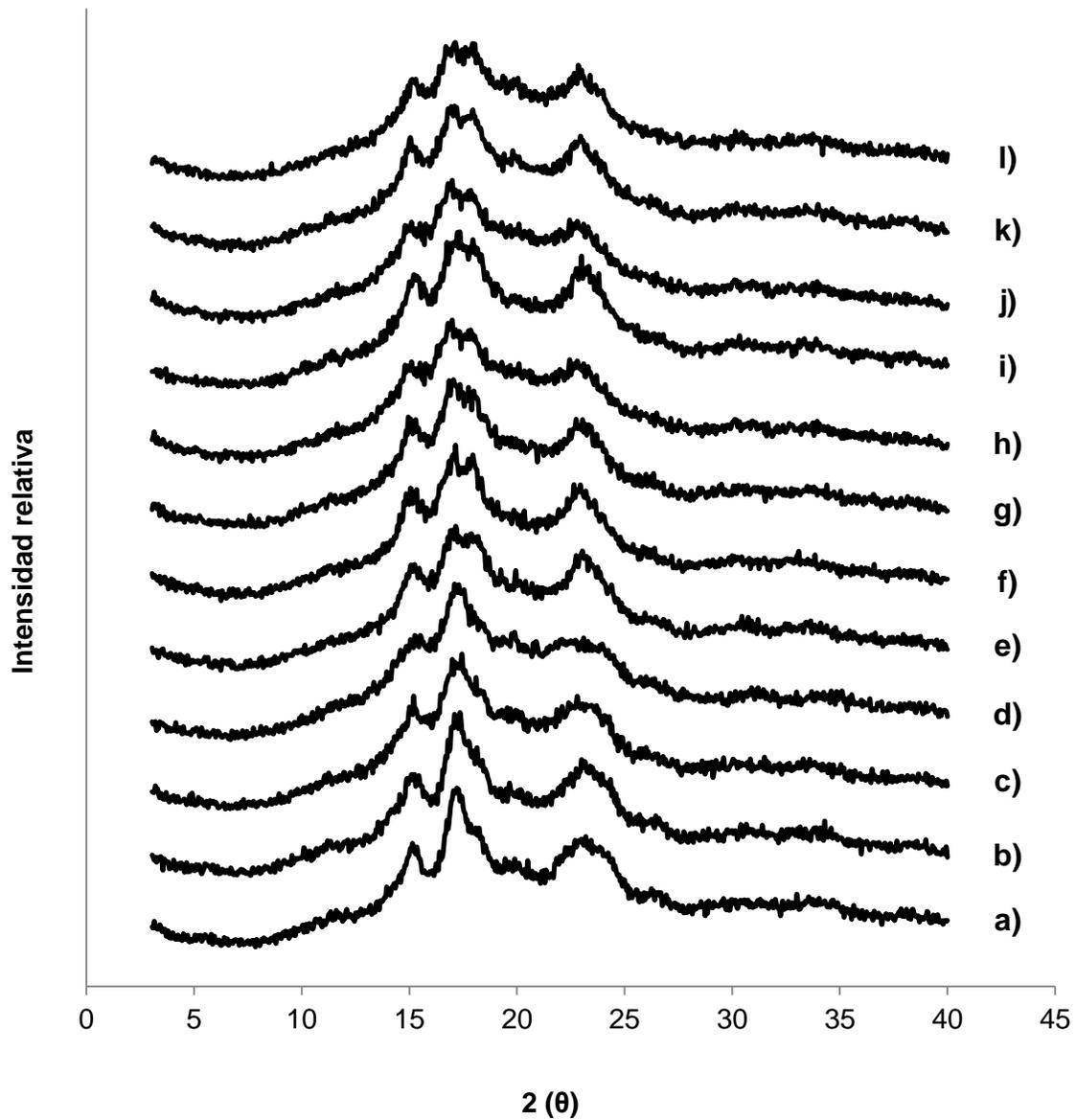


Figura 15. Patrón de difracción de rayos X de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente: a) HPVC, b) HPV5*, c) HPV15*, d) HPV25*, e) HPVC + THT, f) HPV5* + THT, g) HPV15* + THT, h) HPV25* + THT, i) HPVC + THT + A, j) HPV5* + THT + A, k) HPV15* + THT + A y l) HPV25* + THT + A.

Por otro lado, se ha reportado que los tratamientos hidrotérmicos provocan este tipo de alteraciones estructurales en función de la temperatura y contenido de humedad empleados en el THT (Shin *et al.*, 2005).

Las muestras de HPV5*+THT (Figura 15f) mostró un decremento de la intensidad de cristalinidad y una división más acentuada en el pico $2\theta=17^\circ$. En la muestra de HPV15*+THT (Figura 15g) se observó un pico más ancho ($2\theta=17^\circ$) y una división de más de dos picos. La HPV25*+THT (Figura 15h) muestra una división del pico más ancha y menos intensa. Estas observaciones hacen en comparación a la muestra de HPVC+THT y pueden atribuirse a que existe una mayor desorganización producida por los tratamientos de cocción aplicados, además de un arreglo de los componentes que puede llevarse a cabo durante el THT, causando un cambio en la cristalinidad de los gránulos de almidón contenidos en estas HPV. Sin embargo, la disminución de la intensidad y de la cristalinidad implican que hubo una disrupción de la región cristalina por el THT (Shin *et al.*, 2005). Gunaratne y Hoover (2002) reportaron que el movimiento de las dobles hélices durante el THT puede romper los cristalitos del almidón y cambiar la orientación cristalina. Esto explica los cambios observados en la intensidad de la cristalinidad.

En almidones nativos, el grado y tipo de cristalinidad depende en gran parte de la estructura de la amilopectina; sin embargo, la amilosa retrogradada también puede producir un tipo de estructura única. Generalmente, la cristalinidad de los almidones retrogradados producen un patrón de difracción tipo B (Gonzalez-Soto, 2006).

Las muestras de HPVC, HPV5*, HPV15* y HPV25* modificadas con el THT+A (Figuras 15i, 15j, 15k y 15l) presentaron intensidades de cristalinidad muy similares a las reportadas para HPVC y cocidas con THT. En estas muestras se observó una división más visible en el pico $2\theta=17^\circ$; algunos de los otros cambios que se presentaron se deben a la reorganización de cadenas por el fenómeno de

retrogradación. La muestra de HPV25*+THT+A (Figura 15l) mostró una mayor disminución de intensidad de cristalinidad. Se puede presentar otro tipo de alteración debido a los agregados que se formaron, por lo que existen algunos gránulos de almidón que se encuentran intactos que pueden presentar un arreglo de los componentes del almidón.

La cristalinidad presente en las muestras de HPV con diferentes tratamientos puede ser de gran importancia cuando estas se incluyan en formulaciones de productos que no requieran adicionar algún tratamiento térmico, debido a que disminuye la digestibilidad del almidón (Han y BeMiller, 2007).

6.3.4 Calorimetría diferencial de barrido

Las propiedades térmicas de la HPV con diferentes tratamientos se muestran en la Cuadro 4. Los valores de T_o , T_p y T_c para la HPVC fueron de 70.3, 76.6 y 86.6 °C, respectivamente, y el valor de entalpía de gelatinización fue de 14.8 (J/g). Estos valores de temperaturas de gelatinización y entalpía son similares a lo que obtuvo Bello-Pérez *et al.* (2000), cuyos valores del análisis de gelatinización fueron de $T_o=69.6$, $T_p=74.5$ y $T_c=81.6$ y $\Delta H=13$ (J/g) para almidón aislado de plátano verde. Por otro lado, debe considerarse que en la HPVC existen otros componentes que influyeron sobre los valores obtenidos en las temperaturas de gelatinización y la entalpía.

El valor promedio de la temperatura de gelatinización (T_p) incrementó conforme el tiempo de cocción aumentó; en el tiempo más largo de cocción se observaron dos fases de transición, lo cual muestra que ocurre una primera disrupción de los componentes del almidón y por consiguiente una pérdida de organización a menor temperatura (60 °C) y mayor entalpía; la segunda presenta una mayor temperatura y menor cantidad de energía (entalpía) para terminar romper la estructura del gránulo de almidón.

Cuadro 4. Parámetros térmicos de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente.[†]

Muestra	To	Tp	Tc	ΔH	To _R	Tp _R	Tc _R	ΔH _R	%R
HPVC	70.3 ± 0.2 ^g	76.6 ± 0.2 ^f	86.6 ± 0.4 ^g	14.8 ± 0.1 ^a	40.9 ± 0.5 ^e	56.6 ± 0.2 ^c	71.8 ± 0.8 ^{de}	7.7 ± 0.6 ^b	52.0
HPV5*	70.7 ± 0.2 ^g	76.7 ± 0.3 ^f	85.7 ± 0.3 ^h	14.3 ± 0.5 ^a	45.8 ± 0.7 ^{ab}	57.3 ± 1.2 ^a	72.0 ± 1.8 ^{cde}	8.6 ± 0.7 ^a	60.1
HPV15*	76.9 ± 0.2 ^c	83.2 ± 0.1 ^e	89.6 ± 0.4 ^f	3.9 ± 0.1 ^f	44.5 ± 0.4 ^c	58.3 ± 0.1 ^a	69.8 ± 0.8 ^e	9.7 ± 0.5 ^a	248
HPV25*	52.8 ± 1.6 ^l	60.5 ± 1.2 ^h	74.2 ± 0.3 ⁱ	4.0 ± 0.9 ^f	45.3 ± 0.3 ^c	57.6 ± 0.3 ^b	70.6 ± 0.3 ^e	9.4 ± 0.4 ^a	208 ²
HPV25* ¹	82.7 ± 1.0 ^a	86.3 ± 1.5 ^b	93.0 ± 0.6 ^e	0.5 ± 0.2 ^j	-----	-----	-----	-----	-----
HPVC + THT	75.1 ± 0.1 ^d	88.8 ± 0.2 ^a	98.1 ± 0.1 ^a	11.3 ± 0.1 ^c	40.3 ± 0.2 ^e	51.6 ± 0.3 ^d	70.1 ± 0.2 ^e	6.1 ± 0.0 ^c	53.9
HPV5* + THT	75.1 ± 0.1 ^d	88.5 ± 0.2 ^a	98.7 ± 0.3 ^a	12.6 ± 0.1 ^b	42.5 ± 0.5 ^d	54.3 ± 0.1 ^e	68.9 ± 0.1 ^f	6.9 ± 0.0 ^c	54.7
HPV15* + THT	79.3 ± 0.2 ^b	85.6 ± 0.2 ^c	92.9 ± 0.1 ^e	4.1 ± 0.1 ^e	43.2 ± 0.3 ^d	56.1 ± 0.1 ^c	72.3 ± 0.3 ^c	6.5 ± 0.1 ^c	158
HPV25* + THT	43.6 ± 0.1 ⁱ	47.5 ± 0.2 ^j	51.6 ± 0.4 ^j	0.8 ± 0.0 ^h	42.8 ± 0.2 ^d	55.7 ± 0.3 ^c	71.2 ± 0.4 ^d	6.1 ± 0.0 ^c	152 ²
HPV25* ¹	73.6 ± 0.1 ^e	84.7 ± 0.1 ^d	95.4 ± 0.1 ^b	3.2 ± 0.1 ^g	-----	-----	-----	-----	-----
HPVC + THT + A	72.3 ± 0.3 ^f	86.4 ± 0.4 ^b	93.4 ± 0.3 ^d	11.3 ± 0.2 ^c	43.6 ± 0.4 ^c	55.0 ± 0.1 ^d	73.0 ± 0.5 ^b	7.7 ± 0.3 ^b	68
HPV5* + THT + A	75.1 ± 0.1 ^d	85.6 ± 0.5 ^c	94.2 ± 0.1 ^c	12.6 ± 0.4 ^b	44.6 ± 0.1 ^c	55.2 ± 0.4 ^d	74.4 ± 0.3 ^a	5.5 ± 0.2 ^d	43.6
HPV15* + THT + A	79.1 ± 0.0 ^b	86.6 ± 0.2 ^b	93.4 ± 0.4 ^d	4.7 ± 0.2 ^d	45.2 ± 0.2 ^b	56.8 ± 0.1 ^{ba}	71.4 ± 0.2 ^d	6.1 ± 0.1 ^c	129
HPV25* + THT + A	64.5 ± 0.4 ^h	70.7 ± 0.2 ^g	95.4 ± 0.4 ^b	3.7 ± 0.2 ^f	46.3 ± 0.2 ^a	56.8 ± 0.1 ^{ba}	73.8 ± 0.2 ^{ba}	6.5 ± 0.3 ^c	175

† Media de tres réplicas ± desviación estándar.

Valores en la misma columna con diferente letra son diferentes ($p < 0.05$).

To: Temperatura de inicio de gelatinización; Tp: Temperatura de gelatinización; Tc: Temperatura de finalización de gelatinización; ΔH: Entalpía de gelatinización (J/g); To_R: Temperatura de inicio de retrogradación; Tp_R: Temperatura de retrogradación; Tc_R: Temperatura de finalización de retrogradación; ΔH_R: Entalpía de retrogradación (J/g); %R: Porcentaje de retrogradación.

HPVC: Harina de plátano verde cruda; HPV5*: Harina de plátano verde cocida por 5 min; HPV15*: Harina de plátano verde cocida por 15 min; HPV25*: Harina de plátano verde cocida por 25 min.

THT: Tratamiento humedad temperatura (100 °C, 24 h, 30% humedad (p/p)).

THT + A: Tratamiento humedad temperatura y almacenamiento (72 h, -20 °C).

¹ Segunda transición.

² Considerando ambas transiciones.

----- No determinada.

Esta desorganización se debe al tratamiento de cocción del plátano y a la formación de agregados, esto se pudo corroborar con los valores de entalpía y al comparar con la muestra de HPV15*.

Tratando de resaltar algunas propiedades de los almidones diversos autores han estudiado las características térmicas que se producen al modificar almidones aislados con el THT, en los cuales se han observado incrementos de las temperaturas de gelatinización al aplicar este tratamiento en muestras de almidón de distintas fuentes como: papa, yuca, ñame (Gunarathe y Hoover, 2002), maíz (Hoover y Manuel, 1996; Chung *et al.*, 2009; Zavareze *et al.*, 2010a), chícharo, lenteja (Chung *et al.*, 2009) y canna (Watcharatewinkul *et al.*, 2009). Este efecto va depender del nivel de humedad en el tratamiento, la fuente botánica del almidón y el contenido de amilosa.

Los valores de T_o , T_p y T_c de las muestras de HPVC y cocidas a diferentes tiempos modificadas con el THT (Cuadro 4) mostraron un incremento, pero los valores de la entalpía disminuyeron en comparación con las muestras de HPVC, HPV5*, HPV15* y HPV25*. El incremento de las temperaturas de gelatinización se pudo deber a los cambios estructurales dentro de los gránulos del almidón, que involucra a las interacciones amilosa-amilosa y amilosa-amilopectina, que se forman durante el THT (Hoover y Vasanthan, 1994). Por otra parte, se ha reportado que el proceso de gelatinización involucra la fusión de las regiones cristalinas que contiene las dobles hélices, y que está determinado por la hidratación e hinchamiento de las regiones amorfas de los gránulos de almidón (Zavareze *et al.*, 2010a). La reducción del hinchamiento del gránulo se presenta al aplicar el THT, este tratamiento físico puede reducir el efecto de desestabilización de la fusión de las regiones amorfas y cristalinas. Consecuentemente, una alta temperatura puede requerirse para desorganizar la región cristalina de los almidones tratados con THT (Gunaratne y Hoover, 2002). Esto explica el incremento de las temperaturas de gelatinización. El decremento en los valores de entalpía (Cuadro 4) se pudo atribuir a la disrupción de las dobles hélices presentes

en la región cristalina del gránulo de almidón debido al incremento de la temperatura (Gunarathe y Hoover, 2002; Shin *et al.*, 2005; Zavareze *et al.*, 2010a).

En la muestra de HPV25*+THT, los resultados muestran también dos transiciones de fase con un patrón de comportamiento inverso en los valores promedio de las entalpías, en comparación con los valores de la HPV25*. Diversos investigadores que han utilizado el THT (Donovan *et al.*, 1983; Shin *et al.*, 2007) han reportado que la primera fase de transición puede deberse a la pérdida de birrefringencia, lo cual puede atribuirse a la pérdida de una cantidad significativa de la estructura ordenada, probablemente de cristalitas. La segunda transición de fase puede derivarse de una transformación polimórfica de la región cristalina (tipo B a tipo A o tipo C), que llega a ser más perfecta con THT. El patrón de difracción de rayos X que se observó después del THT (a una alta temperatura) es una estructura tipo A, que es la forma cristalina más estable (Sarko y Wu, 1978; Donovan *et al.*, 1983), esto probablemente explique el valor mayor de la entalpía en la segunda fase en comparación con la primera.

Los valores de la temperatura de gelatinización (T_0 , T_p y T_c) y de entalpía de las muestras de HPVC, HPV5*, HPV15* y HPV25* modificadas con el THT+A (Cuadro 4) fueron similares a los valores obtenidos en las muestras de HPVC, HPV5*, HPV15* y HPV25* modificadas con THT. Estos resultados indican que la condición de almacenamiento no afecta en gran proporción a estos parámetros.

Para el análisis de retrogradación (Cuadro4), las muestras almacenadas por 7 días a 4 °C mostraron una disminución en cuanto a los valores de temperatura y de entalpía en las HPVC, HPV5*, HPV15* y HPV25* en comparación con las temperaturas de gelatinización (Cuadro 4). Esto se atribuye a que una vez que los gránulos de almidón están desorganizados debido a la gelatinización, y que posteriormente se efectuó la retrogradación, el orden de la estructura no puede recuperarse completamente, incluso después del almacenamiento a bajas temperaturas por un periodo de tiempo largo (Takaya *et*

al., 2000). Las muestras de HPV5*, HPV15* y HPV25* mostraron un valor más alto de entalpía de retrogradación que la muestra de HPVC, pero no se observó una diferencia por efecto del tiempo de cocción.

Para la muestra de HPVC+THT los valores de T_{OR} , T_{PR} y T_{CR} fueron similares a los de la HPVC. En el caso de las HPV5*, HPV15* y HPV25* modificadas con THT se observó un decremento en comparación con las HPV5*, HPV15* y HPV25*. Las muestras de HPVC y cocidas a diferentes tiempos con THT no mostraron cambios en los valores promedio de las entalpías. Estas observaciones pueden atribuirse a que se generaron otras interacciones con respecto a los componentes del almidón al aplicar el THT, por lo que ya no se pudo recuperar el orden de la estructura.

En las muestras de HPVC, *, HPV15* y HPV25* modificadas con THT+A presentaron valores de temperaturas y entalpía de retrogradación similares a las muestras de HPVC y cocidas a diferentes tiempos modificadas con THT. Por lo que se puede considerar que el tratamiento de almacenamiento (-20 °C, 7 días) aplicado a las muestras de HPV no incremento considerablemente la reorganización de los cristales. Con lo cual se pudo observar que la condición de almacenamiento no es necesaria.

Las muestras de HPVC y cocidas a diferentes tiempos modificadas con THT y THT+A presentaron valores de entalpía más bajos que las muestras de HPV5*, HPV15* Y HPV25*. Hoover y Vasanthan (1994) observaron que la disminución en el valor de entalpía durante la retrogradación del almidón aislado de papa se debe a la disrupción de la región cristalina durante el THT.

6.3.5 Análisis rápido de viscosidad

Las propiedades de pasta de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente se presentan en la Figura 16. El comportamiento de pasta de las muestras de HPVC y cocidas a diferentes tiempos se muestra en la Figura 16a, Las muestras de HPVC y HPV5* mostraron un perfil de pasta semejante. Estas muestras presentan un pico de viscosidad alto, así como temperatura de pasta, viscosidad de rompimiento (breakdown), caída de viscosidad y viscosidad de recuperación (setback) similares. Cabe señalar que Jane y colaboradores (1999) reportaron que el pico de viscosidad está influenciado por el contenido de amilosa, el grado de amilosa lixiviada y el hinchamiento de los gránulos de almidón. En las muestras de HPV cocidas, conforme se incrementó el tiempo de cocción se observó una disminución del pico de viscosidad, esto puede atribuirse a que algunos de los gránulos de almidón presentaron una pérdida de organización provocada por la gelatinización lo cual impidió el hinchamiento del gránulo, por lo cual no se incrementó la viscosidad. La muestra cocida por HPV25* presento una disminución de la temperatura de pasta, temperatura de pico de viscosidad, viscosidad de rompimiento, caída de viscosidad y viscosidad de recuperación en comparación con la muestra de HPV5*. Este comportamiento se debe una mayor desorganización de los componentes del gránulo de almidón conforme se incrementa el tiempo de cocción.

El perfil de viscosidad de las muestras de HPVC, HPV5* y HPV25* modificadas con THT se muestra en la Figura 16b. En la HPVC se observó un incremento en la temperatura de pasta, así como un decremento de la viscosidad de pico, pero no se presentó una viscosidad de rompimiento ni una caída de viscosidad, además de que se observó una disminución de viscosidad de recuperación y viscosidad final.

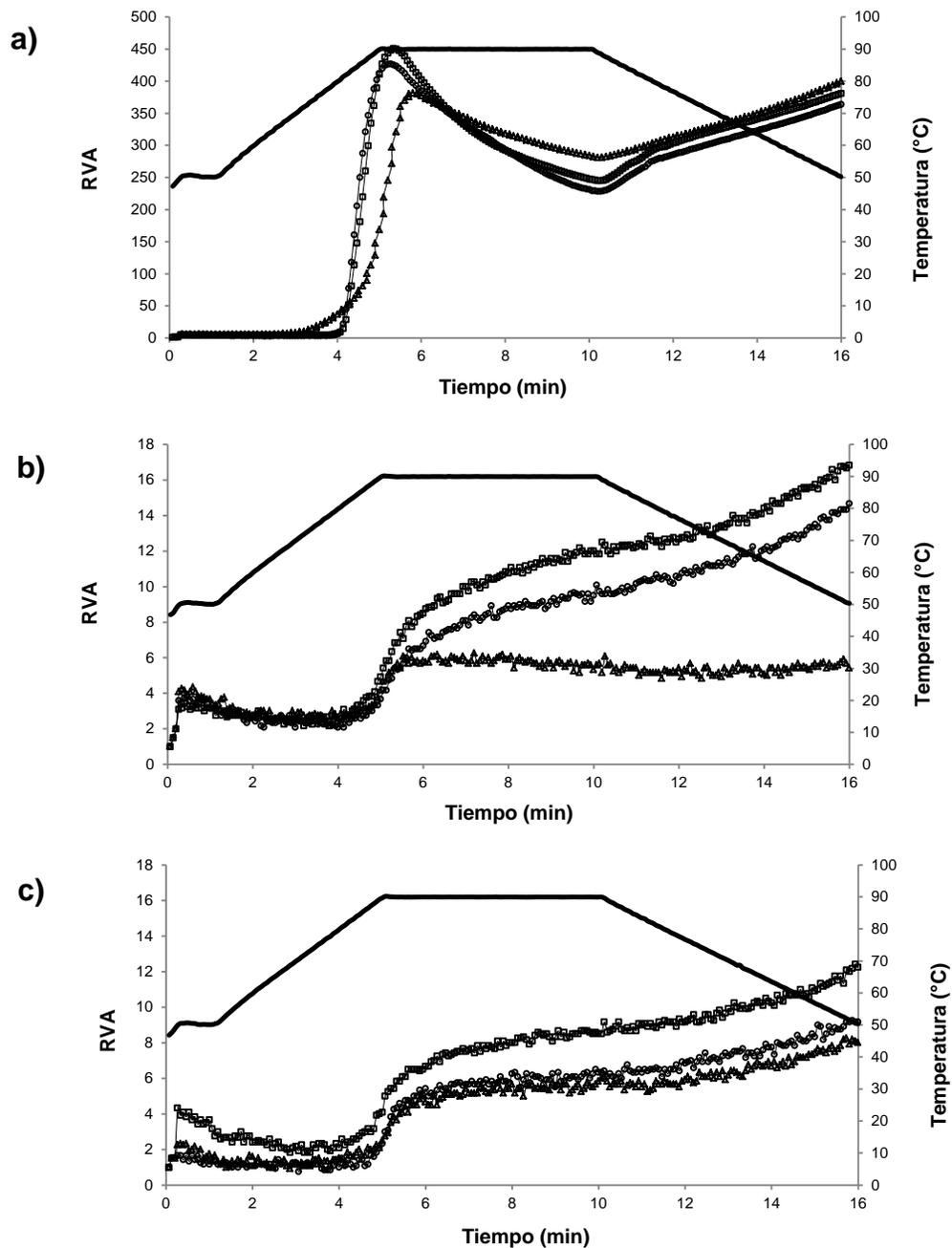


Figura 16. Perfiles rápidos de viscosidad de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente: a) HPVC (\square), HPV5* (o) y HPV25* (Δ); b) HPVC + THT (\square), HPV5* + THT (o) y HPV25* + THT (Δ); c) HPVC + THT + A (\square), HPV5* + THT + A (o) y HPV25* + THT + A (Δ).

En base a lo reportado por Owolabi y colaboradores (2010) existe un decremento del pico de viscosidad, viscosidad de rompimiento, viscosidad de recuperación, caída de viscosidad y viscosidad final después del THT, mientras que la temperatura de pasta puede incrementar dependiendo de las condiciones del THT (Stute, 1992; Abraham, 1993; Hoover y Manuel, 1996). El THT produce cambios en la estructura de los componentes del almidón que modifican el perfil de formación de pasta. Watcharatewinkul y colaboradores (2009) y Zavareze y colaboradores (2010b) reportan que los cambios en las propiedades de pasta en almidones modificados con THT, son debidos a las asociaciones entre las cadenas en la región amorfa del gránulo y los cambios en la cristalinidad durante el tratamiento térmico. El comportamiento de pasta de las muestras de HPV5* y HPV25* modificadas con el THT, no mostraron un perfil de pasta característico debido a los valores bajos de viscosidad. El efecto fue mayor en la muestra cocida a un tiempo más largo. Esto se debe a que los cambios en la estructura de los componentes del almidón se ven afectados aún más debido a los dos tratamientos térmicos que se han utilizado.

El perfil de viscosidad de las muestras de HPVC, HPV5* y HPV25* modificadas con THT+A se muestra en la Figura 16c. En la HPVC no se observan cambios en el comportamiento de la viscosidad de pico; por otro lado, para las muestras de HPV5* Y HPV25* modificadas con el THT+A no se observaron los perfiles de pasta característico, además de que mostró una disminución aún más acentuada en comparación con las muestras de HPVC, HPV5* y HPV25* modificadas con THT.

Esto se puede deber a que durante la gelatinización del almidón, los gránulos absorben agua y se hinchan, pero el THT provoca una reorganización de los componentes en el gránulo de almidón, limitando la absorción de agua. Li y Gao (2010) reportaron que la capacidad de hinchamiento y la solubilidad de agua disminuye después del THT, debido a la reorganización de las cadenas del almidón, provocando que éstas se asocien, lo que limita la absorción de agua en

el interior del almidón y por lo tanto la estructura molecular del gránulo de almidón es más rígida.

Esto afecta considerablemente la viscosidad de pico y la viscosidad final que son un indicativo de la estabilidad de la formación del gel durante el enfriamiento del análisis de formación de pasta, así como la viscosidad de recuperación, que involucra a la retrogradación de las moléculas de almidón.

La información obtenida de los perfiles de pasta es importante, debido a que las muestras estudiadas producen una viscosidad baja, lo cual impide que se alteren las características finales de los productos si es aplicado un calentamiento durante el procesamiento.

6.4 Digestibilidad *in vitro*

6.4.1 Determinación de las fracciones de ADR, ADL y AR

Diversas investigaciones se han realizado para generar las fracciones de ADL y AR, mediante la modificación del almidón. Algunos autores sugieren que las modificaciones físicas podrían elevar el contenido de las fracciones de ADL y AR (Jacobs *et al.*, 1998; Zavareze *et al.*, 2010a). Los valores de las fracciones de almidón (ADR, ADL y AR) después de la hidrólisis enzimática de las muestras no gelatinizadas y gelatinizadas se muestran en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Digestibilidad de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente.[†]

Muestra	Muestras no gelatinizadas (%)			Muestras gelatinizadas (%)		
	ADR	ADL	AR	ADR	ADL	AR
HPVC	4.3 ± 0.1 ^l	5.1 ± 0.05 ^h	65.6 ± 0.1 ^a	57.4 ± 0.2 ^c	6.3 ± 0.4 ^g	11.3 ± 0.6 ^f
HPV5*	7.8 ± 0.1 ^h	8.7 ± 0.1 ^d	58.5 ± 0.05 ^d	59.6 ± 0.4 ^b	2.1 ± 0.3 ⁱ	13.3 ± 0.2 ^{de}
HPV15*	44.5 ± 0.5 ^b	6.8 ± 0.3 ^{fg}	23.7 ± 0.3 ^{gh}	62.0 ± 0.4 ^a	4.9 ± 0.2 ^h	8.1 ± 0.5 ^g
HPV25*	46.7 ± 0.4 ^a	5.0 ± 0.1 ^h	23.3 ± 0.3 ^{gh}	62.1 ± 0.4 ^a	4.6 ± 0.2 ^h	8.4 ± 0.3 ^g
HPVC + HMT	5.5 ± 0.3 ^j	7.8 ± 0.2 ^e	63.6 ± 0.5 ^b	52.3 ± 0.5 ^e	13.8 ± 0.1 ^a	10.8 ± 0.4 ^f
HPV5* + HMT	9.3 ± 0.1 ^g	11.5 ± 0.3 ^c	55.8 ± 0.2 ^e	53.5 ± 0.3 ^d	8.9 ± 0.2 ^f	14.1 ± 0.3 ^d
HPV15* + HMT	42.9 ± 0.3 ^d	11.1 ± 0.4 ^c	22.9 ± 0.4 ^h	54.4 ± 0.4 ^d	9.6 ± 0.2 ^e	13.0 ± 0.3 ^e
HPV25* + HMT	44.1 ± 0.4 ^{cb}	7.5 ± 0.2 ^{ef}	29.1 ± 0.3 ^f	56.3 ± 0.2 ^c	5.8 ± 0.1 ^g	14.2 ± 0.2 ^{cd}
HPVC + HMT + A	5.1 ± 0.1 ^k	6.4 ± 0.2 ^g	65.1 ± 0.4 ^a	47.0 ± 0.2 ^h	11.1 ± 0.2 ^c	18.4 ± 0.4 ^a
HPV5* + HMT + A	7.8 ± 0.1 ^{ih}	8.8 ± 0.4 ^d	59.4 ± 0.4 ^c	48.5 ± 0.4 ^g	12.3 ± 0.2 ^b	15.2 ± 0.2 ^{bc}
HPV15* + HMT + A	35.6 ± 0.4 ^f	19.2 ± 0.5 ^a	21.7 ± 0.2 ⁱ	49.6 ± 0.5 ^{fg}	8.8 ± 0.1 ^f	18.1 ± 0.5 ^a
HPV25* + HMT + A	39.2 ± 0.3 ^e	13.0 ± 0.2 ^b	24.0 ± 0.1 ^g	50.2 ± 0.5 ^f	10.3 ± 0.1 ^d	16.0 ± 0.2 ^b

[†] Media de tres réplicas ± desviación estándar.

Valores en la misma columna con diferente letra son diferentes ($p < 0.05$).

HPVC: Harina de plátano verde cruda; HPV5*: Harina de plátano verde cocida por 5 min; HPV15*: Harina de plátano verde cocida por 15 min; HPV25*: Harina de plátano verde cocida por 25 min.

THT: Tratamiento humedad temperatura (100 °C, 24 h, 30% humedad (p/p)).

THT + A: Tratamiento humedad temperatura y almacenamiento (72 h, -20 °C).

Los resultados obtenidos en las muestras no gelatinizadas de las HPVC y cocidas a diferentes tiempos modificadas con el THT y THT+A pueden ser de importancia debido a que la cocción que se realizó al plátano verde y la modificación que se efectuó al almidón contenido en las HPV provocó una pre-cocción, por lo que estas harinas pueden usarse en productos donde el tratamiento térmico podría ya no ser necesario para su consumo.

En el caso de las muestras no gelatinizadas, para la HPVC se observó un contenido de 65.6% para la fracción de AR, (Cuadro 5), este valor fue más pequeño en comparación con la cantidad de AR que Carlos-Amaya (2010) obtuvo en almidón aislado de plátano verde (85.1%). Esta diferencia puede deberse a que el almidón en la HPV se encuentra dentro de una matriz que impide la cuantificación total de esta fracción. La cocción de la HPV incrementó el contenido de la fracción de ADR y disminuyó el contenido de AR, el efecto fue mayor cuando el tiempo de cocción se incrementó, lo que se atribuye a la gelatinización del almidón. La cocción del plátano produce la gelatinización de algunos gránulos de almidón, disminuyendo el contenido de AR (Aparicio-Saguilan, 2005).

Los valores de las fracciones de ADR, ADL y AR para las HPVC y cocidas a diferentes tiempos modificadas con el THT se observó una ligera disminución de la fracción de ADR y un incremento en la fracción de ADL, además de que la fracción de AR se mantuvo sin cambios considerables en comparación con las HPVC y cocidas a diferentes tiempos, a excepción de la muestra de 25*+THT que tuvo un incremento de esta fracción. El incremento de la fracción de ADL fue similar al comportamiento reportado por Shin y colaboradores (2005), en donde estudiaron la formación y las características estructurales del ADL en almidón aislado de camote. Ellos reportaron que dependiendo de la temperatura y el contenido de humedad en el tratamiento hidrotérmico, el contenido de la fracción de ADL podría incrementarse (al doble) comparado con el almidón nativo. Reportando un valor para el almidón nativo de 15.6% y para el almidón con THT bajo la condición de 100 °C, 20% humedad (p/p) un incremento (24.7%), y para la condición de 100 °C, 50% humedad (p/p) el valor fue 22.3%, el cual fue menor, lo que demuestra su teoría en cuanto a las condiciones del tratamiento.

Por otra parte, en base a lo reportado por Lehmann y Robin (2007), el THT se emplea para modificar las propiedades nutricionales del almidón, principalmente para generar AR. Las muestras de las HPVC y cocidas a diferentes tiempos con el THT+A mostraron una disminución en los valores de la fracción de

ADR y un incremento en los valores de la fracción de ADL, además de un ligero aumento de la fracción de AR. La reorganización de los componentes del almidón durante el almacenamiento permitió la formación de una estructura que es lentamente hidrolizada por las enzimas digestivas. Niba (2003) investigó el efecto del tratamiento hidrotérmico (temperatura y tiempo de almacenamiento) en la digestibilidad en harinas de maíz, papa, cocoyam, ñame, plátano y arroz, reportando que el contenido de la fracción de ADL para todas las harinas se incrementó en comparación con las harinas nativas. Así mismo, bajo la condición de almacenamiento (-20 °C, 10 días), la harina de plátano presentó un incremento del valor de la fracción de ADL.

La gelatinización de las muestras de las HPVC y cocidas a diferentes tiempos antes de la prueba de Englyst y colaboradores (1999) disminuyó el contenido de la fracción de AR e incrementó el contenido de la fracción de ADR de las muestras cocidas a diferentes tiempos, sin embargo también se observó un cambio en la cantidad de la fracción de ADL (Cuadro 5). Para la HPVC, el contenido de las fracciones de ADR, ADL y AR (57.4, 6.3 y 11.3 % respectivamente) fueron similares para las fracciones de ADL Y AR a los valores reportados por Casarrubias-Castillo (2010), cuyos valores fueron de 10.96% y 14.09%, respectivamente, para almidón aislado de plátano. Por otra parte con respecto a la fracción de ADR Casarrubias-Castillo (2010) obtuvo un valor de 79.94% este valor es diferente al obtenido en este trabajo (57.4%). La diferencia de los valores de las fracciones se atribuye a que en la HPV existen otros componentes que impiden la total cuantificación del almidón de plátano verde que está contenido en esta harina, además de que el valor encontrado por Casarrubias-Castillo (2010) para AT de almidón de plátano aislado fue mayor (91.83%) al que se reportó (75%).

Las muestras de HPV cocidas a diferentes tiempos modificadas con el THT mostraron un aumento en el contenido de las fracciones de ADL y AR y una disminución en el contenido de la fracción de ADR, en comparación con su

contraparte de las HPV cocidas a diferentes tiempos. Chung y colaboradores (2009) observaron un decremento similar del valor de la fracción de ADR y un incremento de los valores de las fracciones de ADL y AR con el THT en muestras de almidón de maíz, chícharo y lenteja, gelatinizadas. Ellos reportaron que el incremento de estas fracciones probablemente se debió a las interacciones amilosa-amilosa y amilosa-amilopectina (formadas durante el THT), que resisten durante la gelatinización, lo que en parte restringe la accesibilidad de las enzimas hidrolíticas a las cadenas (amilosa y amilopectina) del gránulo de almidón. El efecto en el incremento de estas fracciones, así como la disminución de la fracción de ADR, fue más alto en las muestras cocidas a diferentes tiempos modificadas con el THT+A. Este patrón es debido a que el almacenamiento del almidón de plátano gelatinizado a baja temperatura produce retrogradación que incrementa el contenido de la fracción de AR (Bello-Pérez *et al.*, 2005).

El incremento del contenido de las fracciones de ADL y AR tiene un efecto benéfico para la salud, debido a que ambas fracciones podrían prolongar la sensación de saciedad, por lo que podrían ser incorporadas en alimentos destinados a regímenes especiales de alimentación y/o para los programas de pérdida de peso. El análisis de las HPV modificadas con diferentes tratamientos térmicos, pueden brindar información acerca de las características y propiedades de digestibilidad, así como sus posibles aplicaciones.

6.5 Fracción indigerible (FI)

Los porcentajes de fracción indigerible de las muestras de las HPVC y cocidas a diferentes tiempos modificadas con el THT y THT+A, se muestran en el Cuadro 6. La determinación de la cantidad de constituyentes no digeribles en el intestino delgado, y por lo tanto que llegan a convertirse en sustrato para la microflora del colon, se evaluó como parte de la FI.

Cuadro 6 Fracción indigerible de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente.[†]

Muestra	FIS (%)	FII (%)	FIT (%)
HPVC	3.1 ± 0.2 ^d	41.6 ± 0.8 ^a	44.7 ± 0.9 ^a
HPV5*	4.1 ± 0.1 ^c	30.4 ± 0.4 ^d	34.5 ± 0.4 ^c
HPV15*	4.8 ± 0.1 ^{ab}	17.2 ± 0.2 ^g	22.0 ± 0.2 ^f
HPV25*	5.1 ± 0.3 ^{ab}	18.1 ± 0.1 ^g	23.1 ± 0.6 ^f
HPVC + HMT	3.8 ± 0.4 ^c	37.7 ± 0.9 ^c	41.5 ± 1.2 ^b
HPV5* + HMT	4.7 ± 0.1 ^{ab}	36.4 ± 0.2 ^c	41.1 ± 0.1 ^b
HPV15* + HMT	4.9 ± 0.1 ^{ab}	20.3 ± 0.4 ^f	25.1 ± 0.4 ^e
HPV25* + HMT	5.2 ± 0.2 ^{ab}	21.8 ± 0.2 ^e	27.1 ± 0.3 ^d
HPVC + HMT + A	4.7 ± 0.4 ^b	39.6 ± 0.3 ^b	44.3 ± 0.5 ^a
HPV5* + HMT + A	4.8 ± 0.2 ^{ab}	40.6 ± 0.5 ^{ab}	45.0 ± 0.4 ^a
HPV15* + HMT + A	4.9 ± 0.4 ^{ab}	21.0 ± 0.6 ^{ef}	25.9 ± 0.9 ^{de}
HPV25* + HMT + A	5.3 ± 0.3 ^a	21.3 ± 0.4 ^{ef}	26.7 ± 0.4 ^{de}

[†] Media de tres réplicas ± desviación estándar.

Valores en la misma columna con diferente letra son diferentes ($p < 0.05$).

HPVC: Harina de plátano verde cruda; HPV5*: Harina de plátano verde cocida por 5 min; HPV15*: Harina de plátano verde cocida por 15 min; HPV25*: Harina de plátano verde cocida por 25 min.

THT: Tratamiento humedad temperatura (100 °C, 24 h, 30% humedad (p/p)).

THT + A: Tratamiento humedad temperatura y almacenamiento (72 h, -20 °C).

La FI no sólo comprende a la fibra dietética y al AR, también a algunas proteínas, ciertos polifenoles y otros compuestos asociados de importancia nutricional. La fracción predominante en todas la muestras fue la fracción indigerible insoluble (FII) (Cuadro 6), este comportamiento puede deberse a que esta fracción contiene fibra dietética insoluble (FDI) (celulosa, hemicelulosa, lignina), AR, proteína resistente y compuestos polifenólicos (Saura-Calixto *et al.*, 2000). Se ha reportado que la HPV tiene un alto contenido de AR y fibra dietética

(Juárez-García *et al.*, 2006; Rodríguez-Ambriz *et al.*, 2008). Los altos valores de FII pueden ser atribuidos a estos contenidos en HPV.

La determinación del contenido de fibra ha ido evolucionando, aunque los conceptos son muy similares para la FI y la FD, los valores en relación al contenido en los alimentos son muy diferentes. En cuanto a la FII y la FDI en HPV se ha reportado que muestran una gran diferencia, Rodríguez-Ambriz y colaboradores (2008) obtuvieron un valor de 44 % para la FII, el cual fue similar al reportado en la HPVC que fue de 41.6% (Cuadro 6). Por otra parte, Aguilar-Sandoval (2008) obtuvo un valor de 6.03% de FDI. La diferencia en los valores puede deberse a que en la determinación de la FI existe una similitud en cuanto a las condiciones fisiológicas en comparación con la metodología analítica de la determinación de la FD, además de que el valor que corresponde a la FDI forma parte de la FII (Saura-Calixto *et al.*, 2004). En el caso de la fracción indigerible soluble (FIS), Saura-Calixto y colaboradores (2000) encontró que la composición de la FIS podría ser muy similar a la fibra dietética soluble (FDS), debido a que lo que corresponde en ambas fracciones es lo que se retiene después de la diálisis de los sobrenadantes de la hidrólisis enzimática, y que las pequeñas diferencias entre estos valores se pudieron atribuir a las diferentes condiciones experimentales (preparación de la muestra, tiempos de incubación, pH, temperatura) en los análisis de FI y FD. En HPV se reportó un valor de FDS de 1.99 % (Aguilar-Sandoval, 2008), este valor es menor en comparación al reportado en la Cuadro 6 para la HPV cruda que fue de 3.1 %, la diferencia que se presenta pudo deberse a la preparación de la muestra, así como al grado de maduración del plátano usado en cada estudio.

La cocción de laS HPV no afectó apreciablemente la FIS, pero la FII disminuyó conforme el tiempo de cocción incrementó, y esto hace que los valores de la fracción indigerible total (FIT) se reduzcan. Esto puede deberse a la gelatinización del almidón y a la disminución el AR, lo que permite mayor digestibilidad del almidón (Aparicio-Saguilan, 2007). Las muestras de las HPV

cocidas a diferentes tiempos modificadas con el THT, mostraron un ligero incremento de la FII, lo cual puede atribuirse a la fusión de los componentes del gránulo de almidón debido a la alta temperatura del THT. Las muestras de HPVC y cocidas a diferentes tiempos modificadas con el THT incrementaron la FIT y se observó un ligero aumento cuando las muestras fueron almacenadas. El incremento en la FII y consecuentemente en la FIT se debe a la retrogradación del almidón, como parte de una reorganización de los componentes del almidón. Cabe mencionar que los valores por encima del 25% de los compuestos presentes en las muestras son indigeribles, por lo que las muestras de HPV bajo estos tratamientos se sugiere que pueden utilizarse en la elaboración de productos alimenticios con bajos requerimientos calóricos.

CONCLUSIONES

- ❖ La harina de plátano verde modificada con el THT conservó un arreglo de la estructura granular del almidón y no hay una pérdida de la propiedad de birrefringencia.
- ❖ El porcentaje de amilosa lixiviada en los gránulos de almidón contenidos en las harinas de plátano disminuyó conforme se incrementó el tiempo de cocción del plátano verde, siendo aún menor después de la modificación física, debido al reordenamiento de los componentes del gránulo de almidón.
- ❖ El patrón de difracción de rayos X para el almidón contenido en la harina de plátano verde fue de tipo C, el cual cambió a tipo A debido a la deshidratación causada por la modificación física, lo que a su vez provocó una estructura cristalina más estable.
- ❖ La modificación del almidón contenido en la harina de plátano verde incrementó las temperaturas de gelatinización (T_0 , T_p y T_c), sin embargo la entalpia de gelatinización disminuyó, debido a una disrupción de las dobles hélices presentes en la región cristalina. Tanto las temperaturas de retrogradación como los valores de entalpia presentaron valores más bajos que los de gelatinización, debido a que el orden estructural no fue recuperado en su totalidad.
- ❖ El comportamiento del análisis de viscosidad de las harinas de plátano verde modificadas disminuyó al comparar con la harina control, esto se debió a una menor absorción de agua, lo que generó pastas menos viscosas.

- ❖ La modificación de las harinas de plátano verde con el THT aumentan las fracciones de almidón de digestión lenta y almidón resistente en muestras no gelatinizadas y gelatinizadas.
- ❖ En muestras gelatinizadas se observó un incremento de la fracción de almidón resistente con la modificación con THT+A.
- ❖ La harina de plátano verde presentó un alto contenido de carbohidratos no digeribles debido al mayor contenido de la fracción indigerible insoluble, que incrementó al modificar las harinas de plátano verde.
- ❖ La muestra de harina de plátano verde cocida por 5 min y modificada con el THT, fue la que presento un mayor incremento en las fracciones de almidón de digestión lenta y almidón resistente, así como de la fracción indigerible insoluble.
- ❖ La cocción del plátano verde y la modificación con el THT, mejora las propiedades nutracéuticas de las HPV, produciendo harinas precocidas que pueden utilizarse en la preparación de alimentos que no requieran procesamientos térmicos prolongados.

ANEXO

Cuadro 7. Amilosa lixiviada de las harinas de plátano verde control y modificadas físicamente.†

Muestra	Amilosa lixiviada (%)			
	50 °C	65 °C	80 °C	95 °C
HPVC	1.1 ± 0.2 ^{ab}	1.3 ± 0.3 ^{cd}	26.7 ± 0.3 ^a	32.1 ± 0.5 ^a
HPV5*	1.4 ± 0.2 ^{ab}	1.9 ± 0.2 ^{abc}	20.4 ± 0.2 ^b	31.2 ± 0.2 ^a
HPV15*	1.6 ± 0.2 ^{ab}	2.1 ± 0.2 ^{ab}	17.2 ± 0.5 ^d	25.8 ± 0.4 ^b
HPV25*	1.7 ± 0.3 ^a	2.3 ± 0.3 ^a	10.22 ± 0.4 ^f	20.1 ± 0.2 ^e
HPVC + HMT	1.0 ± 0.3 ^{ab}	1.2 ± 0.2 ^{cd}	19.7 ± 0.3 ^b	23.1 ± 0.4 ^{b^c}
HPV5* + HMT	1.1 ± 0.2 ^{ab}	1.7 ± 0.1 ^{abcd}	18.6 ± 0.2 ^c	22.3 ± 0.3 ^{cd}
HPV15* + HMT	1.3 ± 0.1 ^{ab}	1.8 ± 0.5 ^{abcd}	16.7 ± 0.1 ^d	18.9 ± 0.2 ^f
HPV25* + HMT	1.4 ± 0.2 ^{ab}	1.9 ± 0.2 ^{abc}	9.4 ± 0.2 ^{fg}	13.1 ± 0.4 ^h
HPVC + HMT + A	0.9 ± 0.4 ^b	1.1 ± 0.2 ^d	17.0 ± 0.3 ^d	22.6 ± 0.3 ^{cd}
HPV5* + HMT + A	1.1 ± 0.2 ^{ab}	1.6 ± 0.2 ^{bcd}	16.5 ± 0.2 ^d	21.9 ± 0.2 ^d
HPV15* + HMT + A	1.2 ± 0.2 ^{ab}	1.7 ± 0.1 ^{abcd}	12.5 ± 0.2 ^e	16.22 ± 0.2 ^g
HPV25* + HMT + A	1.4 ± 0.2 ^{ab}	1.8 ± 0.2 ^{abcd}	8.7 ± 0.2 ^g	11.2 ± 0.2 ⁱ

† Media de tres réplicas ± desviación estándar.

Valores en la misma columna con diferente letra son diferentes ($p < 0.05$).

HPVC: Harina de plátano verde cruda; HPV5*: Harina de plátano verde cocida por 5 min; HPV15*: Harina de plátano verde cocida por 15 min; HPV25*: Harina de plátano verde cocida por 25 min.

THT: Tratamiento humedad temperatura (100 °C, 24 h, 30% humedad (p/p)).

THT + A: Tratamiento humedad temperatura y almacenamiento (72 h, -20 °C).

LITERATURA CITADA

- AACC. **2000**. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. Tenth Edition. Vol. I y II.
- Abd-Karim A., Norziah M. H. and Seow C. C. **2000**. Methods for the study of starch retrogradación (review). *Food Chemistry*, 71:9-36.
- Abraham T. E. **1993**. Stabilisation of paste viscosity of cassava starch by heat-moisture treatment. *Starch/Starke*, 45: 131-135.
- Aguilar-Sandoval A. **2008**. Tratamiento enzimático de la pulpa de plátano (*Musa paradisiaca L.*) para la obtención de jarabe de glucosa y fibra dietética. Tesis de maestría. CeProBi-IPN, México.
- Aguirre-Cruz A. **2009**. Efecto de la modificación química del almidón presente en la harina de plátano (*Musa paradisiaca L.*), en el incremento de la fibra dietética: caracterización fisicoquímica, funcional y estructural. Tesis de doctorado. Instituto Tecnológico de Zacatepec. CeProBi-IPN, México.
- Anónimo. **2007**. Fibras dietarías para mejorar la salud y reducir el riesgo de enfermedades. *Revista de la industria de alimentos y del packaging*, No. 45.
- Ao Z., Quezada-Cavillo R., Sim L., Nichols B. L., Rose D. R., Sterchi E. E. and Hamaker B. R. **2007**. Evidence of native starch degradation with human small intestinal maltase-glucoamylase (recombinant). *FEBS Letters*, 581:2381-2388.
- Aparicio-Saguilán A. **2007**. Obtención de almidón resistente por tratamiento en autoclave a partir de almidón de plátano modificado: caracterización fisicoquímica, morfológica y estructural. Tesis de doctorado. CeProBi-IPN, México.
- Asp N. G. **1994**. Nutritional classification of food carbohydrates. *American Journal of Clinical Nutrition*, 59: S679–681.
- Axelsen M., Arvidsson L.R., Lonroth P. and Smith U. **1999**. Breakfast glycaemic responses in patients with type 2 diabetes: effects of bedtime dietary carbohydrates. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53:706-710.
- Bello-Pérez L. A. **1995**. Amilopectina-Characterización molecular y funcional. Tesis de Doctorado. Cinvestav-IPN. Irapuato, México.

- Bello-Pérez L.A., Agama-Acevedo E., Sánchez-Hernández L. y Paredes-López O. **1999**. Isolation and partial characterization of banana starches. *Journal Agriculture. Food Chemistry*, 47:854-857.
- Bello-Pérez L. A., Agama-Acevedo E., Sáyago-Ayerdi S. G., Moreno-Damian E. and Figueroa S. D. C. **2000**. Some structural, physicochemical and functional studies of banana starches isolated from two varieties growing in Guerrero, México. *Starch/Stärke*, 52:68–73.
- Bello-Pérez L. A., Aparicio-Saguilan A., Hernandez-Urbe J. P. and Agama-Acevedo E. **2010**. Banana starch and flour as nutraceutical ingredients. in, a. Tiwari (ed), *Polisaccharides: development, properties and applications* (pp. 91-112). Nova Science Publishers, Huappauge, NY. isbn: 978-1-60876-544-7.
- Bello-Pérez L. A., Aparicio-Saguilan A., Mendez-Montealvo G., Solorza-Feria J., and Flores-Huicochea E. **2005**. Isolation and partial characterization of mango (*Mangifera indica L.*) starch: morphological, physicochemical and functional studies. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60:7-12.
- Bello-Pérez L. A., Méndez-Montealvo G. y Solorza-Feria J. **2002**. Estructura molecular de almidones. *Memorias de Investigación*. CeProBi-IPN, México.
- Bello-Pérez L. A. y Paredes-López O. **1999**. El almidón: lo conocemos pero no lo conocemos. *Ciencia*. 50: 29-33.
- Bello-Pérez L. A., and Romero-Manilla R. **2000a**. Preparation and properties of physically modified banana starch prepared by alcoholic-alkaline treatment. *Starch/ Stärke*. 52:154-159.
- Bello-Pérez L. A., Solorza-Feria J. y Paredes-López O. **2001**. El almidón como fibra. *Conversa*. 10-15.
- Benton D. and Nabb S. **2003**. Carbohydrate, memory, and mood. *Nutrition Reviews*, 11:S61-S67.
- Björck I. and Asp N.G. **1994**. Controlling the nutritional properties of starch in foods— a challenge to the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 5:213-218.
- Calañas-Contiente A. J. y Bellido D. **2006**. Bases científicas de una alimentación saludable. *Revista Medica Científica Universidad de Navarra*, 50(4):7-14.
- Carlos-Amaya F. **2010**. Propiedades fisicoquímicas y de digestibilidad de almidón de plátano (*Musa paradisiaca L.*) sometido a una modificación dual. Tesis de maestría. CeProBi-IPN, México.

- Casarrubias-Castillo M. G. **2010**. Digestibilidad y características moleculares de almidón de plátano (*Musa paradisiaca* L.) y mango (*Manguifera indica* L.) modificados enzimáticamente. Tesis de maestría. CeProBi-IPN, México.
- Champ M., Langkilde A. M., Brouns F., Kettlitz B. and Bail-Collet Y. L. **2003**. Advances in dietary fibre characterization. 2. Consumption, chemistry, physiology and measurement of resistant starch; implications for health and food labelling. *Nutrition Research Reviews*, 16:143-161.
- Chávez M. M., Hernández M. y Roldan J. A. **1992** Tablas de uso práctico del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. Comisión Nacional de Alimentación del Instituto Nacional de Nutrición.
- Chung H. J., Liu Q. and Hoover R. **2009**. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers*, 75(3):436–447.
- Colonna P., Buleon C. and Mercier C. **1981**. Pisum sativum and Vicia faba carbohydrates: Structural studies of starches. *Journal of Food Science*, 46(1):88-93.
- Colonna P., Leloup V. and Buleon A. **1992**. Limiting factors of starch hydrolysis. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46:S17-S32.
- Cook S., Weitman M., Auinger P., Nguyen M. and Dietz W.H. **2003**. Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents. *Archives of Pediatrics & Adolescents Medicine*, 157:821-827.
- Da Mota R. V., Lajolo F. M., Ciacco C. And Cordenusi B. R. **2000**. Composition and functional properties of banana flour from different varieties. *Starch/Starke*, 52(2-3):63-68.
- Davis H., Skrzypek W., and Khan A. **1994**. Iodine binding by amylopectin and stability of the amylopectin-iodine complex. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 32(12):2267-2274.
- Donald A. M., Waigh T.A., Jenlins P. J., Gidley M. J., Debet M. and Smith A. **1997**. Internal structure of starch granules revealed by scattering studies. In: Tester R. F., Donovan J. W., Lorenz K. and Kulp K. 1983. Differential scanning calorimetry of heat-moisture treated wheat and potato starches. *Cereal Chemistry*, 60:381-387.
- Donovan J. W. **1979**. Phase transitions of the starch-water system. *Biopolymers*, 18:263-275.

- Eerlingen R. C., Crombez M. and Delcour J. A. **1993**. Enzyme-resistant starch. I. Quantitative and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclaved starch on resistant starch formation. *Cereal Chemistry*, 70:339-344.
- Eerlingen R. C. and Delcour J. A. **1995**. Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. *Journal of Cereal Science*, 21:1-8.
- Eliasson A. C. **1996**. *Carbohydrates in Food*. Marcel Dekker, New York.
- Ells L.J., Seal C.J., Kettlitz B., Bal W. and Mathers J.C. **2005**. Postprandial glycaemic, lipaemic and hemostatic responses to ingestion of rapidly and slowly digested starches in healthy young women. *British Journal of Nutrition*, 96:948-955.
- Englyst H. N. and Cummings J. H. **1986**. Digestion of the carbohydrates of banana (*Musa paradisiaca sapientum*) in the human small intestine. *American Journal of Clinical Nutrition*, 44:42–50.
- Englyst K. N. and Englyst H. N. **2005**. Carbohydrate bioavailability. *British Journal of Nutrition*, 94(1):1-11.
- Englyst H.N., Kingman S.M. and Cummings J.H. **1992**. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46:S33–S50.
- Englyst K. N., Vinoy S., Englyst H. N. and Lang V. **2003**. Glycaemic index of cereal products explained by their content of rapidly and slowly available glucose. *British Journal of Nutrition*, 89:329-339.
- Espinosa-Solis V. Estudios Estructurales de almidón de fuentes no convencionales: mango (*Mangifera indica L.*) y plátano (*Musa paradisiaca L.*). **2008**. Tesis de maestría. CeProBi-IPN, México.
- EURESTA. **1992**. European flour action concerted on resistant starch. EURESTA Newsletter III: 7.
- Faisant N., Buléon p., Colonna P., Molis C., Lartigue S., Galliche J. P. and Champ M. **1995a**. Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: structural features of resistant starch. *British Journal of Nutrition*, 73(1):111-123.
- Faisant N., Gallant D. J., Bouchet B. and Champ M. **1995b**. Banana starch breakdown in the human small intestine studied by electron microscopy. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49(2):98–104.

- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). FAOSTAT statistics database, Agriculture, Rome, Italy. **2008**.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). FAOSTAT statistics database (last updated May 2004), Agriculture, Rome, Italy. **2004**.
- Forster M., Rodriguez E. R., Martin J. D. and Romero C. D. **2003**. Distribution of nutrients in edible banana pulp. *Food Technology and Biotechnology*, 41(2):167-171.
- Franco C. M. L., Ciacco C. F. and Tavares D. Q. **1995**. Effect of heat-moisture treatment on the enzymatic susceptibility of corn starch granules. *Starch/Stärke*, 47(6):223–228.
- Francois B. **1999**, Los Productos Nutracéuticos Oportunidades para los Recursos Naturales Autóctonos, el Papel de los Investigadores, Instituto interamericano de Cooperación para la Agricultura, centro regional andino, Fascículo Técnico No. 18.
- French D. 1972. Fine structure of starch and its relationship to the organization of starch granules. *Denpun Kagaku*. 19:8-25.
- Galliard T. **1987**. *Starch: Properties and potential*. New York. John Wiley.
- Gernat C., Radosta S., Anger H. and Damashun G. **1993**. Crystalline parts of three different conformations detected in native and enzymatically degraded starches. *Starch/Stärke*, 45(9), 309.
- Giugliano D., Ceriello A. and Esposito K. **2006**. The effects of diet on inflammation. *Journal of the American College of Cardiology*, 48:677-685.
- Golay A., Koellreutter B., Bloise D., Assal J.-P. and Würsch P. **1992**. The effect of muesli or cornflakes at breakfast on carbohydrate metabolism in type 2 diabetic patients. *Diabetes Research and clinical practice*, 15:135-142.
- Goñi I., García-Alonso A. and Saura-Calixto, F. **1997**. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, 17:427-437.
- González-Soto R.A. **2006**. Obtención y caracterización de almidón resistente de plátano macho (*Musa paradisiaca* L). Tesis de doctorado. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN, México.
- Guilbot A. and Mercier C. **1985**. Starch. In: *The Polysaccharides*. O. Spinall (ed.). Academic Press, New York. p. 209-282.

- Gunaratne A. and Hoover R. **2002**. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydrate Polymers*, 49(4):425–437.
- Guzmán-Maldonado H. and Paredes-López O. **1995**. Amylolytic enzymes and products derived from starch: A review. *Critical Review Food Science Nutrition*, 35:373-403.
- Han J.A. and BeMiller J.N. **2007**. Preparation and physical characteristics of slowly digesting modified food starches. *Carbohydrate Polymers*. 67:366-374.
- Hizukuri S. **1985**. Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. *Carbohydrate. Research*, 141(2):295-306.
- Holm J., Bjorck I., Ostrowska S., Eliasson A.C. and Asp N. G. **1983**. Digestibility of amylo-lipid complexes in vitro and in vivo. *Starch/Stärke*, 35:294-297.
- Hoover R. and Mannuel H. **1996**. The effect of heat–moisture treatment on the structure and physicochemical properties of normal maize, waxy maize, dull waxy maize and amylo maize V starches. *Journal of Cereal Science*, 23(2):153-162.
- Hoover R. y Rathayake R. M. W. S. **2001**. Determinación of total amylose content of starch. En Wrolstad., R. E., Acree, T. E., An, H., Decker, E. A. Penner, M. A., Reid, D. S., Schwartz, S. J., Shoemaker, C. F. y Spums, P. (Eds.), *Current protocols in food analytical chemistry (Section, Unir 2-3)*. New York: Wiley.
- Hoover R. and Vasanthan T. **1994**. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of cereal, legume, and tuber starches. *Carbohydrate. Research*, 252:33–53.
- Hoover R. and Vasanthan T. **1994a**. The effect of annealing of the physicochemical properties of wheat, oat, potato and lentil starches. *Journal of Food Biochemistry*, 17(5):303–325.
- Hoover R. and Vasanthan T. **1994b**. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of cereal, legume, and tuber starches. *Carbohydrate Research*, 252:33–53.
- Hormdok R. and Noomhorm. A. **2007**. Hydrothermal treatments of rice starch for improvement of rice noodle quality. *LWT*, 40:1723–1731.

- Hu G., Qiao Q., Tuomilehto J., Balkau B., Borch-Johnsen K. and Pyörälä K. **2004**. Prevalence of the metabolic syndrome and its relation to all-cause and cardiovascular mortality in nondiabetic European men and women. *Archives of Internal Medicine*, 164:1066-1076.
- Jacobs H. Eerlingen R. C. Spaepen H. Grobert P. J. and Delcour J. A. **1998**. Impact of annealing on the susceptibility of wheat, potato and pea starches to hydrolysis with pancreatin. *Carbohydrate Research*, 305(2): 193-207.
- Jane J. **2006**. Current understanding on starch granule structure. *The Japanese Society of Applied Glycoscience*, 53(3):205-213.
- Jane J., Chen Y. Y., Lee L. F., McPherson A. E., Wong S., Radosavljevic M. and Kasemsuwan T. **1999**. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. *Cereal Chemistry*, 76(5):629–637.
- Jenkins P. J. and Donald A. M. **1998**. Gelatinisation of starch—a combined WAXS/SAXS/DSC and SANS study. *Carbohydrate research*, 308:133–147.
- Jeznach A., Slotwinski R., and Szczygiel B. **2007**, Malnutrition, Inflammation, Atherosclerosis in Hemodialysis patients, *Rocz Panstw Zakl Hig, Review, Pubmed-indexed for MEDLINE*, 58(1):8-83
- Juarez-Garcia E., Agama-Acevedo E., Sa´Yago-Ayerdi S. G., Rodríguez-Ambriz S. L. and Bello-Pérez L. A. **2006**. Composition, Digestibility and Application in Breadmaking of Banana Flour. *Plant Foods for Human Nutrition* 61:131–137.
- Kalra E. K. **2003**. Nutraceutical-Definition and introduction. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 5(3) article 25.
- Karkalas J. and Qi X. **2004**. Starch-composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39:151-165.
- Kawabata A., Takase N., Miyoshi E., Sawayama S., Kimura T. and Kudo K. **1994**. Microscopic observation and X-ray diffractometry of heat/moisture-treated starch granules.
- Koolman J. y Röhm K. H. **2004**. *Bioquímica: texto y atlas*. Ed. Panamericana. Tercera edición. Pag 158-161.
- Kuakpetoon D., Wang Y. **2007**. Internal structure and physicochemical properties of corn starches as revealed by chemical surface gelatinization. *Carbohydrate Research*, 342:2253-2263.

- Lehmann U. and Robin F. **2007**. Slowly digestible starch-its structure an health implications: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 18:346-355.
- Li S., Gao Q. and Ward R. **2010**. Effect of Heat-Moisture Treatment on the Formation and Properties of Resistant Starches From Mung Bean (*Phaseolus radiatus*), *Starches. Food Hydrocolloids*, 25(7):1702-1709.
- Liu Q. **2005**. Understanding Starches and Their Role in Foods. *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications*, 310-355.
- Lorenz K, Kulp K. **1982**. Cereal and root starch modification by heat-moisture treatment. I. Physico-chemical properties. *Starch/Stärke*, 34(2):50–54.
- Lutz T. and Scharrer E. **1991**. The colonic flora, fermentation and large bowel digestive function. In the large intestine: physiology, pathophysiology and disease, eds. S. F. Philips J. H. Pemberton and r. G. Shorter, pp. 51-92. Mayo foundation, Raven Press, Nueva York.
- Maache-Rezzoug Z., Zarguili I., Loisel C., Queveau D. and Buléon A. **2008**. A. Structural modifications and thermal transitions of standard maize starch after DIC hydrothermal treatment. *Carbohydrate Polymers*, 74(4):802–812.
- MacAllister R. V. **1979**. Nutritive sweeteners made from starch. In: S. Tipson and D. Horton, Editors, *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry* vol. 36. Academic Press, New York. p. 15.
- Martínez-Puig D. **2006**. Implicaciones digestives y metabolicas del consume de almidón resistente en el cerdo. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria de Barcelona. Bellaterra.
- Meyer K. H.; Brentano W. and Bernfeld P. **1940**. Reserches sur l´amidon. II. Sur la nonhomogénéité de l´amidon. *Helvetica Chimica Acta*. 23: 845-853. En: Stevenson D. G. Role of starch structure in texture of winter squash (*Cucurbita maxima D.*) fruit and starch functional properties. PH. D. Dissertation. Iowa State University. Ames. Iowa. U. S. A.
- Millán–Testa C. E., Méndez–Montealvo M. G., Ottenhof M. A., Farhat I. A. y Bello–Pérez L. A. **2005**. Determination of the molecular and structural characteristics of okenia, mango, and banana starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(3) 495–501.
- Muller H. G. y Tobin G. **1995**. *Nutrición y ciencia de los alimentos*. Editorial Acribia
- Niba L. L. **2003**. Processing effects on susceptibility of starch to digestion in some dietary starch sources. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 54:97–109.

- Nikuni Z. **1969**. Denpun and Chori (Starch and cookery). Chorikagaku. 2:6-14. Citado por: Stevenson, D. G. (2003) Role of starch structure in texture of Winter squash (*Cucurbita máxima D.*) fruit and starch functional properties. PhD. Dissertation. Iowa State University. Ames. Iowa. U.S.A.
- Ovando-Martínez M. **2008**. Pasta adicionada con harina de plátano: digestibilidad y capacidad antioxidante. Tesis de maestría. CeProBi-IPN, México.
- Owolabi B.I.O., Afolabi T.A. and Adebowale K.O. **2010**. Effect of heat moisture treatment on the functional and tableting properties of corn starch. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 4 (7):498–510.
- Pacheco-Delahaye E. y Testa G. **2005**. Evaluacion nutricional, física y sensorial de panes de trigo y plátano verde. Interciencia. 30(5):300-304.
- Paredes-López O., Bello-Pérez I. A. y López M. G. **1994**. Amylopectin: structural gelatinización and retrogradación studies. Food Chemistry 50:411-418.
- Paredes-López O. y Valverde M. E. **2006**. Los recursos nutraceuticos y medicinales que mesoamerica le ha dado al mundo. Revista Cinvestav, volumen 25.
- Pomeranz Y. **1992**. Research and development regarding enzyme-resistant carbohydrates. European Journal Clinical Nutrition, 46:63-68.
- Rajasekaran A., Sivagnanam G. and Xavier R. **2008**. Nutraceuticals as therapeutic agents: A review. Research Journal of Pharmacy and Technology, 1(4):328-340.
- Reyes-Cruz Y. R. **2004**. Alimentos funcionales en la nutrición humana: estrés oxidativo y fisiología gastrointestinal. Seminario. Universidad de Costa Rica.
- Roberfroid, M. **2000**. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. The American journal of clinical nutrition, 71:1660S-1664S.
- Robin J. P., Mercier C. Charbonniere R. and Guilbot A. **1974**. Lintnerized starches. Gelfiltration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. Cereal Chemistry, 51:389-406.
- Rodríguez-Ambríz S. L., Islas-Hernández J. J., Agama-Acevedo E., Tovar J. and Bello-Pérez L. A. **2008**. Characterization of a fibre-rich powder prepared by liquefaction of unripe banana flour. Food Chemistry, 107(4):1515-15221.

- Rombeau J. L., Kripke S. A. and Settle R. G. **1990**. Short-chain fatty acids: production, absorption, metabolism and intestinal effects. In dietary fiber: basic and clinical aspects, eds. G. B. Vahouny and D. Kritchevsky, pp. 317-339.
- Sajilata M. G., Singhal R. S. and Kulkarni P. R. **2006**. Resistant starch—A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1):1–17.
- Sarko A. and Wu H. C. H. **1978**. The crystal structures of A-, B- and C-polymorphs of amylose and starch. *Stärke*, 30:73.
- Saura-Calixto F. **1998**. Antioxidant Dietary Fiber Product: A New Concept and a Potential Food Ingredient. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10):4303-4306.
- Saura-Calixto F. and Abia R. **1991**. Resistant starch: an indigestible fraction of foods. *Grasas y aceites*, 42(3):239-242.
- Saura-Calixto F., García-Alonso A., Goñi I. and Bravo L. **2000**. In vitro determination of the indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48(8):3342-3347.
- Saura-Calixto F. and Goñi I. **2004**. The intake of dietary indigestible fraction in the Spanish diet shows the limitations of dietary fiber data for nutritional studies. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58:1078-1082.
- Seal C.J., Daly M.E., Thomas L.C., Bal W., Birkett A.M., Jeffcoat R. and Mathers J.C. **2003**. Postprandial carbohydrate metabolism in healthy subjects and those with type 2 diabetes fed starches with slow and rapid hydrolysis rates determined *in vitro*. *British Journal of Nutrition*, 90:853-864.
- Schoch T. J. **1942**. Fractionation of starch by selective precipitation with butanol. *Journal of the American Chemical Society*. 64:2957-2961.
- Schoch T. J. **1964**. Starch fractions: Iodimetric determination of amylose potentiometric titration: standard method. In Whistler, R. L. Editors. *Methods in carbohydrate chemistry*. Vol. 4. Starch Academic Press. London. pp. 157-160.
- Shamai K., Bianco-Peled H. and Simón E. **2003**. Polymorphism of resistant starch type III. *Carbohydrate Polymers*, 54:363-369.
- Shin F., King J., Daigle K., An H. J. and Ali R. **2007**. Physicochemical properties of rice starch modified by hydrothermal treatments. *Cereal Chemistry*, 84(5):527-531.

- Shin S. I., Kim H. J., Ha H. J., Lee S. H. and Moon T. W. **2005**. Effect of hydrothermal treatment on formation and structural characteristics of slowly digestible non-pasted granular sweet potato starch. *Starch/Stärke*, 57(9):421–430.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). Resumen Nacional de la Producción Agrícola de Plátano. **2008**.
- Slaughter L. S., Ellis R. P and Butterworth J. P. **2001**. An investigation of the action of porcine pancreatic α -amylase on native and gelatinised starches. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1525:29-36.
- Sociedad Española de Nutracéutica Médica. **2010**. [www. nutraceuticamedica.org](http://www.nutraceuticamedica.org)
- Srichuwong S. and Jane J. **2007**. Physicochemical properties of starch affected by molecular composition and structures: a review. *Food Science and Biotechnology*, 16:234-332.
- Stick R. V. **2001**. Carbohidrates. The sweet molecules of life. In: R. V. Stick. Editors. Australia. pp. 217-218.
- Stute R. **1992**. Hydrothermal modification of starches: the difference between annealing and heat–moisture treatment. *Starch/Starke*, 44:205-214.
- Takaya T. Sano C. and Nishinari K. **2000**. Thermal studies on the gelatinization and retrogradation of heat-moisture treated starch. *Carbohydrate Polymers*, 41:97-1000.
- Tester R. F., Debon S. J. J. and Sommerville M. D. **2000**. Annealing of maize starch. *Carbohydrate Polymers*, 42(3):287–299.
- Tester R. F., Karkalas J. and Qi X. **2004**. Starch-composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39:151-165.
- Tester R. F. and Morrison W. R. **1990**. Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose and lipids. *Cereal Chemistry*, 67:551-557.
- Tovar J., Bjorck I. and Asp N. G. **1992**. Incomplete digestion of legume starches in rats: a study of pre-cooked flours containing retrograded and physically inaccessible starch fractions. *Journal of nutrition*, 122:1500-1507.
- Thomas D. J. and Atwell W. A. **1999**. In *Starches*. Eagan Press Handbook. St. Paul, Minnesota, U.S.A. pp. 31-48.
- Trujillo-Hernández C. A. **2010**. Análisis de la fracción indigerible de cinco frutos consumidos en México. Tesis de maestría. CeProBi-IPN, México.

- Waigh T. A., Gidley M. J., Komanshek B. U. and Donald A. M. **2000**. The phase transformations in starch during gelatinisation: a liquid crystalline approach. *Carbohydrate Research*, 328:165–176.
- Watcharatewinkul Y., Puttanlek C., Rungsardthong V., and Uttapap D. **2009**. Pasting properties of a heat-moisture treated canna starch in relation to its structural characteristics. *Carbohydrate Polymers*, 75:505–511.
- Wolever T.M.S. **2003**. Carbohydrate and the regulation of blood glucose and metabolism. *Nutritional Reviews*, 61:S40-S48.
- Wolever T. M. S. and Mehling C. **2002**. High-carbohydrate–low-glycemic index dietary advice improves glucose disposition index in subjects with impaired glucose tolerance. *British Journal of Nutrition*, 87:477-487.
- Wolf B.W., Bauer L.L and Fahey Jr. G. C. **1999**. Effects of chemical modification on in vitro rate and extent of food starch digestion: an attempt to discover a slow digested starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47:4178-4183.
- Wongsagonsup R., Varavinit S. and BeMiller J. N. **2008**. Increasing slowly digestible starch content of normal and waxy maize starches and properties of starch products. *Cereal Chemistry*, 85:738–745.
- Wu H.C.H. and Sarko A. **1978**. The double-helical molecular structure of crystalline A-amylose. *Carbohydrate Research*, 61:27–40.
- Zavareze E. R. and Guerra-Dias A. R. **2010a**. Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate polymers*, 88(2): 317-328
- Zavareze E. R., Storck C. R. and Castro L. A. S., Artigas-Schirmer M. and Guerra-Dias A. R. **2010b**. Effect of heat-moisture treatment on rice starch of varying amylose content. *Food Chemistry*, 121(2):358-365
- Zeeman S. C., Kossmann J. and Smith A. M. **2010**. Starch: Its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annual Review Plant Biology*, 61:209-234.
- Zhang G. Ao Z. and Hamaker B. R. **2006**. Slow digestion property of native cereal starches. *Biomacromolecules*, 7:3252-3258.
- Zhang, G., Ao Z. and Hamaker B. R. **2008a**. Nutritional property of endosperm starches from maize mutants: a parabolic relationship between slowly digestible starch and amylopectin fine structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:4686–4694.

- Zhang G., Sofyan M., and Hamaker, B. R. **2008b**. Slowly digestible state of starch: mechanism of slow digestion property of gelatinized maize starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:4695–4702.
- Zhang P., Whistler R. L., BeMiller J. N. y Hamaker B. R. **2005**. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility. *Carbohydrate Polymers*, 59:443–458.
- Zobel H. F. **1988**. Molecules to granule: a comprehensive starch review. *Starch/Stärke*, 40:44-45.