



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ACETILACIÓN Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL
ALMIDÓN DE CEBADA

TÉSIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADA
EN QUÍMICA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

CLAUDIA LIZZETH TREJO CÁRDENAS

ASESORES:

DR. FRANCISCO PRIETO GARCÍA

DRA. ALMA DELIA ROMÁN GUTIÉRREZ

DR. LUIS ARTURO BELLO PÉREZ

PACHUCA DE SOTO, HIDALGO, MARZO 2010



El presente trabajo fue presentado en:

- ✓ El Primer Foro Estudiantil de “Jóvenes en el Desarrollo la Ciencia” UAEH Agosto 2009
- ✓ XIX Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos 2009. Monterrey, Nuevo León.



El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Alimentos I del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y en el Laboratorio de Control de Calidad e Instrumentación del Departamento de Desarrollo Tecnológico del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del Instituto Politécnico Nacional (CEPROBI-IPN).

Este trabajo de investigación intitulado Modificación y Caracterización química del almidón acetilado de cebada fue financiado por COFUPRO región centro en la convocatoria 2007. Dentro del proyecto: Obtención de bioproductos a partir del grano de cebada con clave 42-2007- 0902.

Agradecimientos

A Dios, por permitirme llegar a la conclusión de mi trabajo con éxito y por permitirme compartirlo con mi familia y amigos. Gracias

A Rubi, Ana y Don Emilio, por hacerme sentir parte de su familia cuando realicé mi estancia en Morelos y por apoyarme en todo lo que necesite. Que Dios los Bendiga por siempre.

Al Dr. Luis Arturo Bello, por el apoyo brindado para la realización experimental de este proyecto de investigación.

A la Dra. Alma Delia y al Dr. Prieto, por su apoyo, confianza y paciencia al guiarme en el transcurso de la realización de este trabajo.

Dedicatorias

A mi Papá Roberto y a mi Mamá Antonia, quienes me brindaron todo el amor, apoyo y paciencia en todos los momentos de mi vida y sin los cuales jamás habría llegado hasta el lugar en donde ahora estoy. Los Quiero Mucho y sin ustedes no sería nada. Gracias por todo.

A mis hermanos Roberto y Jesús, aunque no nos llevemos del todo bien se que me apoyaron siempre.

A mis amigos Cecilia, Juan, Mónica, Kike, Emme, Miguel, por todos esos momentos de locura y alegría que hemos pasado juntos. Por estar presentes en mi vida apoyándome, dándome ánimos cada vez que me caía. Gracias muchacho y ojala que la vida no nos separe. Los quiero mucho.

Y también a toda aquellas personas que siempre estuvieron cerca de mí. Gracias por haber llegado a mi vida.

Alégrate, joven, de tu juventud, disfruta de corazón tus años jóvenes. Sigue el camino que te indique el corazón y lo que deleita a tus ojos. Pero no olvides que de todo ello Dios te pedirá cuentas. Aleja de tu corazón la tristeza y de tu cuerpo el sufrimiento; pero recuerda que los placeres de la juventud son cosas que se acaban.

Todas las cosas, absolutamente todas, dice Cohélet, son vana ilusión.

Del libro del Eclesiastes 11, 9-12, 8

RESUMEN

Los almidones son polisacáridos que representan el 60% del peso del grano de los cereales, se obtiene principalmente de maíz, trigo, arroz, cebada; presentan una gran variedad de funciones en la producción de alimentos y su uso está limitado, debido a que en la industria se prefieren almidones con mejores propiedades que las que poseen los almidones nativos. En general, los almidones nativos no resisten esfuerzos de corte, temperatura y pH's extremos; lo cual puede solucionarse mediante la modificación química. La acetilación es una modificación de este tipo, que mejora las propiedades fisicoquímicas del almidón. El objetivo del presente trabajo es modificar químicamente el almidón de cebada así como caracterizarlos fisicoquímicamente. Se llevó a cabo el aislamiento del almidón se llevó a cabo por el método propuesto Adkins y Greenwood (1966) modificado por Paredes y col. (1989); la acetilación se llevó a cabo por el método descrito por Huang y col. (2007); el porcentaje de acetilación y el grado de sustitución se determinaron de acuerdo al método propuesto por Sodhi y Singh (2005); los espectros de IR por transformada de Fourier (FTIR) de los almidones nativos y acetilados fueron obtenidos mediante el método de Pushpamalar y col. (2006); para conocer si las muestras sufrieron modificación en la región cristalina las muestras fueron observadas en un difractómetro de rayos X, también se observaron en un microscopio electrónico de barrido y en un microscopio de luz polarizada; el análisis térmico se evaluó por el método propuesto por Paredes y col. (1994); se llevó a cabo un análisis de perfil de viscosidad en un reómetro de placas paralelas. El resultado obtenido en cuanto al aislamiento del almidón indica que el método de obtención, así como, la materia prima son una buena fuente de obtención de este polisacárido; Los resultados señalan que la acetilación de almidón de cebada se llevó a cabo con un porcentaje de grupos $\text{CH}_3\text{-C=O}$ incorporados a la molécula de almidón de 3.66% con un GS de 0.143 para el almidón tratados con vinil acetato y de 6% con un GS de 0.240 para el tratado con anhídrido acético, esto es debido a que el anhídrido acético

presenta mayor reactividad en comparación con el vinil acetato; en cuanto al análisis realizado por espectrometría de infrarrojo los resultados muestran que el almidón acetilado presenta las señales correspondientes al los grupos acetilos, las señal es mayor para el almidón tratado con anhídrido acético debido a que es mayo la incursión de los grupos acetilos; en cuanto a los resultados obtenidos por difracción de rayos X se puede observar que la cristalinidad de los almidones se va perdiendo conforme va aumentando el Grado de Sustitución, esto también se puede observar cuando es llevada a cabo una microscopia de luz polarizada en donde se observa la perdida de la cruz de “malta”; en cuanto a la microscopía electrónica de barrido se puede decir que no hay cambios en la estructura externa del gránulo de almidón acetilado en comparación con el almidón nativo; las propiedades térmicas de los almidones modificados mostraron temperaturas de gelatinización más bajas y diferencias de entalpía que el nativo de 59.48° C y 7.65 J/g, para el acetilado con vinil acetato valores de 54.17° C, 4.84 J/g y para el acetilado con anhídrido acético de 52.58° y 2.36J/g; la caracterización viscoamilográfica de los almidones modificados muestra que las modificaciones provocan cambios significativos en la estructura del almidón, ya que los valores de viscosidad de los almidones modificados son mayores al nativo. Los almidones acetilados presentan mejores características fisicoquímicas con respecto al almidón nativo, estas características hace posible su uso en la industria de alimentos como agente estabilizador de productos para refrigerar y congela, además de que imparten textura.

Índice

	Pág
Índice general	
Índice de Tablas	
Índice de Figuras	.
I INTRODUCCIÓN	1
II ANTECEDENTES	3
2.1. Cereales	3
2.2. Cebada	3
2.2.1. Producción	4
2.3. Estructura del grano	4
2.3.1. Composición química del grano	6
2.4. Almidón	8
2.4.1. Fuentes de obtención	12
2.4.2. Usos	12
2.5. Almidones Modificados	13
2.6. Tipos de modificación	13
2.6.1. Modificaciones físicas	13
2.6.2. Modificaciones enzimáticas	14
2.6.3. Modificaciones químicas	15
2.7. Acetilación	17
2.7.1. Obtención de almidones acetilados	18
2.7.2. Reacción de acetilación	19
2.7.3. Determinación de los Grupos Acetilo	20
2.7.4. Determinación de las características morfológicas	21
2.7.5. Determinación de las características térmicas	23
2.7.6. Determinación de las propiedades reológicas	23

III	OBJETIVOS	25
	3.1. General	25
	3.2. Específicos	25
IV	MATERIALES Y MÉTODOS	26
	4.1. Selección y preparación de la muestra	26
	4.2. Métodos	26
	4.2.1. Aislamiento del almidón	27
	4.3. Acetilación	28
	4.3.1 Tratamiento con anhídrido acético	28
	4.3.2 Tratamiento con vinil acetato	28
	4.3.3. Determinación del porcentaje de acetilos	28
	4.3.4. Determinación del grado de sustitución	29
	4.4. Determinación de las características físicas	29
	4.4.1. Determinación del tamaño de partícula	29
	4.4.2. Análisis por Difracción de Rayos X (DRX)	30
	4.4.3. Análisis por Espectroscopía de Infrarrojo (FTIR)	30
	4.5. Caracterización morfológica del almidón	30
	4.5.1. Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)	30
	4.5.2. Microscopía de luz normal y luz polarizada	30
	4.6. Análisis Térmico de los almidones acetilados	31
	4.6.1. Gelatinización por calorimetría diferencial de barrido (DSC)	31
	4.6.2. Retrogradación	31
	4.7. Evaluación de las propiedades reológicas del almidón	32
	4.7.1. Perfiles de viscosidad	32
	4.7.2. Método viscosimétrico (Curvas de flujo)	32
	4.7.3. Método viscoelástico dinámico	32
V	RESULTADOS Y DISCUSIONES	34
	5.1. Selección y preparación del grano de cebada para la	34

extracción de almidón	
5.2. Aislamiento y extracción de almidón de cebada	35
5.3. Determinación del porcentaje de acetilos	35
5.4. Determinación del grado de sustitución (GS)	36
5.5. Determinación de las características físicas	38
5.5.1. Determinación del tamaño de partícula	38
5.5.2. Difracción de Rayos X (DRX)	41
5.5.3. Espectroscopia Infrarrojo (FTIR)	42
5.4. Caracterización morfológica de almidones	47
5.4.1. Microscopía de luz norma y luz polarizada	47
5.4.2. Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)	51
5.5. Análisis Térmico de los almidones modificados	56
5.5.1. Calorimetría Diferencial de Barrido	56
5.6. Evaluación de las propiedades reológicas del almidón	58
5.6.1. Perfiles de viscosidad	58
5.6.2. Método viscosimétrico (Curvas de flujo)	59
5.6.3. Método viscoelástico dinámico	61
VI CONCLUSIONES	63
VII PERSPECTIVAS	64
VIII BIBLIOGRAFÍA	65

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla</i>		<i>Pag</i>
1	Fracción proteica del grano de cebada (% de la proteína total)	7
2	Propiedades de amilosa y amilopectina	9
3	Diferentes tipos de modificación del almidón y sus principales propiedades	17
4	Porcentaje de acetilos en los almidones modificados de cebada	36
5	Grado de Sustitución de los almidones modificados con diferentes agentes	36
6	Tamaño del gránulo de almidón (μm) por tipos (%DSR)	39
7	Análisis térmico del almidón modificado	57
8	Resultados de la Ley de la Potencia para almidones	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.		Pag.
1	Estructura del grano de cebada	5
2	Conformación de la amilosa y la amilopectina	11
3	Reacción química durante la acetilación	19
4	Efectos de la acetilación en las características morfológicas de los gránulos de almidón de papa y maíz	22
5	Distribución del tamaño de partícula de los almidones nativos y modificados	38
6	Análisis por MEB de gránulos de almidón (sin cáscara y con cáscara); antes de gelatinizar y gelatinización total	40
7	Patrón de difracción de rayos X de los almidones de cebada, nativo y modificados por acetilación	41
8	Análisis por FTIR de Almidón Nativo de cebada (AN)	44
9	Análisis por FTIR del Almidón de cebada modificado con Acetato de Vinilo (AV)	45
10	Análisis por FTIR del Almidón de cebada modificado con Anhídrido Acético (AA)	46
11	Micrografía del almidón nativo de cebada: Luz Normal; Luz Polarizada	48
12	Micrografías del almidón de cebada acetilado con vinil acetato: Luz Normal; Luz Polarizada	49
13	Micrografías del almidón de cebada acetilado con anhídrido acético: Luz Normal; Luz Polarizada	50
14	MEB del almidón nativo de cebada: 1000x y 2000x	53
15	MEB del almidón modificado con vinil acetato: 1000x y 2000x	54
16	MEB del almidón modificado con anhídrido acético: 1000x y 2000x	55
17	Perfil de viscosidad de los almidones modificados	58
18	Curva de flujo e los almidones nativos y modificados por acetilación	60
19	Espectro mecánico de dispersión del almidón nativo, acetilado con vinil acetato y acetilado con anhídrido acético	62

I. INTRODUCCIÓN

La cebada es uno de los cereales más antiguos y actualmente se encuentra en el cuarto lugar de los quince granos más cultivados a nivel mundial. Los principales componentes del grano de cebada descascarillada son: el almidón con aproximadamente el 60 %; proteínas con el 13 % y fibra dietética total con el 3 %, del peso seco del grano.

El almidón es un polisacárido constituido por amilosa y amilopectina. Es utilizado por que regula y estabiliza la textura de los alimentos y por sus propiedades espesantes y gelificantes. Es por ello que los almidones son importantes en la industria alimentaria, ya que constituyen una excelente materia prima para modificar la textura y funcionalidad de los alimentos. Sin embargo su estructura nativa puede ser menos eficiente, debido a que las condiciones del proceso reducen su uso en otras aplicaciones industriales, por su baja resistencia al corte, descomposición térmica, alto nivel de retrogradación y sinéresis. Estas limitaciones pueden ser superadas mediante modificaciones, la cuales pueden llegar a ampliar su aplicación y llegar a ser factor de aplicación en el campo de alimentos.

El almidón como principal componente de la cebada ha sido estudiado debido al interés de aislarlo del grano y utilizarlo como ingrediente en aplicaciones de alimentos y otras industrias como la química, del papel, farmacéutica, de adhesivos, pinturas, películas.

La modificación química es el método más comúnmente usado. Ésta modificación es muy sencilla y se trata básicamente de las reacciones asociadas con los grupos hidroxilo de los polímeros de almidón. La acetilación es una modificación de este tipo, que mejora las propiedades fisicoquímicas del almidón. Para la formación de enlaces éter o éster con los grupos hidroxilos del almidón, que le proporcionen mayor estabilidad a altas temperatura, pérdida de viscosidad y formación de pastas fibrosas.

Los almidones acetilados con bajo Grado de Sustitución (GS) son comúnmente utilizados en la industria de alimentos ya que les imparte consistencia, textura y estabilidad; y los almidones con alto Grado de Sustitución han sido utilizados como termoplásticos, sustitutos de acetato de celulosa. Este trabajo de investigación tiene como objetivo la extracción y modificación química por acetilación de los almidones de cebada para poder aplicarlos a la industria de los alimentos.

II. ANTECEDENTES

2.1 Cereales

Los cereales son los frutos de pastos cultivados que pertenecen a la familia de las Gramíneas; considerada como la más grande e importante en el mundo. Son plantas monocotiledóneas cuyo cotiledón, localizado en el germen del grano, es denominado botánicamente *escutelum* o escudo. El fruto de los cereales es denominado botánicamente cariósido y consta de tres partes anatómicas fundamentales: pericarpio, endospermo y germen (Serna, 2001).

Los cereales constituyen un conjunto de plantas de gran importancia para la humanidad, ya que favorecen con el aporte energético así como los nutrientes como vitaminas, minerales, proteínas y carbohidratos para el organismo (Robles, 1990).

Desde el conocimiento más remoto de la historia, los cereales han sido considerados columna vertebral de la agricultura y principal sustento del hombre. Dentro de los principales cereales cultivados en el mundo se encuentran el maíz, trigo, arroz y cebada (Serna, 2001).

2.2 Cebada

La cebada es uno de los cereales más antiguamente cultivado en el mundo entero. Se cree que probablemente su cultivo se inició hace 10,000 años, en las culturas Babilónicas, Egipcias y Chinas (Acosta, 2007, ASERCA, 2003).

En la literatura antigua se reporta el uso de la cebada en la preparación de diversos tipos de bebidas alcohólicas y de alimentos fermentados. Debido a que otros granos llegaron a ser más abundantes como el trigo, centeno y avena, la cebada fue relegada a un estatus del pan de los pobres. Sin embargo, debido al interés actual de consumir alimentos que además de nutrir tengan un beneficio a la salud, el consumo de la cebada cobró gran fuerza por la cantidad de fibra

dietética presente en este cereal, principalmente los β -glucanos (Holtekjølen y col., 2006).

La cebada está representada principalmente por dos especies cultivadas: *Hordeum distichum* L., que es empleada para la obtención de cerveza y *Hordeum hexastichon* L., que se utiliza básicamente como forraje para la alimentación animal, ambas especies pueden agruparse bajo el nombre único de *Hordeum vulgare* L *spp vulgare* (Hernández, 2006).

2.2.1 Producción

La cebada es el cuarto cereal mas importante en el mundo después del trigo, arroz y maíz, debido a su amplia adaptación ecológica y a la diversidad de sus aplicaciones (Hernández, 2006). A nivel mundial lo principales países productores de cebada son Alemania, Australia, Canadá, China, España, Estados Unidos, Francia, Reino Unido, Suecia, Turquía y Uruguay (FAO, 2006).

La producción de cebada en México se ubica en la zona centro del país en los estados de Tlaxcala, Hidalgo, México, Guanajuato, Puebla, Zacatecas, Michoacán y Querétaro; aproximadamente el 70% de la producción se utiliza por la industria maltera y el 30% restante corresponde a variedades para alimentación de ganado (SAGARPA, 2006) .

El estado de Hidalgo cuenta con una superficie de 2,098,700 hectáreas de las cuales se dedican a la agricultura 625,032 hectáreas. En el año 2007 la producción de cebada se ubico en los municipios de Apan, Singuilucan, Almoloya, Zempoala y Tepeapulco con una producción de 110,119.53 ton (Predicción de Cosechas PRONESPRES, 2006; SAGARPA, 2008).

2.3 Estructura del grano

Las gramíneas, se caracterizan por producir un fruto cubierto o protegido, pertenecen a la clase de las Angiospermas. El grano de la cebada esta compuesto esencialmente por unas capas secas y duras de naturaleza lignocelulósicas, cuya función es proteger al grano en desarrollo y maduro; estas

capas son denominadas glumas o glumillas, las cuales encierran al cariósipide del cereal (Hernández, 2006).

El cariósipide se compone del pericarpio, la testa, la epidermis, endospermo y embrión o germen (Figura 1).

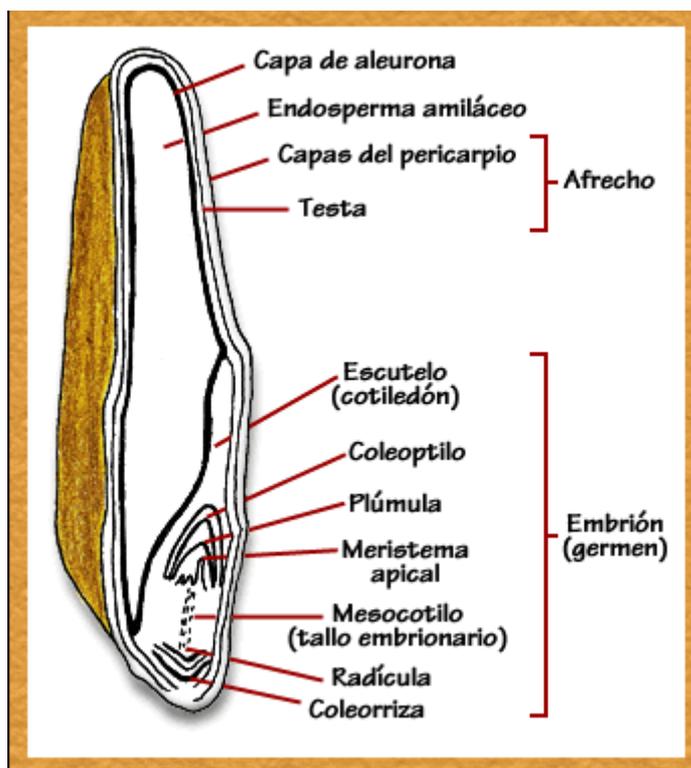


Figura 1. Estructura del grano de cebada

Fuente: http://www.uc.cl/sw_educ/cultivos/cereales/cebada/semillas.htm; Octubre, 2009

El pericarpio encierra a la semilla y está compuesto de varias capas de células. Su estructura se divide en epicarpio, mesocarpio y endocarpio. Está caracterizado por contener un alto contenido de fibra y cenizas y carece totalmente de almidón (Serna, 2001).

La testa se encuentra debajo del pericarpio, casi cubre por completo el núcleo, separando el interior del grano (Newman y Newman, 2008), está firmemente adherida a la parte ventral de las células tubulares y consiste en uno o dos estratos de células (Serna, 2001)

La capa mas externa del grano de cebada es el endospermo, de naturaleza proteica, se denomina aleurona, que en la mayoría de los cereales está compuesta por una sola capa, pero en la cebada hay dos o cuatro estratos (Serna, 2001).

El endospermo representa la mayor porción del grano, pudiendo llegar 75-85 % del peso total; es la parte más desarrollada del grano donde se acumulan las sustancias de reserva, las cuales servirán para el desarrollo de la planta (Hernández, 2006). El almidón es el principal componente de del endospermo, acumulado en gránulos embebidos en una matriz proteica.

El endospermo puede ser vítreo o almidonoso. El endospermo vítreo no existen espacios de aire y los gránulos de almidón están recubiertos por la matriz proteica, por lo que adquieren formas angulares. El endospermo almidonoso se encuentra encerrado por el vítreo, contiene su misma estructura pero las unidades de almidón son de mayor tamaño y menos angulares; estas estructuras no están tan aprisionadas como en el endospermo vítreo (Serna, 2001).

El germen encierra al axis embrionario y al *escutelum* o escudo. Sirve como almacén de nutrientes y como puente de comunicación entre la plántula o embrión en desarrollo y el gran almacén de nutrientes del endospermo. Se caracteriza por carecer de almidón y por su alto contenido de aceite, proteína, azúcares solubles y cenizas (Serna, 2001).

2.3.1 Composición química del grano

El grano de cebada maduro se compone principalmente de agua, minerales, lípidos, proteína y carbohidratos. Dicho cereal puede contener una humedad del 10 al 14%, el contenido de materia inorgánica y grasas es muy bajo respectivamente (Callejo, 2001).

Minerales

Los minerales representan entre el 2-3 % de la materia seca del grano de cebada. Se distribuyen en todo el grano, pero la mayor concentración se

encuentra en el embrión, pericarpio y aleurona. Determinaciones con rayos X demostraron que el potasio se halla en grandes concentraciones en la aleurona. El calcio es abundante en la aleurona pero en menor cantidad en el endospermo. El fósforo y potasio son los minerales más abundantes en la cebada y probablemente los más importantes en términos nutricionales. El fósforo se encuentra en forma de fitatos entre un 65-75 % del fósforo de todo el grano (Newman y Newman, 2008).

Lípidos

El contenido de lípidos del grano de cebada maduro se encuentra en el rango del 2-4 %. Los lípidos se concentran en el embrión, aunque el embrión representa el 3 % del peso del grano, proporciona cerca del 18 % del total de lípidos en la cebada. El endospermo contiene cerca del 77 % de lípidos. La aleurona contiene el 67 % de lípidos del grano total. Los lípidos no polares representan el 75 % del total de lípidos en todo el grano, y el 25 % restante se divide en lípidos polares, principalmente glucolípidos y fosfolípidos (Newman y Newman, 2008).

Proteína

La cantidad de proteína presente en el grano de cebada se encuentra reportada entre 9-13%. Las proteínas son compuestos nitrogenados de gran peso molecular, cuyos componentes básicos son L-aminoácidos, agrupados dentro de péptidos (Newman y Newman, 2008). Se encuentran distribuidas por todos los tejidos del grano, encontrándose en mayor concentración en el germen y en la capa de la aleurona que en el endospermo y el pericarpio (Hernández, 2006; Bellido, 1991). Osborne (1942), pionero en el estudio de las proteínas de los cereales, las clasificó en cuatro grupos, atendiendo a sus características de solubilidad. Albúminas y globulinas son solubles en agua y en soluciones salinas diluidas, respectivamente, y prolaminas son solubles en soluciones alcohólicas. Las glutelinas son extraídas con soluciones diluidas de ácidos o álcalis (Newman y Newman, 2008). Las fracciones proteicas en el grano de cebada se presentan en la tabla 1. Las glutelinas son las principales proteínas estructurales del

endospermo. Se encuentran situadas dentro de la matriz proteica y asociadas con las prolaminas (López y col. 2005).

Tabla 1. Fracción proteica del grano de cebada (% de la proteína total).	
Albúminas	3-4
Globulinas	10-20
Glutelinas	35-45
Prolaminas	35-45

Fuente: Bellido, 1991

Carbohidratos

Los carbohidratos se describen de numerosas maneras, algunas de las cuales son muy generales y tienen poco significado o aplicación en la alimentación y nutrición. Aproximadamente el 80 % del grano está compuesto por carbohidratos. Únicamente del 3 a 5 % de estos son estructurales, conformado por la fracción fibrosa. Los oligosacáridos principalmente la fructosa y rafinosa cuentan aproximadamente el 2 % del grano en peso seco. La maltosa y glucosa están presentes en cantidades pequeñas, en concentraciones considerables en el germen con respecto al endospermo. La mayoría de la celulosa en el grano es localizada en la cáscara en conjunto con la lignina. El componente más abundante es el almidón, arriba del 65% (MacGregor y Bhatti, 1996).

2.4 Almidón

El almidón es la principal fuente de energía en los granos de cereal. Aunque la cantidad de almidón contenida en el grano de cereal varía, este se encuentra entre un 60-75 % del peso del grano y provee entre un 70-80 % de las calorías consumidas por el hombre. Se produce en diferentes tejidos y órganos de la planta como: tallo, hojas, raíces, flores, frutos y semillas (Thomas y Atwell, 1998).

En la planta, el almidón se encuentra en forma de complejas partículas llamadas gránulos; de manera general éstos presentan un contenido de 0.06-0.45 % de proteína, 0.05-0.8 % de lípidos y 0.07-1.4 % de cenizas y el resto está compuesto por el almidón propiamente dicho (Della, 2007).

El almidón está constituido principalmente por polímeros de α -D glucosa, azúcar de seis carbonos, que en forma anillada se le conoce como D-glucopiranososa, ésta se une mediante enlaces glucosídicos, principalmente en presencia de agua (Thomas y Atwell, 1998).

En el almidón pueden distinguirse dos biopolímeros, la amilosa que es esencialmente lineal y la amilopectina que está altamente ramificada. Estos polímeros a pesar de ser similares molecularmente, difieren ampliamente en sus propiedades fisicoquímicas y funcionales (Tabla 2) (Thomas y Atwell, 1998). Dentro de los gránulos, el almidón tiene un arreglo semicristalino, y la cristalinidad se debe al ordenamiento y longitud de las cadenas de amilopectina (Agama y col., 2005).

Tabla 2. Propiedades de amilosa y amilopectina

Propiedad	Amilosa	Amilopectina
Estructura molecular	Esencialmente lineal	Ramificada
Longitud de cadena	10^3 Da	20-25 Da
Grado de pilomerización	10^3 Da	10^4 a 10^5 Da
Complejo con yodo	Azul (650 nm)	Púrpura (550 nm)
Afinidad con yodo	10-20 %	1%
Valor azul	1.4	0.05
Estabilidad en solución acuosa	Retrograda fácilmente	Estable
Propiedades de películas	Fuerte	Quebradiza
Digestibilidad (%)		
b- amilasa	70	55-60
b- amilasa y dextrinaza	100	100

Fuente: Thomas y Atwell, 1998

La amilosa es una molécula lineal, está compuesta por unidades lineales de α -D-glucopiranosilo unidas por enlaces (1,4), aunque existen también moléculas que posees una pocas ramificaciones en posición (1,6). Las ramificaciones

pueden ser muy largas o muy cortas, pero los puntos de ramificación están separados por largas distancias, de manera que las propiedades físicas de las moléculas de amilosa son esencialmente las de las moléculas lineales (Fennema, 2000). La cebada contiene entre un 44-47 % de amilosa, mientras que la mayoría de los cereales contiene un 25 % (Newman y Newman, 2008; BeMiller, 2007).

El acoplamiento de la posición axial-ecuatorial de las unidades α -D-glucopiranosilo con enlaces (1,4) en las cadenas de amilosa da a las moléculas una forma de hélice o espiral con un giro a la derecha (Figura 2) (BeMiller, 2007). El interior de la hélice contiene sólo átomos de hidrógeno, y por lo tanto es lipofílico, mientras que los grupos hidroxilo están situados en el exterior de la hélice (Fennema, 2000).

La amilosa tiene la habilidad de formar geles después de que el granulo de almidón fue cocinado. Ésta propiedad es evidente de acuerdo al contenido de amilosa en almidones. La formación del gel es resultado de la reasociación del almidón solubilizado después del cocimiento y puede ocurrir rápida o lentamente con el polímetro lineal de amilosa (Thomas y Atwell, 1998).

La amilopectina, es la molécula predominante en los almidones, es un polímero ramificado y es mucho mas larga que la amilosa. Se compone de enlaces glucosídicos en α (1,4) y las ramificaciones en α (1,6) (Thomas y Atwell, 1998). Tiene una masa molecular de 107 a 109 g/mol y un promedio de grado de polimerización de 2 millones; es una de las moléculas más grandes en la naturaleza, con un número de 20 a 25 unidades de glucosa entre los típicos puntos de ramificación (Delgadillo, 2008).

La organización básica de la amilopectina puede explicarse en tres tipos de cadenas: cadenas cortas (A), con un grado de polimerización de 14-18, enlazadas a través de un extremo reductor; cadenas largas (B) con un grado de polimerización de 45-55, se enlazan con una o varias cadenas A o B en grupos hidroxilos primarios; y un extremo reductos (C) (Figura 2) (Myers y col., 2000).

La amilopectina es el principal componente en la mayoría de los almidones entre el 70-80%, en ciertos casos alcanza niveles de hasta 98-99% en los almidones tipo cerosos, dependiendo de la fuente botánica (Bello y Tovar, 2001).

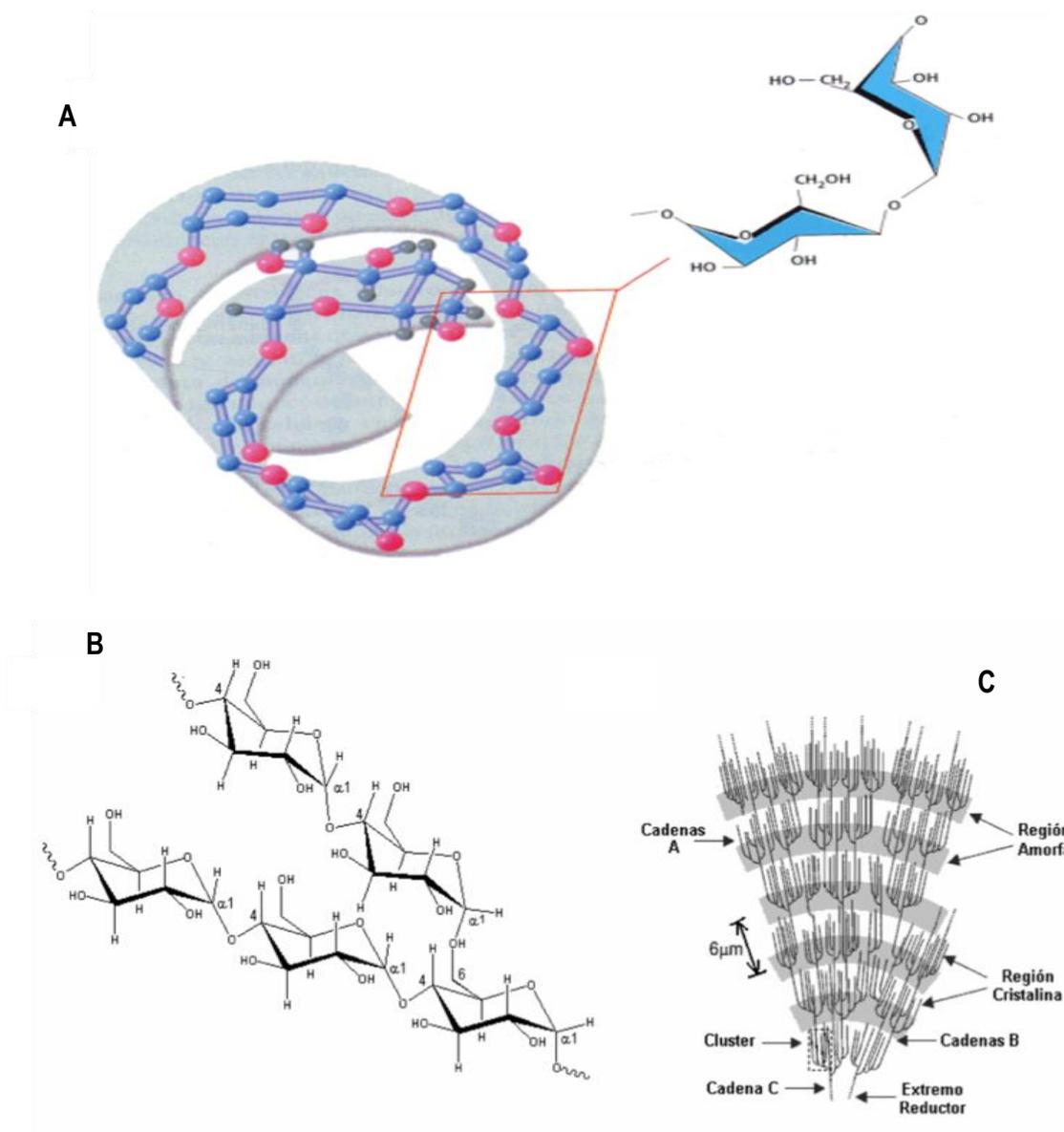


Figura 2. (A) Conformación helicoidal de la amilosa; (B) Amilosa: a-D-glucopiranosas unidas por enlaces a (1,4) Fuente: <http://javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/celular/amilosa.gif>, Octubre del 2009; (C) amilopectina: a-D-glucopiranososa unidas por enlaces a (1,4) y ramificaciones en a (1,6); (D) estructura molecular de la amilopectina.

Fuente: Myers y col., 2000

2.4.1 Fuentes de obtención

El almidón es una fracción importante de un gran número de productos agrícolas, como los cereales (maíz, trigo, arroz y cebada), cuyo contenido de este carbohidrato es de 30 a 80 %, las leguminosas (frijol, chícharo, haba), con 25 a 50%, los tubérculos (papa, yuca), en los que el almidón representa entre 60 y 90%, y algunas frutas, como el plátano y el mango, que en su estado verde o inmaduro alcanzan contenidos de almidón de hasta 70 % en base seca (Flores y col. , 2004).

Se calcula que en el 2004, la producción mundial de almidón fue de 60 millones de toneladas, siendo la principal fuente de obtención de este polisacárido el maíz con el 70 % de la producción, seguido de la papa con el 10 %, camote con el 8 %, trigo con el 6 % y cassava (yuca) con el 5 % (ISI, 2006).

A pesar de las diversas propiedades que tienen los almidones comerciales, en los últimos años, ha tomado gran importancia la obtención de almidón a partir de fuentes no convencionales (Huang y col. 2007).

El almidón como principal componente de la cebada ha sido estudiado debido al interés de aislarlo del grano y utilizarlo como ingredientes en aplicaciones de alimentos y otras industrias como la química, del papel, farmacéutica, de adhesivos, pinturas, películas.

2.4.2 Usos

El almidón constituye una excelente materia para modificar la textura y consistencia de los alimentos (Bello y col., 2002). Debido a sus componentes de alto peso molecular, el almidón se ha utilizado como: sustituto de grasas, espesante, texturizante, adhesivo, ligante, formador de películas, estabilizante de espumas, agente anti-envejecimiento de pan, gelificador, glaseante, humectante y estabilizante; principalmente en la industria de alimentos, textil y papelera (Thomas y Atwell, 1998).

2.5 Almidones modificados

Se ha denominado almidón modificado al almidón que ha sufrido una alteración en sus características físicas o químicas con la finalidad de mejorar sus propiedades funcionales (Shing y col., 2007).

Los almidones son utilizados en la industria alimentaria en numerosas formas, primordialmente por sus propiedades coloidales, ya que son sus principales propiedades funcionales del almidón (Wurzburg y Szymanski, 1970). Sin embargo, la estructura nativa del almidón puede ser menos eficiente debido a que las condiciones del proceso (temperatura, pH y presión) reducen su uso en otras aplicaciones industriales, debido a la baja resistencia a esfuerzos de corte, descomposición térmica, alto nivel de retrogradación y sinéresis (Bello y col., 2002).

Estas demandas se pueden satisfacer cuando los almidones nativos son modificados; siendo estos últimos de gran importancia no sólo en la industria de alimentos, sino en otras como: papel, textil y farmacéutica, entre otros (Wurzburg y Szymanski, 1970; Bello y col., 2002).

En general la modificación logra un incremento en la resistencia de pastas ante el calentamiento durante el cocinado, y durante condiciones ácidas del proceso, lo que hace las pastas de almidón más estables, o presenta propiedades funcionales específicas (BeMiller, 2007).

2.6 Tipos de modificación

Los almidones pueden ser modificados por diferentes vías, ya sean físicas, enzimáticas y químicas como se muestra en la tabla 3 (Thomas y Atwell, 1998).

2.6.1 Modificación física

La alteración de la estructura interna mediante la introducción de compuestos para sustituir a un grupo hidroxilo o la degradación de la estructura molecular a través de la descomposición por ácidos o enzimas, son procesos de modificación física (Branen y col. 2002).

El almidón dispersable en agua fría, es un almidón que ha sufrido un intenso hinchamiento en agua fría se elabora por calentamiento en 75-90 % de etanol o por un proceso especial de secado por nebulización. Es muy útil para la fabricación de postres y masas de galletas (Fennema, 2000).

La pregelatinización es el proceso en el que el almidón se calienta arriba del punto de gelatinización y se seca, produciendo un almidón pregelatinizado, instantáneo o precocido (Branen, 2002). Estos almidones son generalmente utilizados como espesantes en los alimentos que reciben tratamiento mínimo de calentamiento (Thomas y Atwell, 1998).

El tratamiento térmico de humedad del almidón es un tratamiento físico en el que los almidones son tratados con diferentes niveles de humedad (<35 %) por un período de tiempo determinado a una temperatura por encima de la temperatura de transición vítrea y por debajo de la temperatura de gelatinización. Sin embargo, la temperatura suele ser elegida sin tener en cuenta la temperatura de gelatinización (Cui, 2005).

2.6.2 Modificación enzimática

La modificación enzimática más ampliamente utilizada en el almidón es la conversión de almidón en maltodextrina, jarabe de maíz y azúcares (por ejemplo, dextrosa). Existe una amplia gama de estos productos, que varían según el tamaño de las moléculas en la mezcla de reacción final (Thomas y Atwell, 1998).

El poder reductor del producto es una medida del grado de degradación de almidón, el equivalente de dextrosa (DE) se utiliza para definir el poder reductor. Se mide de manera específica y se calcula como la dextrosa, expresado como porcentaje de materia seca. Por la definición de DE es de 100 dextrosa (Cui, 2005).

Hay muchas enzimas capaces de hidrolizar los enlaces glucosídicos en los polímeros de almidón. Principalmente las amilasas hidrolizan los enlaces α -1, 4. Otro grupo, desramificante de enzima, específicamente rompe los enlaces α -1, 6

en los puntos de ramificación en los polímeros de almidón (Thomas y Atwell, 1998).

2.6.3 Modificación química

El tipo más común de modificación es el tratamiento del almidón nativo con pequeñas cantidades de reactivos químicos y trata básicamente de las reacciones asociadas a los grupos hidroxilos del polímero de almidón. La modificación cambia la funcionalidad del almidón, debido a su alta eficiencia y a que brinda la posibilidad de controlar variables que influyen en las propiedades del material (Thomas y Atwell, 1998); cabe destacar que el resultado de cualquier modificación de almidón depende de su origen botánico, susceptibilidad de los gránulos de almidón a la hinchazón (absorción de agua) y la penetración de los productos químicos (Tomasik, 2004).

Las modificaciones químicas se dividen en métodos de conversión (hidrólisis, oxidación, dextrinización) y métodos de derivación (entrecruzamiento, estabilización y la adición de grupos funcionales) (Singh et al., 2007).

La hidrólisis ácida consiste en la suspensión del almidón en una solución acuosa de ácido clorhídrico (HCl) o ácido sulfúrico (H₂SO₄) y mantener a temperatura ambiente para prevenir la gelatinización. Cuando se obtiene la reducción de la viscosidad, el ácido se neutraliza y el almidón es recuperado por filtración. Amilodextrinas son producidas por la inmersión en ácido sulfúrico de almidón (por lo general a una concentración de 1.7 millones o 15 %) a temperatura ambiente durante un período determinado de tiempo. El tratamiento con 2.2 M de HCl a temperaturas elevadas (típicamente alrededor de 30 a 40 °C) produce almidón lintnearizado (Cui, 2005).

La reacción de oxidación constituye la ruptura de las cadenas de polímero de los grupos en grupos carbonilo y carboxilo. La introducción de los grupos carbonilo y carboxilo da como resultado una reducción de la temperatura de gelatinización, aumento de la solubilidad, y la disminución de gelificación (Branen, 2002). Es ampliamente utilizado en la alimentación, papel, textiles, ropa de

acabado y de la construcción material para proporcionar aprestado en la superficie y las propiedades de revestimiento (Chávez, 2008).

En piroconversión o dextrinización, estos productos se conocen como dextrina o más exactamente como pirodextrinas. Dependiendo de las condiciones de reacción (por ejemplo, pH, humedad, temperatura y duración del tratamiento), piroconversión produce una gama de productos que varían en la viscosidad, la solubilidad en agua fría, el color, la reducción del contenido de azúcar, y la estabilidad (Thomas y Atwell, 1998).

El entrecruzamiento minimiza la ruptura de los gránulos, la pérdida de la viscosidad y la formación de una pasta fibrosa durante el cocimiento. El entrecruzamiento es realizado por el tratamiento del almidón granular con reactivos multifuncionales capaces de formar enlaces éter o éster con los grupos hidroxilos del almidón. Los siguientes agentes pueden ser utilizados legalmente para entrecruzar almidones: Fosfato monosódico, Trimetafosfato de sodio (STMP, por sus siglas en inglés), Epiclorohidrina (EPI), Oxicloruro de Fósforo (POCl_3), una mezcla de ácido adípico-anhídrido acético y una mezcla de anhídrido succínico-acetato de vinilo. Dos agentes, POCl_3 y STMP, pueden ser usados solamente para dar almidones entrecruzados solamente o en combinación con otros reactivos para realizar modificaciones duales en el almidón (Carmona y col., 2007).

Tabla 3. Diferentes tipos de modificación del almidón y sus principales propiedades.

Modificación	Tipo	Propiedades
Física	<ul style="list-style-type: none">• Tratamiento con humedad y calor• Pregelatinización	Aumenta la solubilidad del almidón en agua fría
Enzimática	<ul style="list-style-type: none">• Hidrólisis parcial	Reduce el peso molecular
Química		
Conversión	<ul style="list-style-type: none">• Hidrólisis ácida• Tratamiento alcalino• Oxidación• Piroconversión- Dextrinización	Reduce el peso molecular, disminuye la viscosidad, blanquea el almidón
Derivación	<ul style="list-style-type: none">• Esterificación – Hidropropilación• Esterificación- Acetilación, Succinación• Entrecruzamiento- almidón fosfatado• Modificación dual	Reduce la retrogradación, estabiliza la molécula para los procesos físicos

Fuente: Shing y col., 2007

2.7 Acetilación

La acetilación es una modificación química del almidón por esterificación, en la cual se sustituyen sus grupos hidroxilos por grupos acetilos ($\text{CH}_3\text{-C=O}$) que le brindan mayor estabilidad, variando sus propiedades fisicoquímicas y funcionales, aún teniendo un bajo Grado de Sustitución (GS) (Rutenberg y Solarek, 1984; Thomas y Atwell, 1999). Estos se introducen mediante la reacción de algunos de los grupos hidroxilo con óxido de propileno, ortofosfato, anhídrido acético o acetato de vinilo (Wurzburg, 1970).

Los almidones acetilados tienen diferentes características a los nativos, presentan aproximadamente 6 °C menos en la temperatura de gelatinización (Tg) y el pico de viscosidad máxima es mayor con respecto al nativo, lo cual indica que los almidones acetilados se dispersan más fácilmente que los nativos. La acetilación también incrementa la claridad y estabilidad de los geles que se forman con este almidón y reduce la retrogradación (Rutenberg y Solarek, 1984).

En la industria, este tipo de almidón es útil principalmente en los productos para refrigerar y congelar, ya que la acetilación disminuye la sinéresis, también son usados como espesantes debido a que al aumentar la viscosidad del almidón, imparten textura, estabilidad y claridad (Rutenberg y Solarek, 1984). En la industria no alimentaria los almidones acetilados son usados para la fabricación de tela y papel (Singh, 2003).

La Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) sólo permite en alimentos almidones con Bajo Grado de sustitución. El almidón acetilado que se utiliza en alimentos contiene 0.5-2.5 % de grupos acetilos. La FDA limita a 2.5 % de grupos acetilos en almidones para uso en la industria (Rincón y col. 2007); y los almidones con alto GS han sido utilizados como termoplásticos, sustitutos de acetato de celulosa (de Graaf y col., 1995; Xu y col., 2004; Saartrat y col., 2005).

2.7.1 Obtención del almidón acetilado

Los almidones acetilados se obtienen con diferentes agentes modificantes como el ácido acético, anhídrido acético, vinil acetato y cloroacetato; generalmente, a pH básico de 7.5–9.0 y se realiza en presencia de catalizadores como NaOH, piridina, ácido sulfúrico, entre otros. Se deja reaccionar a temperatura constante; la reacción se detiene disminuyendo el pH o con la adición de agua o alcohol, posteriormente se hacen lavados para eliminar los residuos y se deja secar (Wurzburg, 1964; Rutenberg y Solarek, 1984; de Graaf y col., 1995). Mediante esta metodología se pueden obtener almidones acetilados de bajo y alto GS; el GS máximo sin gelatinización es de 0.5 aproximadamente, aunque esto depende del tipo de almidón. Cuando se requiere obtener almidones con alto GS,

se recomienda gelatinizar los almidones y/o aumentar la concentración de los reactivos (Mark y Mehlretter, 1972).

2.7.2 Reacción de acetilación

La acetilación del almidón es llevada a cabo en un medio acuoso de anhídrido acético a un pH alcalino; durante la acetilación tres grupos hidroxilo libres en los carbonos 2, 3 y 6 de la molécula de almidón pueden ser sustituidos con grupos acetilos (Xu y col., 2004; Cui, 2005).

Las reacciones que ocurren durante la acetilación son ilustradas en la figura 3; en la reacción principal, el almidón es acetilado con anhídrido acético y con una base como catalizador, esta reacción es un ejemplo de una sustitución nucleofílica en un carbono insaturado del anhídrido acético (Della, 2007).

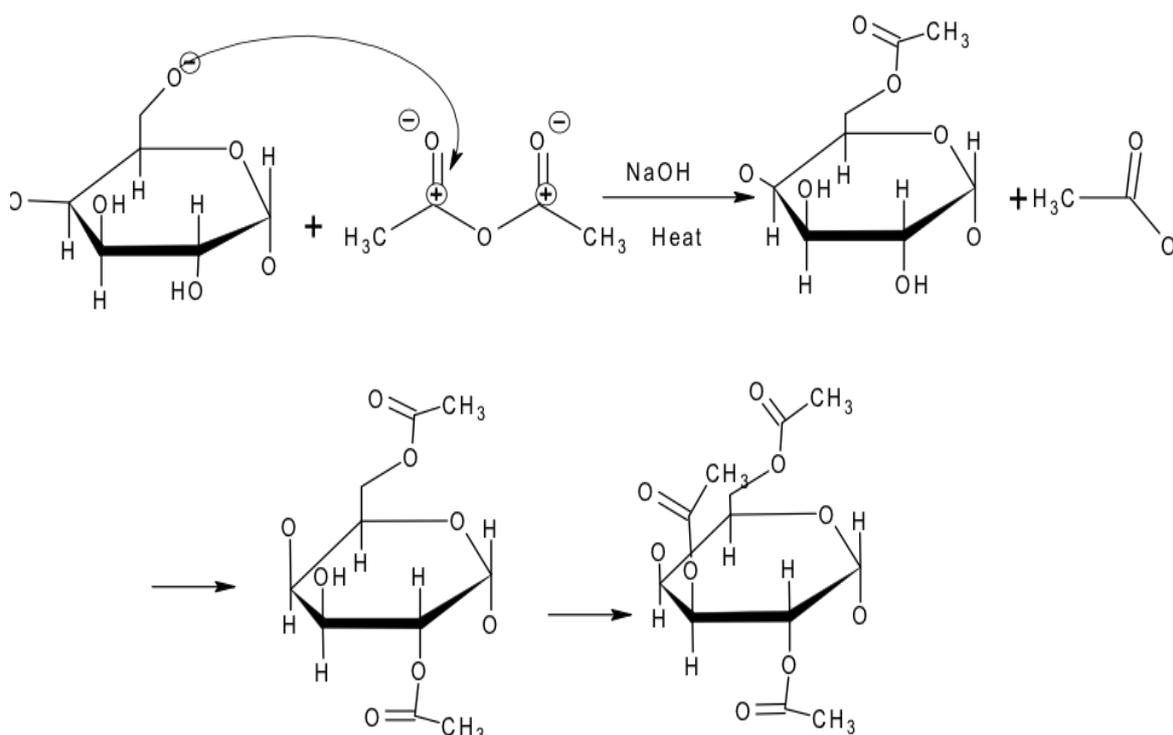


Figura 3. Reacción química durante la acetilación.

Fuente: Xu y col., 2004

Además los tres diferentes grupos hidroxilo tienen diferente reactividad. El primer OH en el carbono 6 es más reactivo y la acetilación es llevada a cabo más fácilmente que en los carbonos 2 y 3. De los grupos OH secundarios, el grupo -OH en el C2 es más reactivo que el del C3 (Xu y col., 2004); sin embargo, Heins y col. (1998) demostraron mediante resonancia magnética nuclear (RMN) que al hacer el análisis de los almidones ya acetilados la posición que se encontró mayormente acetilada fue la del C3.

La acetilación de los almidones depende de ciertos factores, como la fuente de obtención del almidón, concentración del reactivo, tiempo de reacción y pH. Varios investigadores mencionan que la reacción de acetilación es reversible, mostrando una desacetilación en el almidón (Rutenberg y Solarek, 1984; de Graaf y col., 1995; Xu y col., 2004).

2.7.3 Determinación de los Grupos Acetilos

El nivel de sustitución de los grupos hidroxilos a lo largo de la cadena de almidón a menudo son expresados como grado de sustitución (GS). El grado de sustitución son los moles de sustituyente por mol de d-glucosa (unidad de anhidroglicosa). El máximo posible de GS es de 3 cuando los tres grupos hidroxilo son sustituidos a lo largo de la cadena de almidón (Cui, 2005). El Grado de Sustitución puede ser calculado con la siguiente ecuación:

$$GS = \frac{162 \times \% \text{ Acetil}}{4300 - (42 \times \% \text{ Acetil})}$$

Los cambios en propiedades físico-químicas en el almidón acetilado en comparación con el almidón nativo es proporcional al grado de acetilación o el grado de sustitución de C=O. Por lo tanto, es importante para medir esta cantidad para controlar cuantitativamente el grado deseado de la acetilación de un almidón para uso en diferentes procesos (Phillips y col., 1999).

Si bien el nivel de los sustituyentes presentes en los almidones acetilados para uso alimenticio es bajo, estos grupos suelen tener efecto sobre las propiedades físicas de almidón. Los almidones modificados han abierto una

multitud de nuevos usos de los sistemas alimentarios en los almidones naturales (Wurzburg y Szymanski, 1970).

Tradicionalmente, el grado de acetilación en almidones modificados químicamente se encuentra utilizando métodos húmedo que implican la separación y los procedimientos de valoración. El método desarrollado por Wurzburg supone que las muestras de almidón modificado ha sido purificada y libre de compuestos residuales que podrían interferir con la valoración utilizados para medir el grado de acetilación (Phillips y col., 1999).

La espectroscopia de infrarrojo de los metil-ésteres puede ser utilizada para identificar si se llevó a cabo la acetilación en los almidones; el pico de los grupos carbonilo que se localiza a 1724 cm^{-1} del espectro infrarrojo, se ha utilizado para determinar el contenido de grupos acetilo en almidones acetilados (Xu y col., 2004).

2.7.4 Determinación de las características morfológicas

La Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) ha desempeñado un papel importante para la comprensión de la estructura granular de los almidones modificados. Se ha utilizado para detectar los cambios estructurales causados por los cambios químicos en las regiones sustituidas de los gránulos de almidón; figura 4 (Singh y col., 2007).

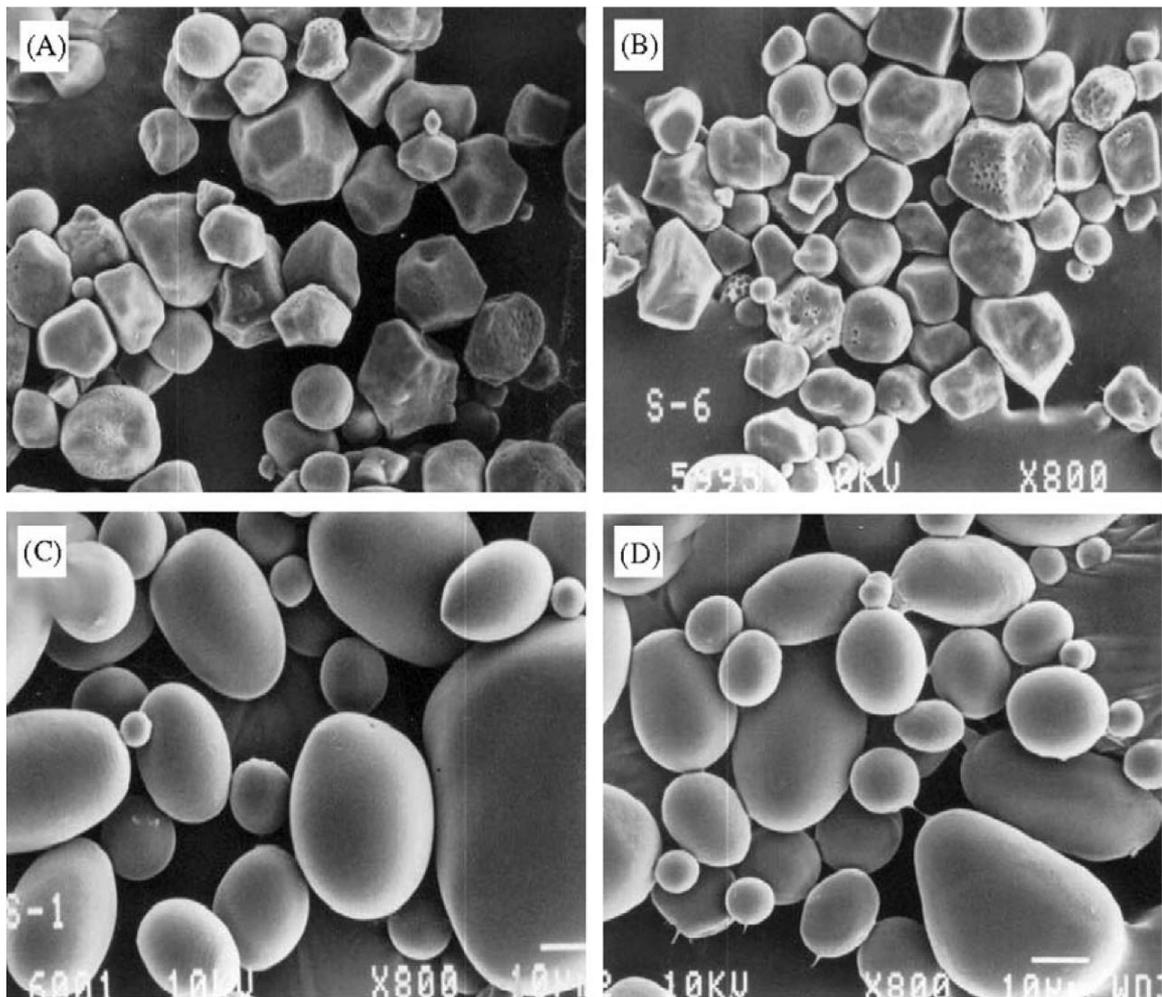


Figura 4. Efectos de la acetilación en las características morfológicas de los gránulos de almidón de maíz y papa: (A) gránulo de almidón nativo de maíz; (B) gránulo de almidón acetilado de maíz; (C) gránulo de almidón nativo de papa; (D) gránulo de almidón acetilado de papa.

Fuente: Singh, 2007.

Existen diferentes tipos de microscopia como la microscopia electrónica de transmisión (TEM), la microscopia electrónica de barrido (MEB), que nos permiten una mayor apreciación de la superficie del gránulo y su morfología en general (Chmelink, 2001).

La introducción de los grupos acetilo en las moléculas de almidón por acetilación da lugar a la reorganización estructural a causa del impedimento estérico. La morfología de los gránulos del almidón modificado a un bajo GS, no muestra grandes diferencias con respecto a los nativos; sin embargo, cuando los almidones son de alto GS, pierden la estructura granular y forman conglomerados

(Betancur y col., 1997; Xu y col., 2004; Singh y col., 2007).

2.7.5 Determinación de las propiedades térmicas

La Calorimetría diferencial de barrido (DSC) es un método valioso para obtener información sobre las propiedades del almidón (Ciesla, 2002); originalmente se había desarrollado como una herramienta para entender las características y las transiciones térmicas en polímeros sintéticos (Yu y Chistine, 2001).

La aplicación de DSC ha permitido la identificación de estructuras que son consecuencia de las condiciones de procesamiento como las generadas durante la gelatinización y la retrogradación del almidón al que igual que las modificaciones térmicas por los tratamientos de calor y humedad (Sandoval y col., 2005). Mide los cambios térmicos que presenta la muestra en este proceso, y la energía requerida para la gelatinización, lo cual principalmente refleja la pérdida del orden molecular (Jacobs y Delcour, 1998).

La temperatura de gelatinización de los almidones acetilados se reduce al incrementarse el contenido de grupos $\text{CH}_3\text{-C=O}$ aproximadamente $6\text{ }^\circ\text{C}$ (Guerra, 2007). La gelatinización ha sido estudiada por diversos medios, como el análisis térmico, difracción de rayo X y resonancia magnética nuclear; el DSC es la técnica más comúnmente utilizada (Singh y col., 2007).

En algunas industrias se utiliza la acetilación debido a que ésta reduce la temperatura de gelatinización de los almidones y también porque interfiere en la reasociación molecular de sus componentes (evita la retrogradación) (Singh y col., 2007).

2.7.6 Determinación de las propiedades reológicas

Reología es el estudio de la relación entre las fuerzas ejercidas sobre un material y la deformación resultante en función del tiempo; establece relaciones entre tres variables: deformación, esfuerzo y tiempo. El esfuerzo y la deformación se relacionan con la fuerza aplicada y con el cambio de forma que resulta de la aplicación de la fuerza (Franco, 2005). El almidón presenta diversas propiedades

funcionales debido a los cambios hidrotérmicos principalmente, para caracterizar estas propiedades de las dispersiones acuosas de almidón, se utiliza la reología (Della, 2005).

El conocimiento de las propiedades reológicas de las suspensiones de almidón y geles, no solo proporcionan información tecnológica, sino que ayuda a entender y predecir la textura, propiedades de flujo durante el procesamiento, así como también la vida media y atributos de calidad de los productos que contienen almidón (Sasaki y col., 2007).

La acetilación incrementa la claridad de los geles de almidón ya que aumenta la capacidad de hinchamiento y solubilidad de los gránulos. La claridad, viscosidad y estabilidad de los almidones acetilados son las propiedades que lo hacen una buena materia prima en las industrias de alimentos, papel y textil (Wurzburg y Szymanski, 1970).

Las propiedades de los almidones acetilados con GS 2-3 dependen principalmente del tipo de almidón, la longitud de las cadenas de sus componentes y las condiciones de la reacción de acetilación. La gravedad específica, la rotación, la temperatura de gelatinización y la degradación de los gránulos de almidones varían dependiendo del contenido de grupos $\text{CH}_3\text{-C=O}$ (Della, 2007).

III OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Modificar químicamente almidones de cebada así como caracterizarlos fisicoquímicamente.

3.2 Objetivos específicos

- Aislar los almidones por métodos físicos.
- Modificar los almidones mediante el uso de agentes químicos.
- Caracterizar de forma física el almidón modificado.
- Evaluar los diferentes niveles de modificación.
- Determinar su temperatura de gelatinización y retrogradación mediante el uso del calorímetro diferencial.
- Caracterizar la microestructura de los gránulos de almidón mediante el uso de microscopía electrónica de barrido y espectroscopía de infrarrojo.
- Caracterizar sus propiedades fisicoquímicas mediante el uso de un reómetro de placas paralelas.
- Determinar los grupos acetilos mediante un análisis de Rayos X.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

La cebada que se utilizará para la extracción y modificación del almidón es de la variedad Esmeralda, cultivada en el municipio de Apan en el año 2007.

4.1 Selección y preparación de las muestras

El grano de cebada se limpió en un agitador de tamices (W.S. TYLER, Mod. RX-29). Posteriormente se realizó una limpieza manual eliminando el material distinto al grano (piedras, hojas, restos florales) y se seleccionaron los mejores granos de acuerdo a la norma NMX-FF-043-SCFI-2003, para productos no industrializados para consumo humano cereal-cebada malatera (*Hordeum vulgare* L. y *Hordeum disticum* L.)

Para el perlado la muestra se preparó de la siguiente manera: El grano se acondicionó a una humedad del 10.5 % con un reposo de 24 h. La fórmula que se utilizó para acondicionar el grano a una humedad del 10.5 % en 100 g de materia seca fue:

$$\text{cantidad de agua (mL)} = \frac{\% \text{ Humedad requerida} \times \text{g materia seca}}{\% \text{ Diferencia de humedad}} - \% \text{ Humedad inicial}$$

Una vez transcurrido el tiempo, se realizó el descascarillado en una perladora (Dayton, Mod. 4K638C), con el fin de eliminar las glumas del grano y al mismo tiempo el contenido de cenizas.

4.2 Métodos

Los análisis realizados se hicieron por triplicado para cada una de las muestras de los almidones (Nativo, Acetilado con Vinil Acetato y Acetilado con Anhídrido Acético).

4.2.1 Aislamiento del almidón

Para el aislamiento de almidón se empleó el método de aislamiento neutro de Adkins y Greenwood (1966) modificado por Paredes y col. (1989). El grano se lavó con agua potable para eliminar el polvo y otras sustancias adheridas al mismo. Posteriormente se remojaron por 16-24 h en una solución reguladora de acetato de sodio 0.02 M con sales de cloruro de potasio 0.01 M en una relación 1:1 (v/v) ajustando a un pH= 6.5, con acetato de sodio 2 M. La relación de grano: solución fue de 1:2 (p/v). La mezcla se mantuvo en refrigeración (2-8 °C). Los granos suavizados se drenaron, se lavaron al menos 5 veces para eliminar el exceso de la solución y se molieron. Para la molienda se colocaron 150 g de grano dentro de un vaso de licuadora casera (marca Osterizer, modelo Galaxy, 10 velocidades, 1 L de capacidad) conteniendo 500 ml de agua potable y se licuó a una velocidad máxima por 1.5 min., posteriormente la pasta obtenida se pasó por tamices (marca W.S Tyler) en mallas número 425, 150, 75 y 45 (μm), en cada tamizado se lavó el residuo con agua potable hasta que en el líquido de salida no existieran partículas de almidón aparente, usando guantes y una pala de madera. El precipitado obtenido del tamizado y lavado se suspendió en una solución de NaCl 0.1 M con tolueno en una relación 7:1 (v/v) y se mantuvo en agitación durante 15 h a temperatura ambiente. Posteriormente la suspensión se centrifugó a 3500 rpm por 15 min. a 4 °C en una centrifuga (marca IEC modelo GP8R), con la finalidad de separar los sólidos (almidón) desechando el líquido obtenido de ésta operación.

El precipitado presentó dos capas, la superior de aspecto mucilaginoso de color café y la inferior de color blanco que corresponde al almidón. Ambas capas se separaron cuidadosamente con la ayuda de una espátula. Después de juntar el residuo blanco, se resuspendió en la solución NaCl:tolueno (7:1 v/v), se volvió a dejar en agitación con las condiciones antes especificadas y nuevamente se repitió el proceso completo. El almidón aislado se dejó secar en una estufa a 35 + 3 °C durante toda la noche, se pasó por un molino de harina y se tamizó en una malla número 150 (μm) para obtener un polvo homogéneo. El almidón obtenido se pesó y fue almacenado a temperatura ambiente para la utilización de los

posteriores análisis.

4.3 Acetilación

4.3.1 Tratamiento con anhídrido acético

El método descrito por Huang y col. (2007), fue utilizado para modificar por acetilación los almidones de cebada. El almidón de cebada fue dispersado en agua destilada (45 mL) y agitado durante una hora a 25 °C. La solución de hidróxido de sodio al 3% fue utilizada para ajustar el pH 8.0. El anhídrido acético (11.6 mL) fue agregado gota a gota a la mezcla, mientras se mantenía el pH en un intervalo de 8.0-8.3 con el NaOH al 3%. Después de agregar el reactivo la reacción se mantuvo por 10 min. La mezcla fue ajustada a pH 4.5 con HCl 0.5 M, después fue lavada dos veces con agua destilada y una vez con alcohol al 96 %. Se secó en una estufa por 24 h a 40 °C.

4.3.2 Tratamiento con vinil acetato

El método descrito por Huang y col. (2007), fue utilizado para modificar por acetilación los almidones de cebada. El almidón de cebada fue dispersado en agua destilada (45 mL) y agitado durante una hora a 25 °C. La solución de hidróxido de sodio al 3 % fue utilizada para ajustar el pH 8.0. El acetato de vinilo (11.4 mL) fue agregado gota a gota a la mezcla, mientras se mantenía el pH en un intervalo de 9.0-9.3 con el NaOH al 3 %. Después de agregar el reactivo la reacción se mantuvo por 10 min. La mezcla fue ajustada a pH 4.5 con HCl 0.5 M. después fue lavada dos veces con agua destilada y una vez con alcohol al 96 %. Se secó en una estufa por 24 h a 40 °C.

4.3.3 Determinación del porcentaje de acetilos

El porcentaje de acetilación y el grado de sustitución se determinaron de acuerdo al método propuesto por Sodhi y Singh (2005). El porcentaje de acetilación y el grado de sustitución se determinaron volumetricamente. El almidón acétilado (1 g) fue colocado en un matraz de 250 mL, se le agregaron 50 mL de etanol al 75 %, se tapó y fue calentado en un baño de agua a 50 °C por 30 min. Después de ese tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente y se le

agregaron 40 mL de KOH (0.5M). Fue titulado con HCl (0.5M) usando fenolftaleína como indicador. El mismo procedimiento se realizó en los almidones nativos para utilizarlo como referencia. El porcentaje de grupos CH₃-C=O se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Acetilos} = \frac{(\text{mL Blanco}) - (\text{mL de la muestra}) \times N \text{ del HCl} \times 0.043}{\text{g de muestra (base seca)}} \times 100$$

donde: 0.043 = miliequivalentes del grupo CH₃-C=O

4.3.4 Determinación del Grado de sustitución

Se determinó el GS en el almidón acetilado que equivale al número promedio de grupos OH que se reemplazaron por grupos CH₃-C=O en la UAG (Wuzburg, 1964) y se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{GS} = \frac{162 \times \% \text{ de acetilos}}{4300 - (42 \times \% \text{ de acetilos})}$$

donde: 162 = Peso molecular de la UAG

4300 = 100 x peso molecular del grupo CH₃-C=O

42 = (Peso molecular del grupo CH₃-C=O) – 1

4.4 Determinación de las características físicas

4.4.1 Determinación del tamaño de partícula

Para la determinación se utilizaron 1 g de muestra de cada uno de los almidones. Posteriormente, el análisis se realizó por medio del método de difracción de rayos láser en polvo. El análisis fue realizado en granulómetro Mastersizer 2000 (Malvern Instrument, USA) con un índice de refracción de 1.494 y una precisión de ±1 % en el DV 50 utilizando estándares de calidad Malvern, donde se utilizó como medio de transporte en el aire.

4.4.2 Análisis por Difracción de Rayos X (DRX)

Para la determinación del patrón de difracción de rayos-X los almidones nativos y acetilados se colocaron sobre el portamuestras del difractómetro de rayos X (Philips PW 1710, Netherlands), equipado con una fuente de cobre operado a un voltaje de 50 kV y un amperaje de 30 mA, produciendo una radiación con una longitud de onda (λ) 1.543 Å. Los datos fueron almacenados con los siguientes parámetros operativos: intervalo de 2θ entre 2 – 60° cada 0.02°, a una velocidad de barrido de 60 s/°; el difractómetro contenía 18 ranuras de divergencia y una ranura de recepción de 0.01 mm (Millán y col., 2005).

4.4.3 Análisis por espectroscopia de Infrarrojo (FTIR)

Los espectros de IR por transformada de Fourier (FTIR) de los almidones nativos y acetilados fueron obtenidos mediante el método de Pushpamalar y col. (2006). La muestra seca se mezcló con KBr en una relación almidón/KBr de 4:1. La mezcla se prensó para obtener una pastilla y se analizó en un espectrómetro Nicolet Magna-IRTM 550. Cada espectro fue analizado en un intervalo de resolución de 400 - 4000 cm^{-1} y se realizaron 16 barridos.

4.5 Caracterización morfológica del almidón

4.5.1 Microscopía electrónica de barrido

Las muestras de almidón fueron secadas en una estufa a una temperatura de 35 °C + 3 °C por dos días. Las muestras se colocaron sobre una cinta conductora de doble adhesión, la cual se fijó previamente en un soporte de aluminio. Posteriormente, las muestras se recubrieron con una capa de oro en un electro-depositador (marca Denton modelo Vaccum Desk II). Las muestras se observaron en un microscopio electrónico de barrido (MEB, marca JOEL, modelo JSM-G-300) a un voltaje de 20 KV, 18 mm. Las fotografías se tomaron por triplicado a las siguientes amplitudes 2000x, 1500x, 1000x, 500x y 100x.

4.5.2 Microscopía de luz normal y luz polarizada

Se colocó una cantidad mínima de muestra de almidón en el portaobjetos, se adicionó una gota de agua destilada y se puso un cubreobjetos. Las muestras se

observaron en un microscopio de luz polarizada (marca Nikon modelo EFD-3) acoplado a una cámara de video (marca Dage, modelo MTI DC- 330) utilizando un programa About Meta Morph version 6.1r0, con un objetivo de 10x. Los gránulos de almidón se seleccionaron al azar y se observó el fenómeno de birrefringencia mediante la formación de la cruz de malta en el centro del gránulo de almidón. Utilizando el mismo microscopio la muestra fue observada en campo claro con un objetivo de 10x. Las imágenes obtenidas fueron analizadas utilizando el programa Sigma Scan Pro, versión 5.0.0.

4.6 Análisis térmico de los almidones acetilados

4.6.1 Gelatinización por calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La temperatura de gelatinización de los almidones se evaluó por el método propuesto por Paredes y col. (1994). Se pesaron 2.2 mg de muestra de almidón en base seca dentro de una charola de aluminio. Posteriormente se adicionaron 7.5 μ L de agua desionizada. La charola fue sellada herméticamente y se dejó equilibrar por espacio de unos 30 min. antes de realizar el análisis. Como referencia se utilizó una charola de aluminio vacía. Transcurrido el tiempo de humectación (1 h) la muestra fue sometida a un programa de calentamiento en un intervalo de temperatura de 10 a 120 °C y una velocidad de 10 °C/min. La temperatura de inicio (T_i), temperatura de gelatinización o de pico (T_p), temperatura final (T_f) y la entalpía (ΔH) fueron obtenidas a partir de los termogramas directamente del análisis del software TA Instruments OS/2 versión 2.1.

4.6.2 Retrogradación

Para la determinación de retrogradación se almacenaron las charolas en refrigeración por siete días. Transcurrido el tiempo, la muestra fue sometida a un programa de calentamiento en un intervalo de temperatura de 10 a 120 °C y una velocidad de 10 °C/min. La temperatura de inicio (T_i), temperatura de gelatinización o de pico (T_p), temperatura final (T_f) y la entalpía (ΔH) fueron obtenidas a partir de los termogramas directamente del análisis del software TA Instruments OS/2 versión 2.1.

4.7 Evaluación de las propiedades reológicas del almidón

Los perfiles reológicos se analizaron en un Reómetro TA Instruments, modelo AR1000-N, con un sistema de placas paralelas y un espesor de muestra de 100 mm. Se hicieron suspensiones al 5 % (p/v) de sólidos totales. Se utilizó un sistema de placas paralelas de 60 mm y un espesor de muestra de 1000 mm. Primeramente se realizó la cocción de los almidones realizando un calentamiento de 25 a 90 °C manteniendo isotérmico a esta temperatura 5 min. Para evitar pérdidas de humedad se utilizó aceite mineral antes de iniciar cada cinética.

4.7.1 Perfiles de viscosidad

Los perfiles de viscosidad se obtuvieron en función del tiempo global, temperatura y la viscosidad (Pa/s).

4.7.2 Método viscosimétrico (Curvas de flujo)

Se obtuvo una pasta de almidón a 60 °C bajando la temperatura de 90 a 60 °C para realizar la medición a esa temperatura. La velocidad de calentamiento-enfriamiento en todo el ciclo fue de 2.5 °C/min. La medición se realizó en dos barridos de deformación de 0.06 a 300 s⁻¹ ascendente y descendente respectivamente, y un tercer barrido descendente de 300 a 0.06 s⁻¹.

La viscosidad fue calculada mediante la relación del esfuerzo de corte y la velocidad de deformación (t/g) como una función de la velocidad de deformación. Se reportó el último ciclo (descendente) como una función del esfuerzo de corte (t), donde $g = f(t)$, en este ciclo se obtuvo la mejor homogenización de la muestra y se refleja en las gráficas que se presentan a continuación (curvas de flujo o reogramas), de esta manera se determinó el comportamiento de los almidones nativos y acetilados con los dos métodos de modificación química. Para evitar pérdidas de humedad se utilizó aceite mineral antes de iniciar cada cinética.

4.7.3 Método viscoelástico dinámico

Se realizó una cinética de gelatinización a una velocidad de calentamiento y enfriamiento de 2.5 °C/min. Se siguió una cinética de gelatinización, que se

realizó en tres etapas: inició en 25 °C, se llevó hasta 90° y terminó en 25°C; los barridos de amplitud de la deformación se realizaron, de 0.1 a 5 % para la 2ª y la 3ª etapa donde se realizaron las mediciones para determinar la región viscoelástica lineal y escoger un valor de deformación en ambas etapas, aplicando un valor de frecuencia de 1Hz. Una vez determinados los valores de deformación para todas las muestras se procedió a realizar un barrido de frecuencia de 1 a 10 Hz para lo cual se utilizó un valor de deformación constante de 0.7 % para la 2ª (90 °C) etapa y de 0.9 % para la 3ª etapa (25 °C, enfriamiento). Se evaluaron los parámetros: módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G'') y tangente del ángulo de desfasamiento ($\tan \delta$). Para evitar pérdidas de humedad se utilizó aceite mineral antes de iniciar cada cinética.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Selección y preparación del grano de cebada para la extracción de almidón

Uno de los usos más importantes de los cereales es como materia prima para la obtención de almidón. La molienda húmeda, tiene como objetivo obtener el máximo rendimiento de gránulos de almidón nativo sin dañar (Serna, 2001).

El contenido de impureza que presentó la muestra fue de un 15.60 % (84.40% limpio). Es importante remarcar que las materias extrañas son principalmente restos vegetales, florales, tallos y semillas. Márquez (2006) obtuvo un rendimiento similar (86.46%), mientras que López y col. (2005) reportó un contenido de impurezas para las variedades cultivadas en el estado de Hidalgo entre un 2.1-3.8 %. De acuerdo con la NMX-FF-043-SCFI-2003, este valor se encuentra fuera de los límites permisibles, ya que debe de contener el 2 % de impurezas para ser comercializada. Esto indica que no se tiene especial cuidado al momento de la separación de los granos con el resto de la planta, debido a que la recolección del grano puede ser llevada a cabo de manera mecánica. Al no encontrarse dentro de los límites permisibles para ser comercializada, esta cebada recibe una deducción del 2.5 % por cada 5 kg/t en cuanto a su precio respecto a la Norma Mexicana. Debido a que se llevó a cabo limpieza los granos seleccionados son de buena calidad, además que el precio debido a la penalización que recibe es accesible su obtención. Por lo tanto se decidió trabajar con esta muestra debido a que no presenta ningún riesgo para ser usada en la industria alimentaria.

El resultado obtenido del rendimiento en cuanto al descascarillado fue del 80 %, el restante se encuentra conformado por las glumas y parte del pericarpio que se desprendió durante el proceso. El acondicionamiento realizado al 17 % de humedad, ayudó a que el pericarpio se separa más fácilmente y evitó que ocurrieran daños mecánicos que pudieran afectar el rendimiento el aislamiento del

almidón. En estudios anteriores se encontró un rendimiento de 71.89-79.45 % respecto al perlado de cebada (Márquez, 2006; Delgadillo, 2008). Dado que el acondicionamiento realizado es el correcto y no se dañó el grano, al momento de realizar la extracción el gránulo de almidón no fue dañado por proceso. La preparación de la muestra se realizó para facilitar la molienda, y extraer un almidón con una mayor pureza, ya que si no se llevara a cabo durante el proceso se dificultaría, debido a que el grano sería más difícil de moler, además de que los demás componentes, como fibra y proteínas, serían arrastrados durante el proceso, por lo que se obtendría menor rendimiento en cuanto a la extracción de almidón.

5.2. Aislamiento y extracción de almidón de cebada

En cuanto al aislamiento del almidón el resultado fue del 30%, partiendo de 1 Kg de cebada perlada. Con respecto al contenido de almidón presente en el grano (60 %) el rendimiento obtenido es de un 50 %, esto puede deberse a que durante el proceso puede haber mermas debido a que el almidón se hace pasar por tamices de diferente tamaño que pueden detener parte del almidón. En el proceso de molienda hay una separación de dos capas, una de color blanco que es el almidón con un 99 % de pureza y una capa de color café que contiene el restante 70% de carbohidratos presentes en el grano, además contiene proteínas y minerales. Delgadillo (2008) reportó un rendimiento del 38.51 % para la variedad Esmeralda Zapotlán. Tovar (2008) obtuvo un rendimiento de entre 29-41 % de almidón extraído de maíz, en tanto que Flores y col. (2004) obtuvieron almidón de plátano por molienda húmeda reportando un rendimiento del 71 %. De acuerdo a la fuente de obtención el contenido de almidón va a variar y por lo tanto el rendimiento será diferente (Flores y col., 2004). Este resultado indica que el método de obtención, así como, la materia prima son una buena fuente de obtención de almidón.

5.3. Determinación del porcentaje de acetilos

El porcentaje de acetilos que se encontró según metodología propuesta por Sodhi y Singh (2005) para el almidón de cebada, en dependencia del agente

utilizado (vinil acetato o anhídrido acético) se muestra en la tabla 4. En ésta se puede observar como se alcanza entre 3 y 6 % de acetilación, resultado que del uso del anhídrido acético se obtuvo 1.6 veces mayor incorporación de grupos acetilos. Estos resultados guardan relación directa con el grado de sustitución (GS) que equivale al número promedio de grupos -OH que se reemplazaron por grupos CH₃-C=O en la molécula de almidón de cebada en este caso.

Tabla 4. Porcentajes de Acetilos en los almidones modificados de cebada

Almidón de	Porcentaje de acetilos (%)	
	VA	AA
Cebada	3.66 ± 0.07	6.00 ± 0.11

VA (Vinil Acetato) AA (Anhídrido Acético)

5.4 Determinación del Grado de Sustitución

El nivel de sustitución de los grupos hidroxilos a lo largo de la cadena de almidón, a menudo son expresados como grado de sustitución (GS) (Wuzburg, 1964). En la tabla 5 se muestran los resultados obtenidos durante el proceso acetilación del almidón nativo de cebada.

Tabla 5. Grado de Sustitución de los almidones modificados con diferentes agentes.

Almidón de	Grado de Sustitución (GS)	
	VA	AA
Cebada	0.143 ± 0.008	0.240 ± 0.008

VA (Vinil Acetato) AA (Anhídrido Acético)

Se puede observar que el Grado de Sustitución (GS) del almidón obtenido después del tratamiento con 11.4 mL de vinil acetato y 11.6 mL de anhídrido acético, en iguales condiciones. El GS es mayor para el almidón tratado con anhídrido acético con respecto al tratado con vinil acetato, esto se debe a que el anhídrido es un agente muy reactivo. La sustitución se lleva a cabo en los carbonos 2, 3 y 6, debido a que son los menos impedidos estéricamente a lo largo de la amilosa, por lo que al ser una cadena lineal sus grupos -OH pueden ser sustituidos más fácilmente. En la amilopectina la sustitución se da en menor

cantidad ya que sus grupos -OH se encuentran mas imposibilitados para reaccionar. El grado de sustitución también se va a ver limitado por la disponibilidad de los grupos -OH dentro de la cadena de almidón, dado que la reacción siempre va a comenzar por el carbono que se encuentre mas libre para reaccionar.

En estudios realizados por Huang y col. (2007) en almidones extraídos de leguminosas, el grado de sustitución es mayor para los almidones tratados con vinil acetato, el grado de sustitución en los almidones de chícharos tratados con anhídrido acético fue de 0.066, para los que se utilizó vinil acetato fue de 0.07, para los almidones de garbanzo el grado de sustitución fue de 0.059 con anhídrido acético y 0.064 con vinil acetato y en los almidones extraídos del ejote el grado de sustitución fue de 0.057 con anhídrido acético y 0.068 con vinil acetato.

Por otra parte, Mormoghtadaide y col. (2009) y Lawal (2004) obtuvieron valores más bajos de grado de sustitución el almidones acetilados con anhídrido acético a diferentes concentraciones, Mormoghtadaide y col. (2009) utilizaron concentraciones de 6 % y 8 % en almidón de avena (27.77 mL y 37.88 mL de anhídrido, respectivamente), dando un grado de sustitución de 0.05 y 0.11 respectivamente, mientras que Lawal y col. (2004) trataron su almidón de maíz con 10 g de anhídrido acético (9.25 mL según densidad del producto), obteniendo un grado de sustitución de 0.03 y con 15 g (13.88 mL) se obtiene 0.04 de grado de sustitución. Las variaciones en el grado de sustitución pueden deberse a la utilización de diferentes fuentes de almidón, contenidos diferentes de amilosa y amilopectina, tamaño y morfología del gránulo y a las condiciones en las que se lleven a cabo la reacción de acetilación, así como en la variación de diferentes parámetros como son el tiempo de reacción y temperatura.

El bajo grado de sustitución obtenido en estos almidones los hace aptos para su utilización el la industria de alimentos, ya que la FAO permite la utilización de almidones acetilados con bajo grado de sustitución. Asimismo la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA)

permite en alimentos, almidones con bajo grado de sustitución, limitándolos a valores menores a 2.5 % de grupos acetilos en almidones para uso en la industria (Rincón y col., 2007).

5.5. Determinación de las características físicas

5.5.1. Determinación del tamaño de partícula

En la figura 5 se puede apreciar el promedio del tamaño de partícula de los almidones nativos y modificados por acetilación. Se puede observar una diferencia en cuanto al diámetro promedio de partícula entre los tres almidones, el tamaño para el almidón nativo (AN) fue de 19 μm , mientras que para los almidones tratados con vinil acetato y anhídrido acético fue de 22 μm y 104 μm respectivamente. El aumento en el tamaño se debe a la introducción de los grupos acetilos a las cadenas de almidón.

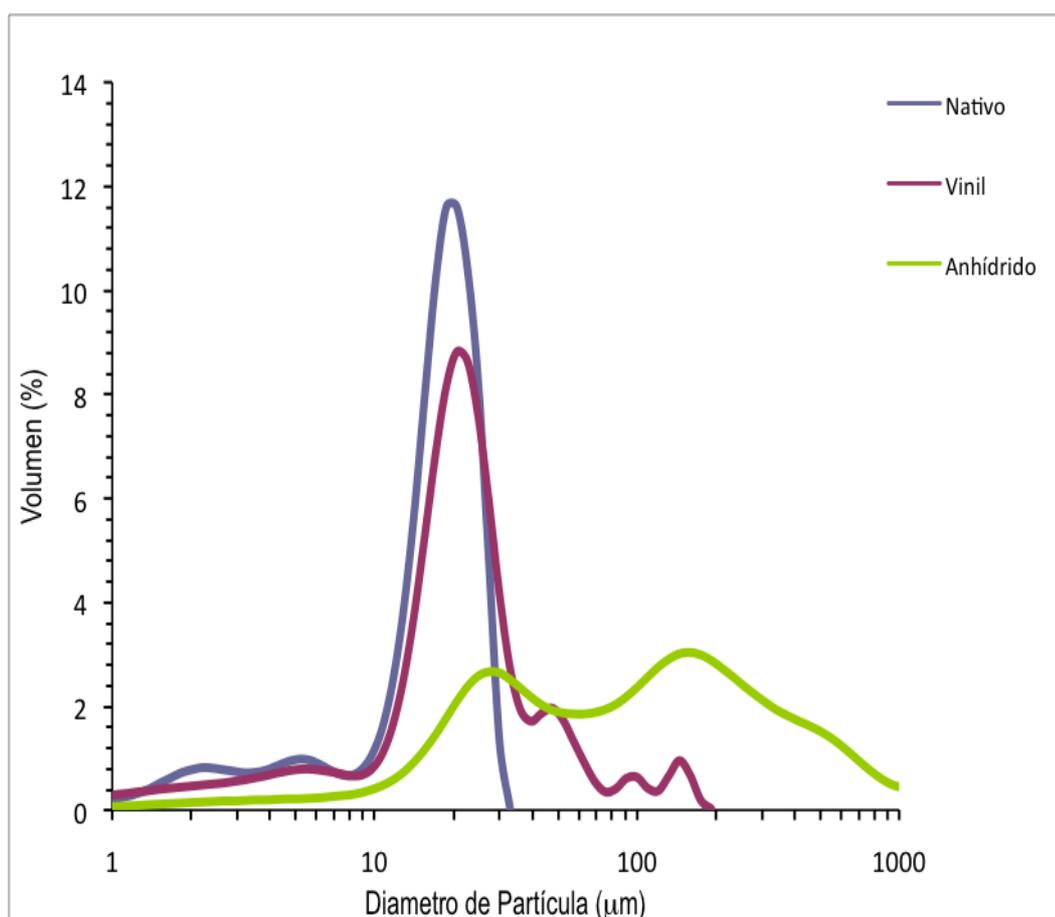


Figura 5. Distribución del tamaño de partícula de los almidones nativos y modificados.

Las moléculas largas y ramificadas de la amilopectina forman cristales en una orientación regular entre regiones amorfas y cristalinas, que dan al gránulo las características de birrefringencia según reportan algunos autores (Fox y Cameron, 2002). Estas regiones amorfas contienen en lo fundamental moléculas de amilosa. Esto posibilita asumir que cuando el gránulo de almidón absorbe agua, las áreas amorfas quedan más disponibles y por tanto se pueden mover más libremente dentro del gránulo.

Los estados de gelatinización que fueron determinados a diferentes temperaturas y en correspondencia con el tamaño y distribución de los gránulos de almidón nativo de cebada, con cáscara (AEC) o perlado (AEP), sin acetilar, se muestran en la Tabla 6.

A las temperaturas iniciales de 20 °C y hasta 35 °C, no se observó ninguna variación en el tamaño promedio de los gránulos del almidón nativo de cebada ni tampoco diferencia significativa entre las muestras AEC y AEP. Esto indica que al menos hasta 35 °C no se produce hinchamiento en los gránulos de almidón.

Tabla 6. Tamaño de gránulos de almidón (μm) por tipos (%DSR)

<i>Temperatura °C</i>	<i>AEP</i>	<i>AEC</i>
20	19.76 (0.77)	19.54 (0.53)
35	19.76 (0.77)	19.54 (0.53)
45	30.45 (1.05)	25.12 (0.79)
55	49.56 (2.04)	30.15 (1.68)
65	88.60 (2.76)	36.65 (2.07)
75	96.35 (3.21)	40.25 (2.16)
85	94.60 (5.12)	34.56 (1.88)
95	42.60 (2.22)	28.70 (0.93)
100	39.20 (1.85)	27.00 (0.68)
105	37.60 (1.66)	26.50 (0.64)

Se observa como aproximadamente a partir de los 75 °C alcanzan su máximo tamaño de gránulo, correspondiendo al máximo nivel de hinchamiento; también se puede apreciar como el almidón procesado con cáscara se hincha menos por

efecto del tratamiento térmico, lo cual indica que la cáscara ejerce un efecto protector. A temperaturas mayores se observa como el tamaño promedio de los gránulos comienza a disminuir, lo cual indica que se produce un daño estructural que se observó por microscopía electrónica (ver figura 6 a y b) después de los 100 °C, lo cual indica la gelatinización completa del gránulo.

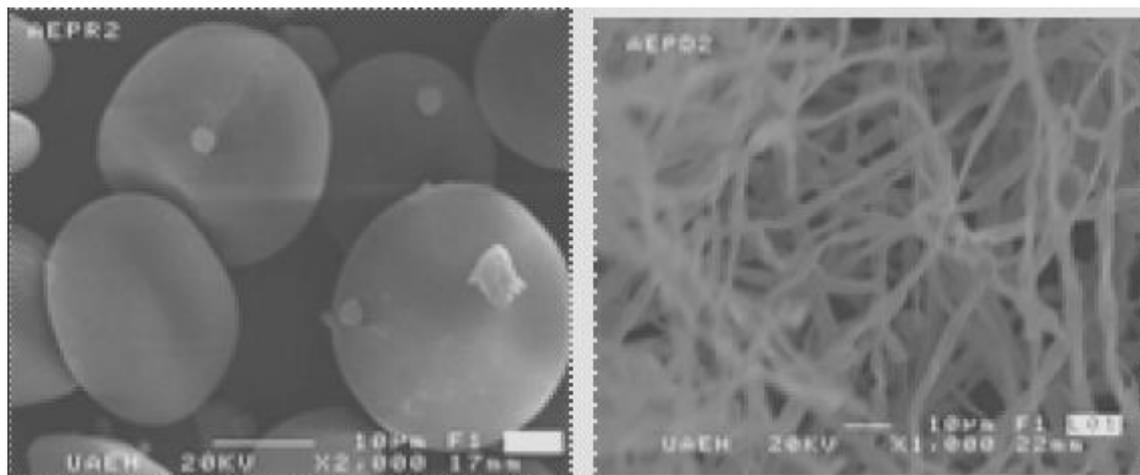


Figura 6 a). Análisis por MEB de gránulos de almidón nativo (sin cáscara), antes de gelatinizar y luego de la total gelatinización (daño morfológico).

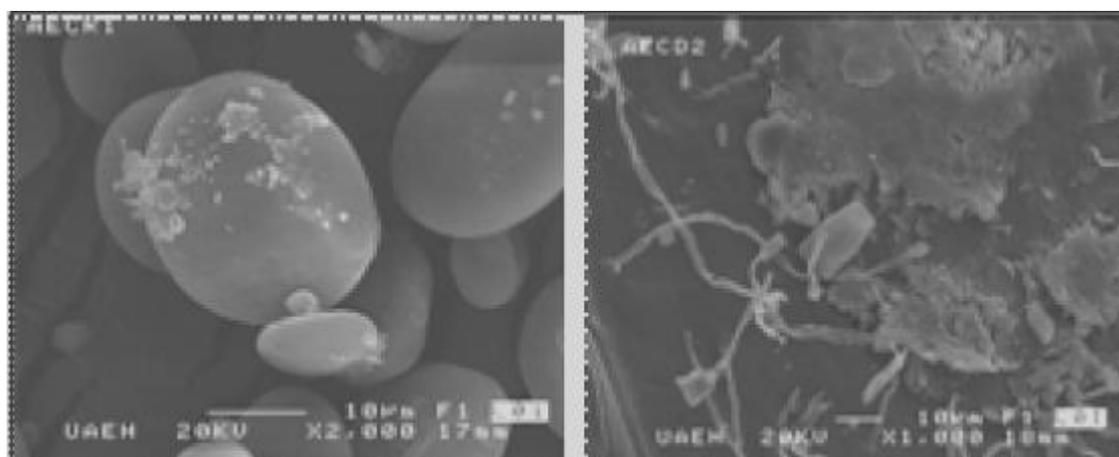


Figura 6 b). Análisis por MEB de gránulos de almidón nativo (con cáscara), antes de gelatinizar y luego de la total gelatinización (daño morfológico).

5.5.2 Difracción de rayos X

Los almidones son materiales semicristalinos, y su cristalinidad depende de las características estructurales de la amilopectina y la reasociación de la amilosa (Della, 2007). La difracción de rayos X, es una técnica que se utiliza para el estudio de la naturaleza cristalina de los almidones. En la figura 7 se muestra el patrón de difracción de rayos X correspondiente a los almidones nativos y acetilados.

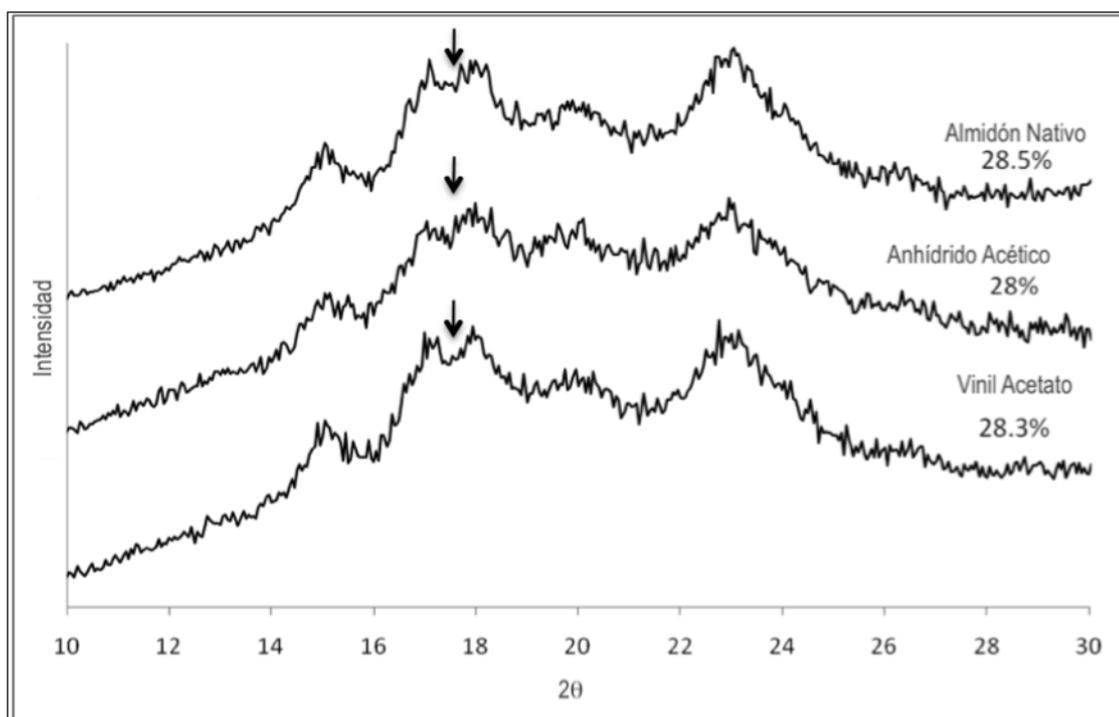


Figura 7. Patrón de difracción de rayos X del almidón de cebada, nativo y modificado por acetilación.

Se puede observar que el pico de cristalinidad del almidón tratado con vinil acetato es mucho más definido en comparación con el almidón nativo, presentando una cristalinidad de 28.3 %. Por otra parte el almidón modificado con anhídrido acético disminuye su pico de cristalinidad y su cristalinidad es de 28 %, esta pérdida en la cristalinidad se debe a que la modificación se llevó a cabo en la región cristalina del almidón. Debido a que la modificación es llevada a cabo con mayor facilidad en la región amorfa (compuesta por la amilosa), y al no tener un alto grado de sustitución su región cristalina no se va a ver dañada, como se observa en el patrón de difracción del almidón acetilado con vinil. Della y col.

(2008) observaron que la cristalinidad en los almidones acetilados de plátano va disminuyendo conforme el tiempo en la reacción se va aumentando. Otros estudios realizados en almidones de maíz acetilado, muestran que los almidones con bajo Grado de Sustitución muestran perfiles de cristalinidad similares al del nativo. Sin embargo cuando aumenta el GS la estructura cristalina del almidón es destruida (Chi y col. 2008). La disminución en cuanto al porcentaje de cristalinidad no es significativo, pero demuestra que la modificación aunque en menos cantidad también es llevada a cabo en la amilopectina.

5.5.3 Espectroscopia Infrarrojo (FTIR)

El análisis de FTIR se efectuó para corroborar el grado de acetilación del almidón de cebada con los dos reactivos ensayados y analizar las diferencias fundamentales entre los tres almidones (almidón nativo, AN; almidón acetilado con Vinil Acetato, AV; y almidón acetilado con Anhídrido Acético, AA). El AN mostró señales (ver Figura 8) que corresponden a la elongación (estiramiento) de los principales grupos característicos de la molécula de almidón lo que coincide con lo que señalan algunos autores (Mano y col., 2003; Guerra y col., 2008). De igual manera, las muestras acetiladas de almidón de cebada, presentaron dichas señales (ver Figuras 9 y 10), y también mostraron las señales en el intervalo de 900 - 1280 cm^{-1} , que corresponde al estiramiento del enlace C-O.

Así se puede observar que la señal que aparece aproximadamente a 1255 cm^{-1} corresponde específicamente al estiramiento del enlace C-O de los grupos acetilo lo cual han confirmado y discutido algunos autores (Colthup y col., 1990). Esta señal fue mayor cuando la reacción de acetilación se llevó a cabo con anhídrido acético (ver Figura 9) debido al aumento en el grado de sustitución (GS) del almidón; esto permite corroborar la mayor reactividad que mostró el anhídrido acético en comparación con el acetato de vinilo. Guerra y colaboradores (Guerra y col., 2008) han reportado esta señal en 1226 cm^{-1} para el almidón de plátano acetilado; a diferencia con este estudio, para el almidón de cebada acetilado, se puede reportar como señal típica esta que aparece a 1255 cm^{-1} , ligeramente

desplazada a mayores números de ondas en comparación con el almidón de plátano acetilado.

Cuando se produce la reacción de acetilación en la molécula de almidón, se observa una disminución (acortamiento) en las señales que corresponden a las vibraciones por estiramiento o tensión (las que aparecen entre 3000-3900 cm^{-1}) y a las vibraciones por flexión ($\approx 1650 \text{ cm}^{-1}$) de los grupos -OH (principalmente se hace más notable en esta última vibración y señaladas en las Figuras), lo cual es apreciable si se comparan las Figuras 8, 9 y 10. Esto es debido a la introducción de grupos acetilo en el almidón de cebada, que propician un cierto efecto estérico a las vibraciones por flexión, corroborando que la acetilación se efectuó en las muestras analizadas.

Además, se observó un incremento en la señal a 1730 - 1740 cm^{-1} en el almidón de cebada modificado. Esta señal es característica para el almidón acetilado y se corresponde con reportes de la bibliografía consultada y se señala en las Figuras 9 y 10 (Colthup y col., 1990; Adebajo y Frost, 2004; Aziz y col., 2004; Xu y col., 2004; Xu y Hanna, 2005). Guerra y colaboradores (Guerra y col., 2008) también reportan esta señal para el almidón de plátano acetilado e indican que se hace mayor, cuanto mayor es el tiempo en que se lleva a cabo la reacción. En este trabajo se observó además que en el almidón acetilado con anhídrido acético (AA, Figura 10) es más intensa esta señal, lo que corrobora la mayor reactividad del anhídrido acético con respecto al acetato de vinilo en el proceso de acetilación del almidón.

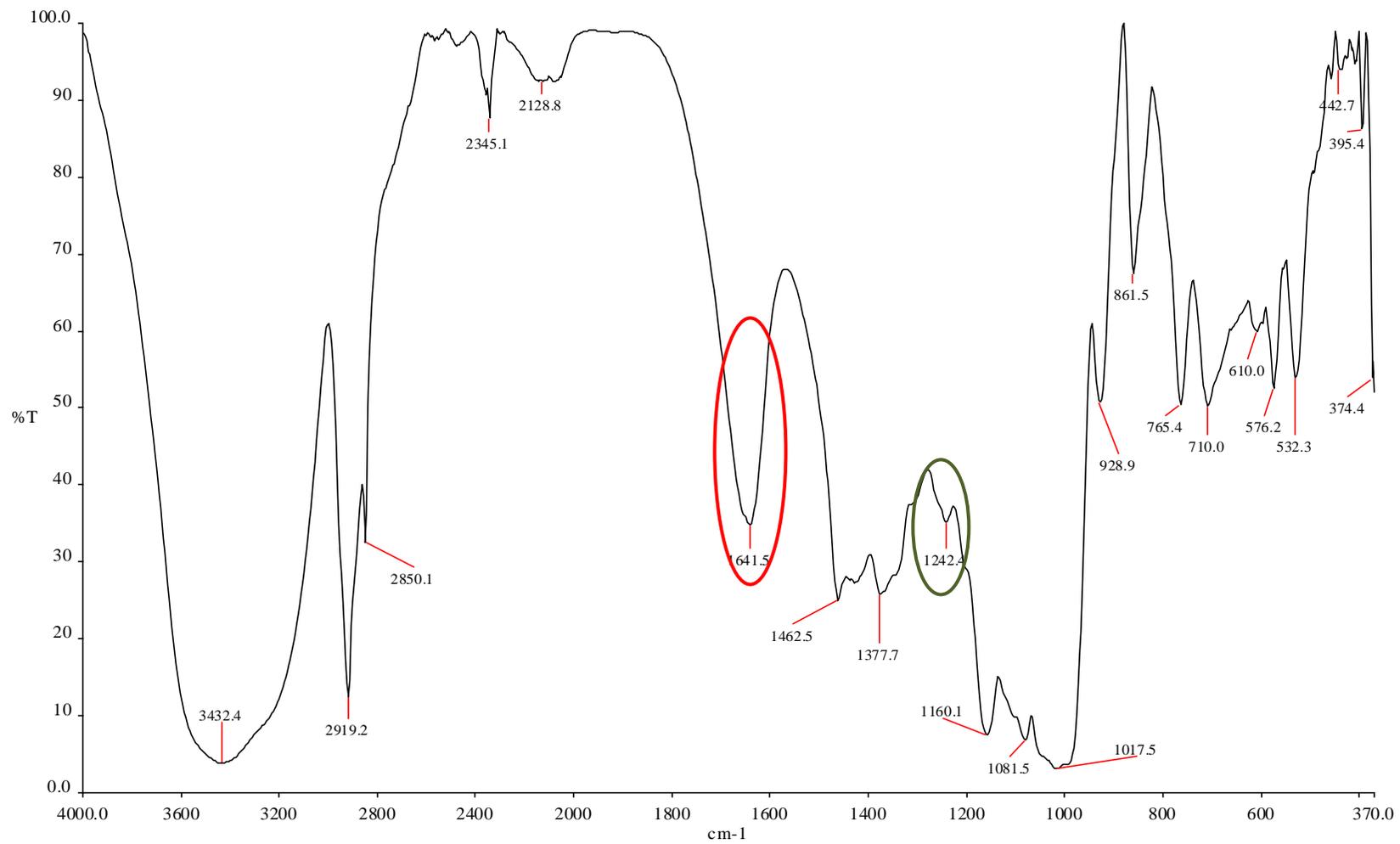


Figura 8. Análisis por FTIR del Almidón Nativo de cebada (AN)

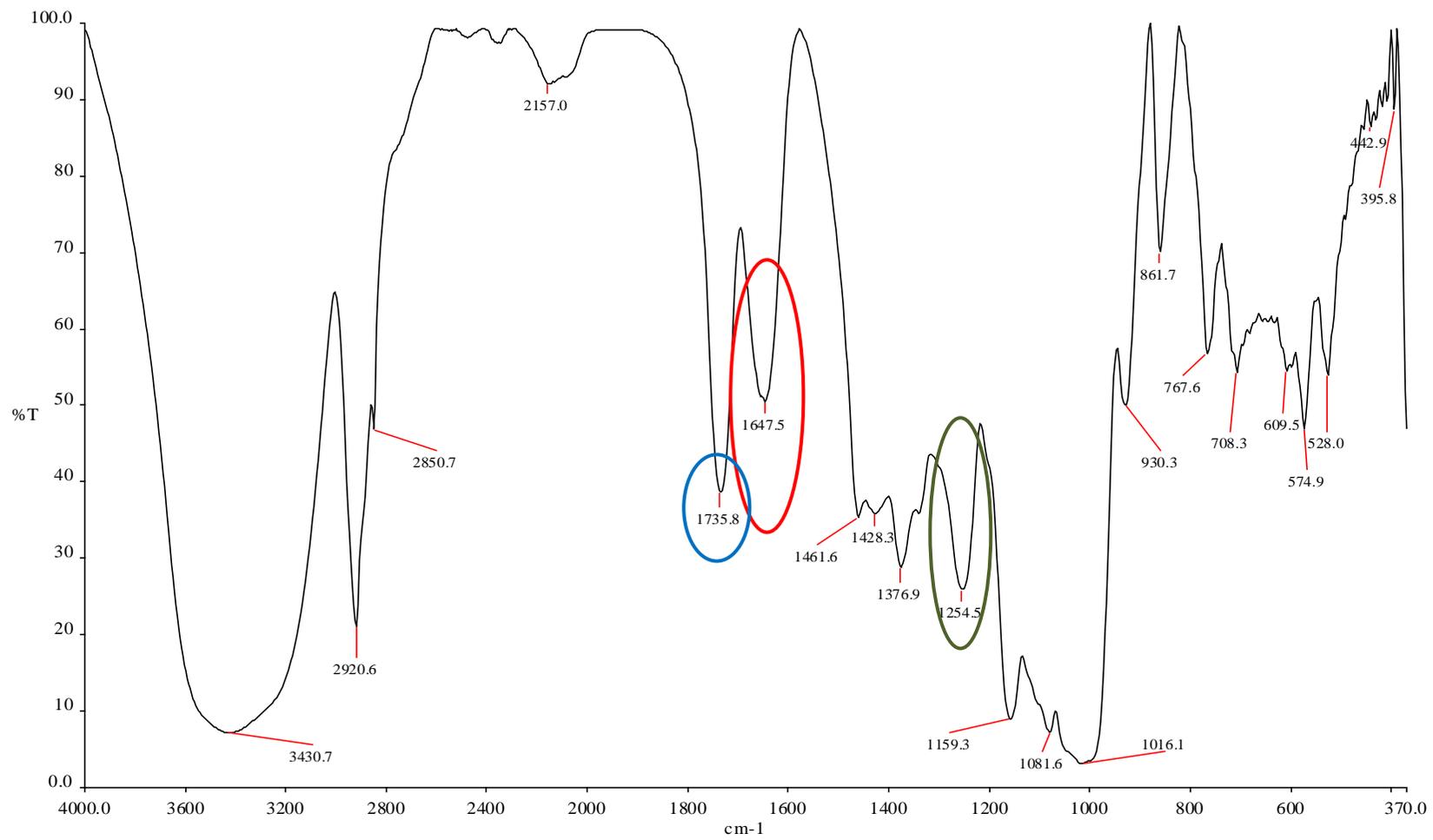


Figura 9. Análisis por FTIR del Almidón de cebada modificado con Acetato de Vinilo (AV)

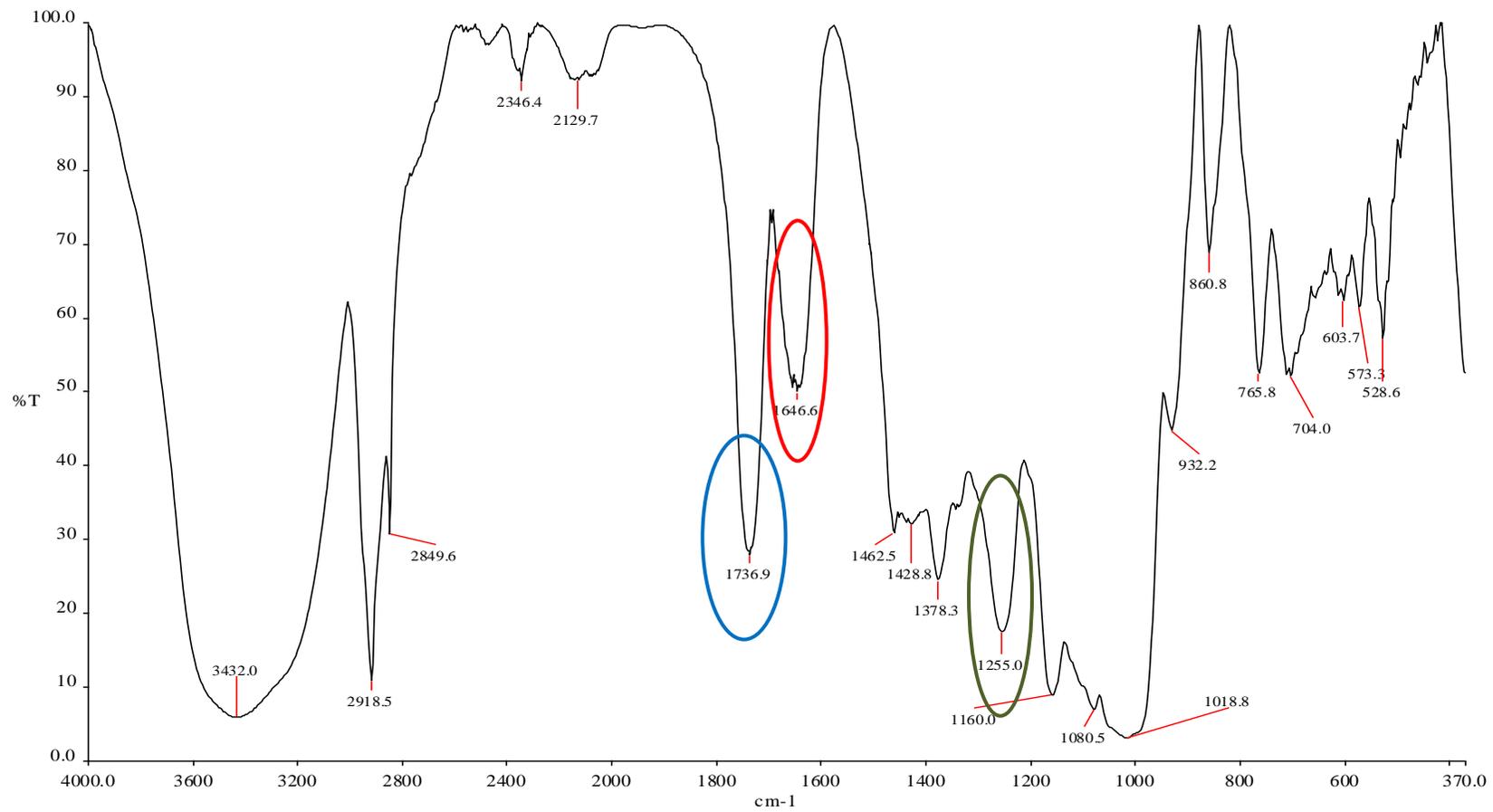


Figura 10. Análisis por FTIR del Almidón de cebada modificado con Anhídrido Acético (AA)

5.4 Caracterización morfológica del almidón

Para determinar de los diferentes cambios en la morfología de los gránulos en los almidones acetilados se utilizaron diferente microscopias como son: microscopía de luz normal, microscopía de luz polarizada y microscopía electrónica de barrido, así como también la determinación del tamaño de partícula.

5.4.1. Microscopía de Luz Normal (MLN) y Microscopía de Luz Polarizada (MLP)

La disposición radial de las moléculas de almidón le da un carácter de cristalinidad, el cual es observado en la formación de la “cruz de malta”, cuando es visto bajo el microscopio con luz polarizada. Este fenómeno es conocido como birrefringencia y es un indicador del orden molecular dentro del gránulo de almidón (Thomas y Atwell, 1998; Millán y col., 2005). En las figuras 11, 12 y 13 se muestran los almidones vistos a través del microscopio de luz normal y luz polarizada.

En las figuras 11a y 11b, se muestran las micrografías con luz normal y luz polarizada para el almidón nativo. Se puede observar que muestran la estructura granular reportada por Delgadillo (2008) para almidones de cebada nativos y la “cruz de malta”. En la figura 12a y 12b se observan las microfotografías para el almidón de cebada acetilado con vinil acetato. Se aprecia que aún se conserva la “cruz de malta” aunque en menor cuantía que para el almidón nativo.

Se muestra en la figura 13a y 13b que el almidón pierde su estructura interna al ser modificado con anhídrido acético. Esta pérdida en la estructura interna fue también reportada por Della (2007) para almidones de plátano y maíz, al ser acetilados a diferentes tiempos de reacción. Esto pone de manifiesto la mayor reactividad del anhídrido acético en comparación con el vinil acetato.

Los almidones nativo y derivatizados con vinil acetato (figuras 11b y 12b) presentaron la formación de la cruz de malta. Este fenómeno indica el grado de

orientación molecular dentro del gránulo sin hacer referencia a alguna forma cristalina. En el caso del almidón nativo la estructura presentada es similar a la reportada por Delgadillo (2008) en almidones de cebada. Sívoli y col. (2005) reportaron que al observar con microscopía de luz polarizada almidones modificados de Yuca, no hubo variación en la forma granular por efecto de la modificación, por lo que se presume que no hay alteración a nivel cristalinidad de los gránulos. Esta tendencia no se presenta en los almidones tratados con anhídrido acético (figura 13 b).

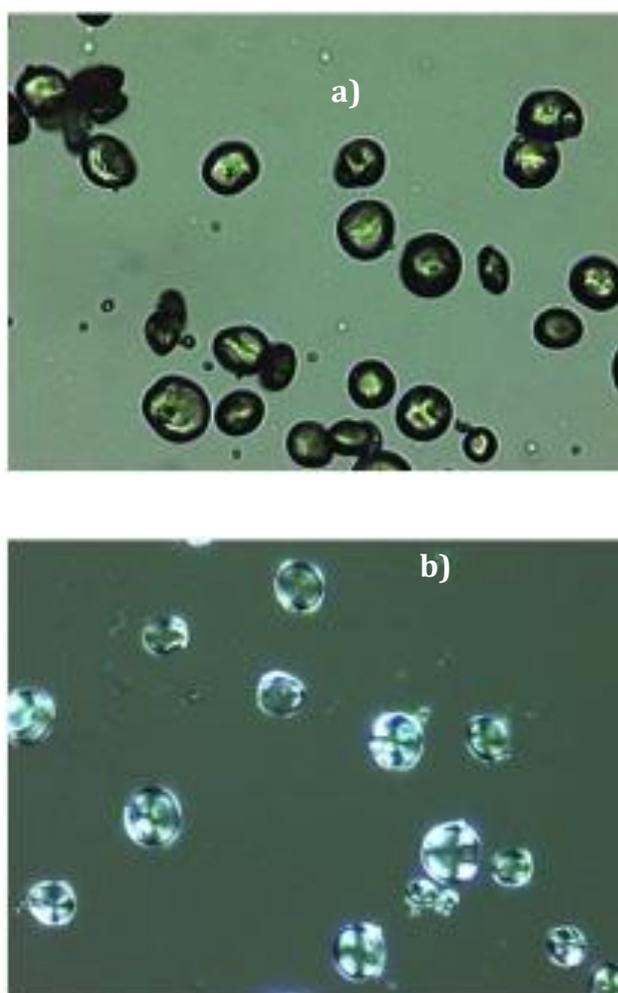


Figura 11. Micrografía del almidón nativo de cebada

a) Luz Normal b) Luz Polarizada

Esto también se puede observar en la figura 7 (DRX), donde se observa que el almidón acetilado con VA no pierde apreciablemente su cristalinidad. Contrario de lo que sucedió con el almidón tratado con AA, ya que aumentó de su GS; por ello se puede afirmar que la sustitución se lleva a cabo en la región cristalina del gránulo.

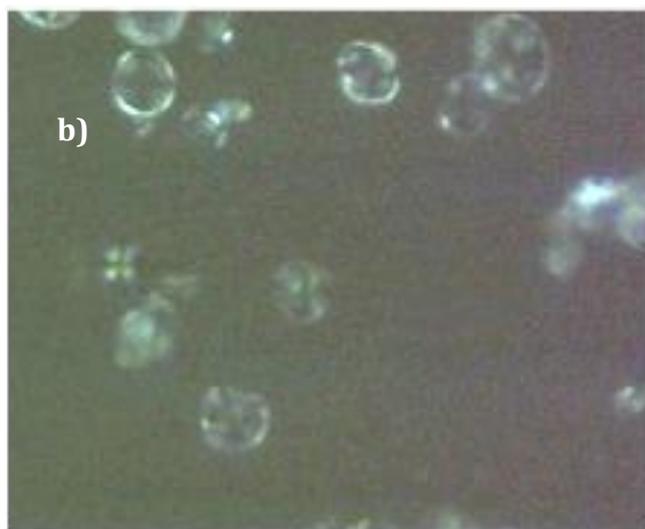
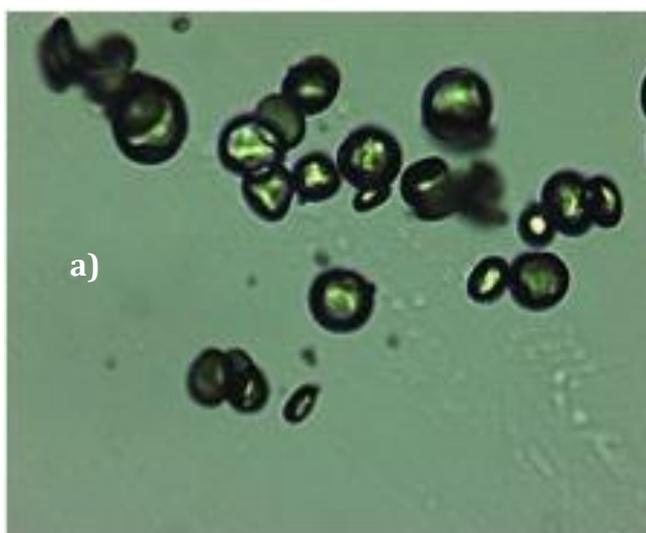


Figura 12. Micrografía del almidón de cebada acetilado con vinil acetato

a) Luz Normal b) Luz Polarizada

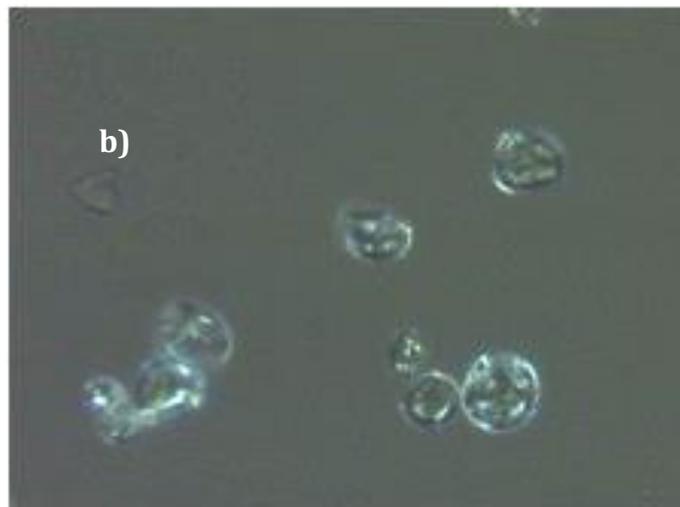
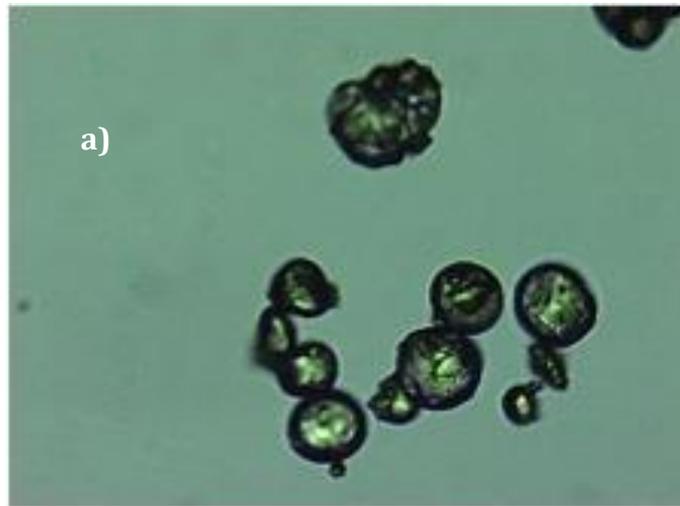


Figura 13. Micrografía del almidón de cebada acetilado con anhídrido acético

a) Luz Normal b) Luz Polarizada

5.4.2 Microscopía electrónica de barrido

La morfología del gránulo se evaluó mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), para mostrar un panorama más amplio de la superficie del mismo. En las figuras 14, 15 y 16 se muestran las micrografías de los almidones nativo y acetilados; con amplitudes de 1000x y 2000x .

En las figuras 15 y 16 se muestran la micrografías del almidones acetilados, donde se puede comparar con respecto a las micrografías del almidón nativo, que no hay un cambio en su estructura externa. Esto indica que la modificación no daña la superficie del gránulo de almidón, ya que conserva una superficie suave y son idénticos a los nativos con respecto a su apariencia externa; el gránulo presenta una distribución bimodal. Se puede observar proteínas adheridas en las micrografías de los almidones acetilado con anhídrido acético (figura 16).

Saartrat y col. (2005) obtuvieron resultados similares al no encontrar diferencias en la forma y superficie de los gránulos de almidón obtenidos de la flor de Lirio, estos almidones seguían intactos. Mirmoghtadaie y col. (2007) tampoco encontró cambios en los almidones acetilados de avena, estos autores indican que ello es debido a que el tamaño del gránulo es pequeño. En otras investigaciones Singh y col. (2004) observaron que los gránulos de almidón de papa y maíz se ven dañados por la modificación por acetilación cuando el grado de sustitución es alto, resultando en la fusión de los gránulos después de la acetilación. La fusión resulta mayor en los gránulos de papa que en los de maíz tratados en las mismas condiciones, esto se debe a que la estructura del gránulo de almidón de maíz es más rígida y muestra mayor resistencia a la modificación.

El tamaño del gránulo, así como las condiciones en que se lleve a cabo la modificación y el grado de sustitución que tengan los almidones van a influir en la estabilidad o daño que puedan causarle a la superficie del almidón. Esto indica que la modificación no daña la estructura externa del gránulo de almidón.

El almidón nativo de plátano estudiado por Guerra y col. (2008), mostró una superficie mas lisa que el almidón nativo de maíz ya que este último presentó poros en la superficie del gránulo. Estos autores corroboraron lo que señalaran Huber y BeMiller (2001) cuando reportaron que se esperaba que los canales y poros afecten la reactividad del almidón cuando se modifica por tratamientos químicos. Esto está en concordancia con los resultados obtenidos con los más altos valores de GS para el almidón de maíz.

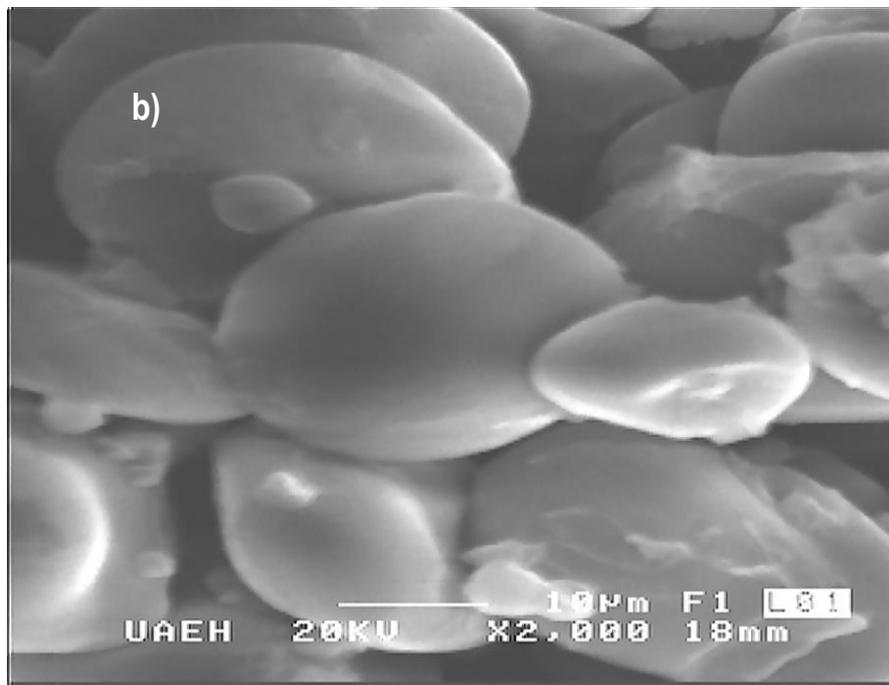
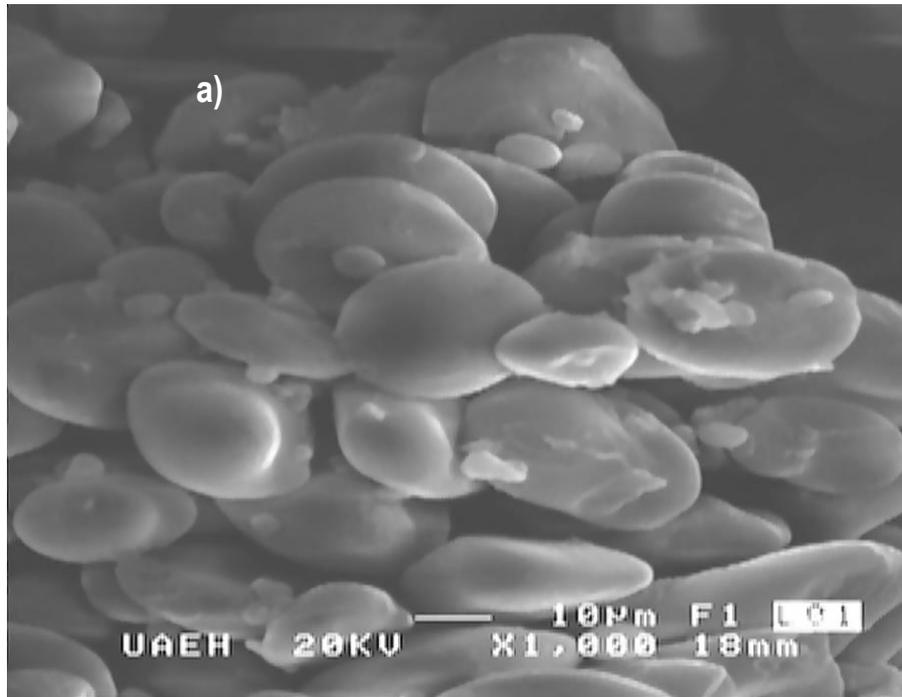


Figura 14. Micrografía del almidón nativo de cebada

a) 1000x b) 2000x amplitudes

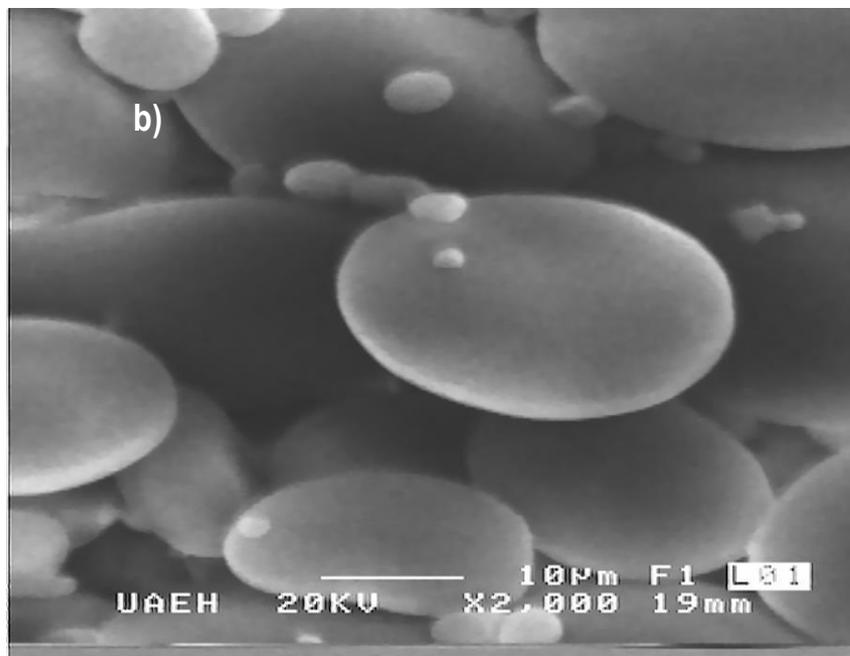
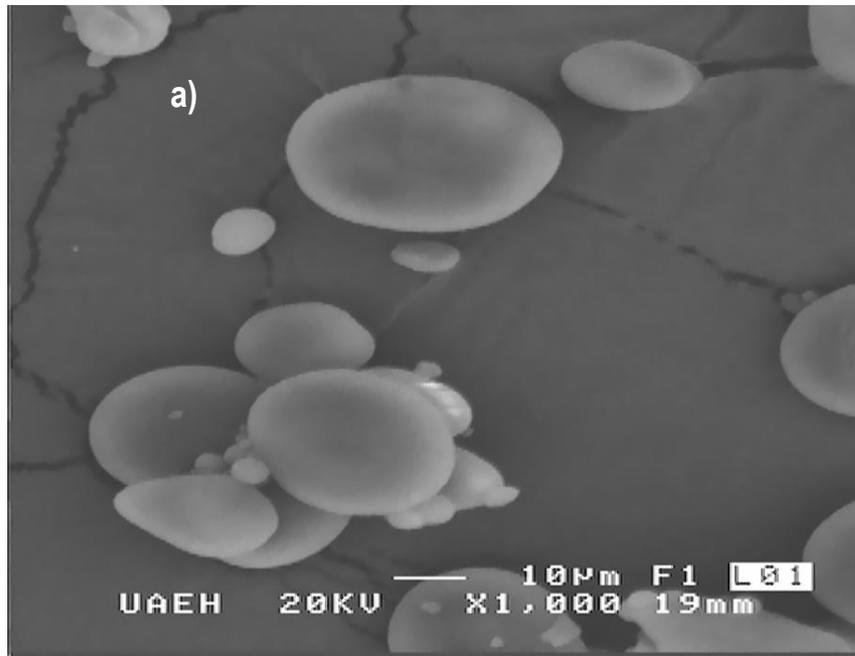


Figura 15. Micrografía del almidón modificado con vinil acetato de cebada a) 1000x b) 2000x amplitudes

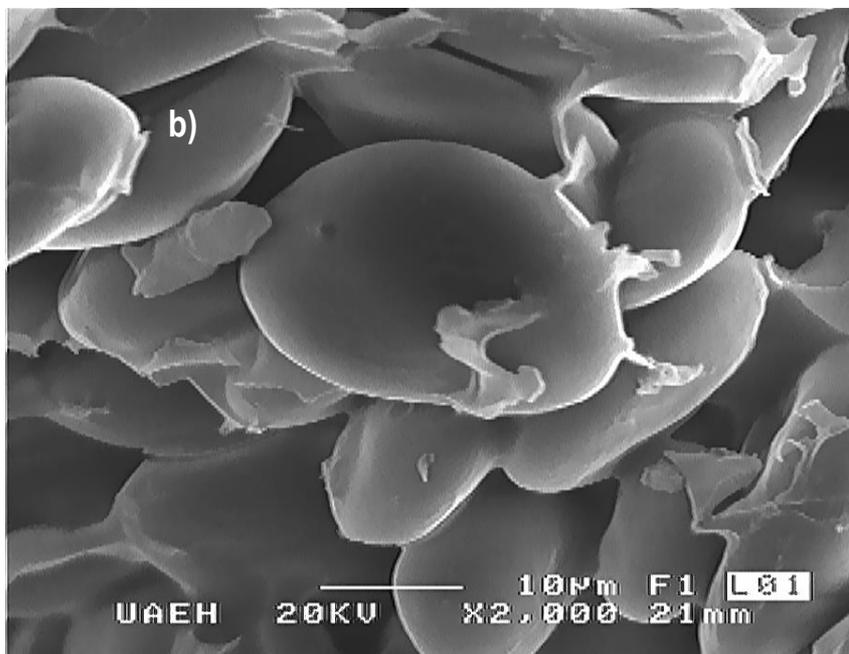
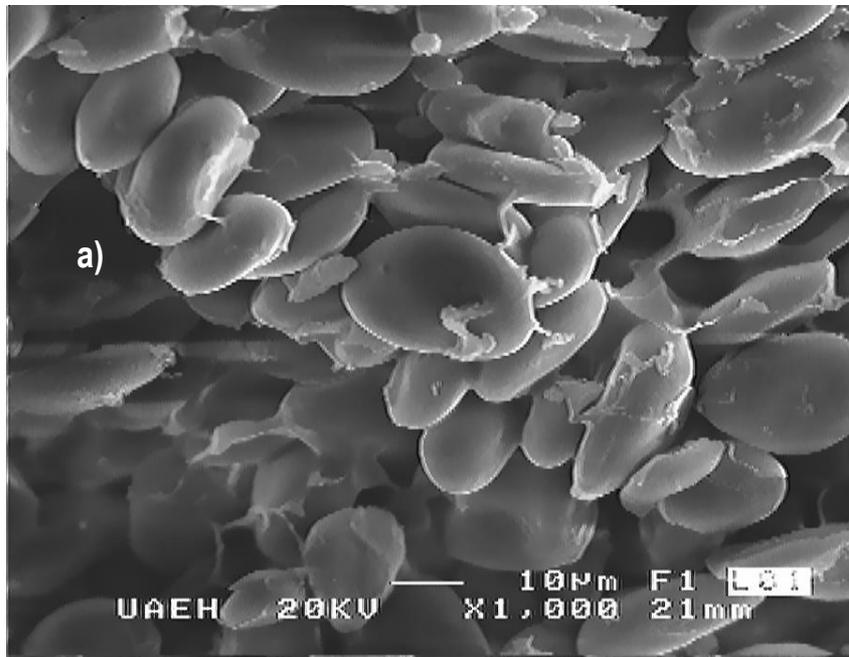


Figura 16. Micrografía del almidón modificado con anhídrido acético de cebada a) 1000x b) 2000x amplitudes

En las micrografías anteriores, se puede observar que el gránulo del almidón conserva su forma lenticular aún cuando es tratado con vinil acetato. En cambio el almidón modificado con anhídrido acético muestra un ligero incremento en su superficie. Singh y col. (2004) obtuvieron una pequeña diferencia en el tamaño de partícula de almidones acetilados de maíz y papa. Huang y col. (2007) no encontró diferencias significativa entre los tamaños de partícula de los almidones acetilados de chícharo, garbanzo y ejote con vinil acetato y anhídrido acético con respecto a los nativos.

5.5. Análisis térmico de los almidones acetilados

5.5.1. Gelatinización por calorimetría diferencial de barrido (DSC) y retrogradación.

Los métodos calorimétricos se han aplicado extensivamente en el estudio de la estructura y las transiciones de fase del almidón puro. La presencia en el gránulo de almidón de las regiones molecularmente ordenadas, su carácter metaestable (de no equilibrio) y sus interacciones con los constituyentes alimenticios pueden comprobarse por calorimetría diferencial de barrido (DSC) a través del cambio en el flujo de calor durante el calentamiento de una muestra en un rango de temperatura (Sandoval y col., 2005).

La aplicación de DSC ha permitido la identificación de estructuras que son consecuencia de las condiciones de procesamiento como las generadas durante la transición vítrea, la gelatinización y la retrogradación del almidón, las cuales cambian las propiedades fisicoquímicas del almidón sin destruir su estructura su estructura granular. (Sandoval y col., 2005).

Las propiedades térmicas de los almidones nativos y modificados, fueron evaluadas por medio de DSC. La temperatura de pico (T_p) y la entalpía (ΔH) de gelatinización de los almidones nativos y acetilados se presenta en la tabla 7. La temperatura inicial (T_i) y final (T_f) de gelatinización se muestran en la columna de gelatinización de la tabla 7; se puede observar que hay una disminución en cuanto a estas temperaturas de los almidones modificados entre 6.4-12.9 °C con respecto a las temperaturas del almidón nativo. Lui y col.

(1999) obtuvo una reducción en los almidones acetilados de arroz y arroz ceroso. Mormoghtadaie y col. (2009) también observaron una disminución en las T_i y T_p en almidones modificados de avena, esta disminución, indican los autores, se debe al debilitamiento de las fuerzas intragranulares e intergranulares de las moléculas de almidón.

A los siete días se observa que no hay gran variación con respecto a las temperaturas inicial y finales de gelatinización con respecto a los almidones, nativo y acetilados, ya que se mantienen en el mismo rango; esto mismo ocurre a los catorce días de retrogradación, no se muestran variaciones significativas. En cuanto a la entalpía de gelatinización se puede observar una disminución en los almidones derivatizados, siendo de 4.84 J/g para el almidón acetilado con vinil acetato y menor en el almidón tratado con anhídrido acético de 2.36 J/g. Esto se atribuye a que durante la modificación el gránulo sufre daño y va perdiendo su organización, lo cual provoca que disminuya la cantidad de energía necesaria para realizarse la transición de fase (Della, 2007). Lawal (2004) observó una reducción en la entalpía de gelatinización después del segundo y séptimo día, entre las muestras de almidón derivatizados; el más alto nivel de reducción se observó en el almidón acetilado después del segundo y séptimo día. La recristalinización de las moléculas de almidón se produjo durante el almacenamiento congelado y el recalentamiento del gel en un DSC produjo una transición endotérmica que estaba ausente en las primeras muestras.

Tabla 7. Análisis térmico del almidón modificado.

Almidón		Gelatinización			Retrogradación (7 días)			Retrogradación (14 días)		
		Nativo	VA	AA	Nativo	VA	AA	Nativo	VA	AA
Cebada	T_i	55.52±0.35	49.96±0.21	48.05±0.19	55.07±0.14	49.96±0.17	44.18±0.48	55.89±0.06	46.56±1.38	46.65±1.40
	T_p	59.48±0.10	54.17±0.02	52.58±0.20	59.38±0.14	54.17±0.01	49.65±1.40	59.13±0.13	51.28±1.12	51.63±0.96
	T_f	77.20±0.94	66.54±0.34	61.90±0.51	74.77±1.89	66.54±0.28	59.63±0.96	76.47±0.83	63.58±0.19	61.51±0.49
	ΔH	7.65±0.14	4.84±0.11	2.36±0.14	8.26±0.68	4.84±0.09	2.76±0.32	7.87±0.31	5.39±0.16	2.47±0.14

VA (Vinil Acetato) AA (Anhídrido Acético) ± Error estándar

.5.6. Evaluación de las propiedades reológicas del almidón

5.6.1 Perfiles de viscosidad

El calentamiento continuado de los gránulos de almidón en un exceso de agua resulta en un mayor hinchamiento de los gránulos, lixiviación adicional de componentes solubles (amilosa principalmente) y de manera especial si se aplican fuerzas de cizalla, disrupción del gránulo. Este fenómeno resulta en la formación de una pasta de almidón. El hinchamiento del gránulo y la disrupción da lugar a una masa viscosa (Fennema, 2000).

En la figura 17 se muestran los perfiles de viscosidad de los almidones de cebada nativo y acetilados.

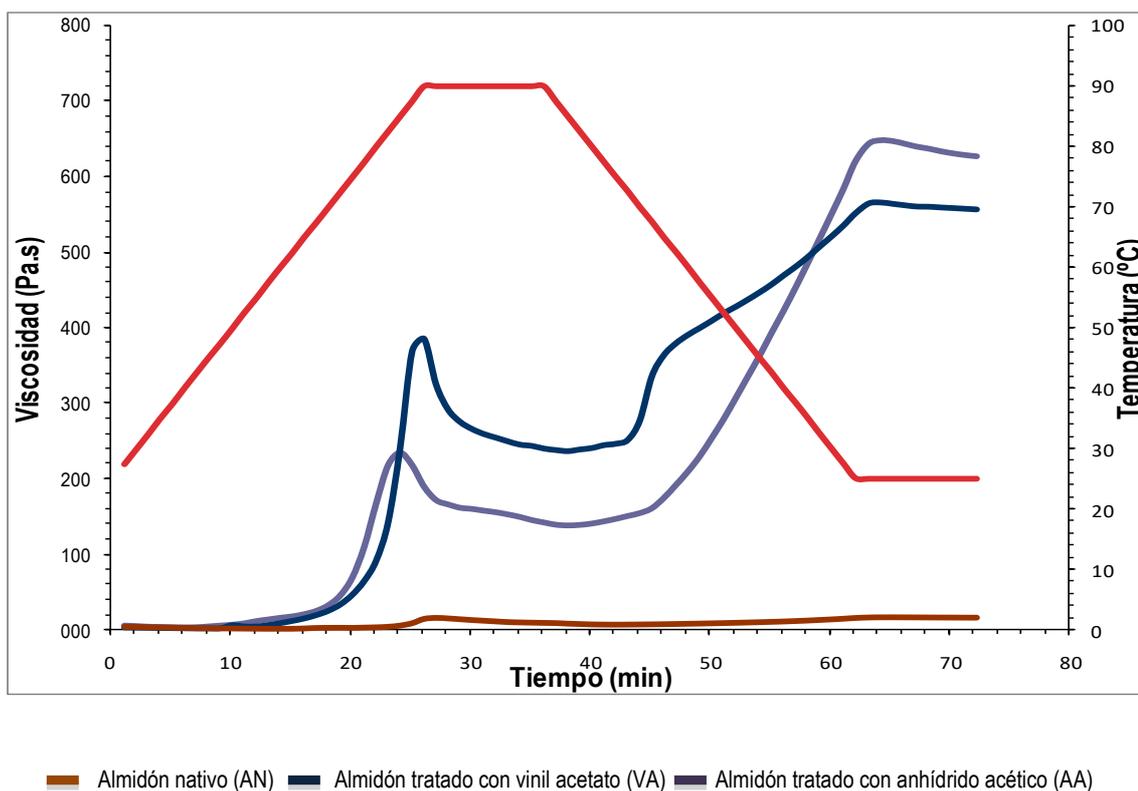


Figura 17. Perfil de viscosidad de los almidones modificados

Se observa que el pico de viscosidad del almidón nativo se encuentra por debajo del de los almidones acetilados. El almidón modificado con AA muestra un pico de viscosidad de 386 Pa.s a una temperatura de 90 °C,

mientras que el pico de viscosidad del almidón tratado con VA se encuentra en 234 Pa.s a una temperatura de 82.5 °C. Esto se debe a que la acetilación causa daño en los gránulos de almidón, por lo que se llevaría a cabo una hidratación de manera más rápida, pero al estarse aplicando calor y fuerza los gránulos se rompen más fácilmente lo cual deriva en el incremento de la viscosidad. Rincón y col. (2007) obtuvieron en almidones acetilados de fruto de Pan, un incremento en los valores de viscosidad a una temperatura inicial de gelatinización de 69.3 °C. Lui y col. (1999) también observaron un aumento en los picos de viscosidad de almidones cerosos de arroz modificados por acetilación a menores temperaturas que los almidones nativos. Iguales resultados fueron reportados por Lawal (2004) en almidones acetilados de maíz.

Durante la etapa de calentamiento los almidones comienzan a hincharse hasta alcanzar una viscosidad máxima, en el cual se presenta un incremento gradual de la viscosidad hasta obtener el valor máximo, cuando estos son cocinados en un exceso de agua (gránulos hinchados), al mismo tiempo parte de los componentes se solubilizan considerablemente en una suspensión de partículas hinchadas dispersadas en una fase continua macromolecular (Méndez, 2006, Núñez y col., 2004). La acetilación causa un incremento en el pico de viscosidad, los gránulos de almidón ampliamente hidratados se desintegran más fácilmente a temperatura más alta lo que resulta en una mayor cizalla (Gunaratne y Corke, 2007).

5.6.2 Método viscosimétrico (Curvas de flujo)

La viscosidad es una propiedad de los fluidos que describe la magnitud de la resistencia a fluir originada por fuerzas de corte en el seno del fluido (Lozada, 2007). Por medio de este análisis viscosimétrico se determina principalmente el comportamiento del almidón como fluido durante un proceso de calentamiento (Della, 2005). En la figura 18 se muestra la curva de flujo de los almidones nativo y acetilados.

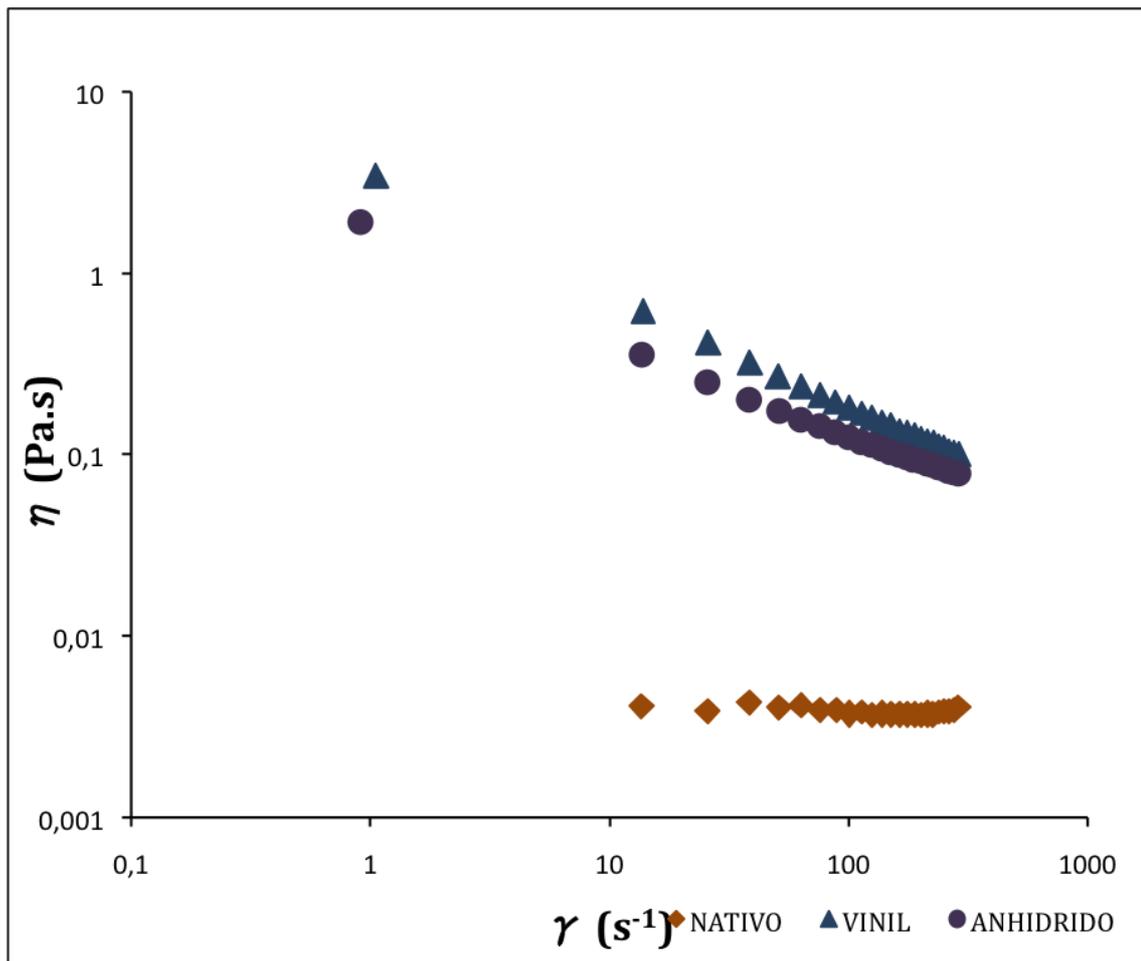


Figura 18. Curva de flujo de los almidones nativo y modificados por acetilación.

Se puede observar en la figura 18 de los datos de viscosidad (η) en función de la velocidad de deformación (γ) de los almidones nativos y acetilados, que el comportamiento del almidón nativo es de tipo Newtoniano ya que carece de propiedades elásticas, lo cual se observa en su comportamiento que permanece constante. Los almidones acetilados mostraron una disminución de la viscosidad al tener un aumento en la velocidad de cizalla, por lo tanto son fluidos reofluidizantes, ya que el comportamiento anterior es característico del sistema (Núñez y col., 2001). Este comportamiento también fue observado en almidones acetilado y oxidados de plátano (Della, 2005). Al aplicar el modelo de la Ley de la Potencia, los almidones presentaron un tipo de fluido reofluidizante (Della, 2005).

Los almidones acetilados, como se observa en la tabla 8, presentaron un índice de comportamiento de flujo (n) menor a 1, esto indica y confirma un fluido no-newtoniano produciendo aclaramiento y un material reofluidizante.

Tabla 8. Resultado de la Ley de la Potencia para almidones

Almidón	n	k	r^2
Nativo	1	-	-
Vinil	0.379	0.867	0.997
Anhídrido	0.517	0.117	0.997

6.3.3 Método viscoelástico dinámico

En la figura 19 se presenta la evolución de los módulos dinámicos, G' y G'' en función de la frecuencia de oscilación de las dispersiones acuosas de almidón. En los tres casos se observa que el módulo de almacenamiento (G') es mayor (escala entre 10-100 Pa en la figura 19), al módulo de pérdida (G'') (escala entre 1-10 Pa en la figura 19) en todo el intervalo de frecuencia (1-10 Hz) evaluado. Este es un comportamiento reológico tipo “gel”.

El almidón acetilado con vinil acetato y el almidón nativo presentaron un valor mayor en cuanto al módulo elástico (G'), mostrando así que los gránulos de este almidón le confieren una respuesta mayor a esta dispersión, sin haberse incluido un efecto por temperatura lo que concuerda con lo reportado por algunos autores (Waliszewski y col., 2003). Como se observa en la figura 19, se presenta el barrido de frecuencia en el cual se tiene el mayor hinchamiento y el consecuente desordenamiento de los gránulos de almidón y en la que los valores alcanzados por el almidón nativo y acetilado con vinil acetato son mayores que los obtenidos para el almidón acetilado con anhídrido acético. Esta diferencia se debe a la desorganización del almidón durante el proceso de acetilación. Resultados similares fueron obtenidos por Della (2005) en almidones acetilados de plátano.

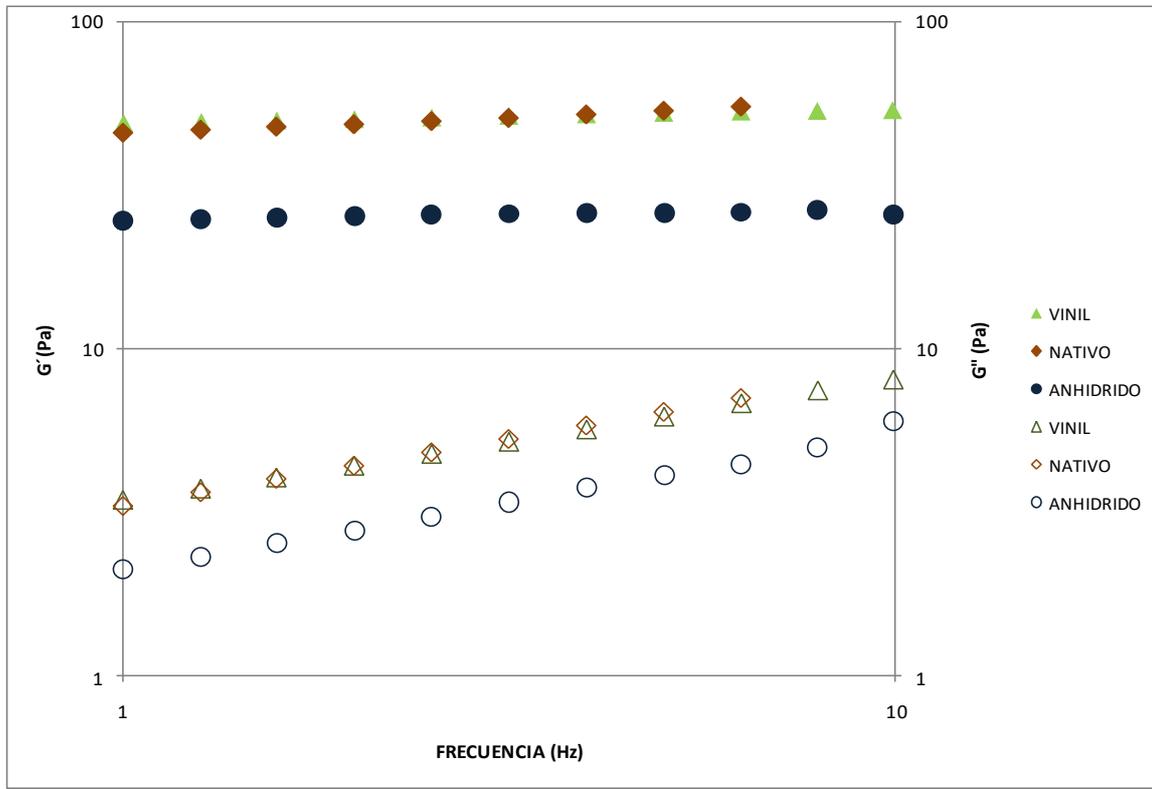


Figura 19. Espectro mecánico de dispersión del almidón nativo, acetilado con vinil acetato y acetilado con anhídrido acético.

VI. CONCLUSIONES

- ✓ El rendimiento obtenido hace posible la utilización de cebada forrajera como una buena fuente de obtención de almidón para su uso industrial.
- ✓ Al realizarse la modificación se obtuvieron almidones con bajos valores de grado de sustitución. Estos valores muestran que estos almidones acetilados pueden ser utilizados en la industria alimentaria como aditivos, ya que se encuentran dentro del rango permitido por la FDA.
- ✓ El análisis morfológico mostró que el almidón tratado con vinil acetato durante la reacción de modificación no sufrió daño en su superficie, en cambio en el almidón tratado con anhídrido acético, los gránulos sufren un cierto daño debido a la modificación.
- ✓ En el análisis térmico se evidencian los cambios sufridos por la modificación en los almidones, ya que se disminuye su temperatura de gelatinización, así como la energía necesaria para que se lleve a cabo la transición de fases.
- ✓ Otros análisis como espectroscopia de infrarrojo (FTIR), microscopía electrónica de barrido (MEB) o el análisis del tamaño de partículas, han permitido caracterizar los productos modificados por acetilación y su comparación con el almidón nativo.
- ✓ El análisis reológico se determinó que al modificar los almidones por métodos químicos, se afecta la estructura lo cual se observa en los diferentes análisis reológicos realizados.

VII PERSPECTIVAS

Será recomendable continuar este trabajo sobre la base de poder:

- Valorar la obtención de mejores rendimientos en la extracción de almidón nativo de la cebada forrajera para hacer más atractivo y factible económicamente, el uso de ésta en lugar de destinos forrajeros.
- Valorar en los procesos de acetilación rangos de optimización de concentraciones de reactivos acetilantes y tiempos de reacción.
- Realizar pruebas de aplicaciones con los almidones acetilados en la elaboración de algún tipo de embutido u otras opciones para la industria alimentaria.
- Posteriormente, realizar un análisis de factibilidad económica que demuestre las ventajas de extracción y modificación del almidón de cebada calidad no maltera, para sustituir su tradicional uso como forraje.

VIII BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, R. K. (2007). Elaboración de una pasta alimentaria a partir de sémola de diferentes variedades de cebada. Tesis de licenciatura de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Adebajo M. O. y Frost R.L. (2004). Acetylation of raw cotton for oil spill cleanup application: an FTIR and ¹³C MAS NMR spectroscopic investigation. *Spectrochim Acta A* 60: 2315-2321.
- Adkins, G. K. y Greenwood, C. T. (1996). The isolation of cereal starches in the laboratory. *Starch/Stärke* 18: 213
- Agama, A. E., Ottenhof, A. M., Farhat, I. A., López, P. O., Cereceres, O. J. y Bello, P. L. A. (2005). Aislamiento y Caracterización de Almidones de Maíces Pigmentados. *Agrociencia*. 39: 419-429
- ASERCA. (2003) . Claridades agropecuarias: la cebada en la agricultura nacional. Obtenida el 5 de noviembre de 2008, de <http://www.aserca.gob.mx/sicsa/claridades/revistas/013/ca013.pdf#page=16>
- Aziz A., Daik R., Ghani, M. A., Daud N. I. N. y Yamin B. M. (2004). Hydroxypropylation and acetylation of sago starch. *Malaysian Journal of Chemistry* 6. 48-54.
- Bellido, L.L. (1991). Cultivos herbáceos. Cereales. Vol. 1. Editorial Mundi, prensa Madrid .
- Bello, P. L. A., Jiménez, A. A., Contreras, R. S. M., Romero y M. R. Solorza, F. J. (2002). Propiedades Químicas y Funcionales del Almidón Modificado de Plátano Musa Paradisiaca L. (Var. Macho). *Agrociencia*. 1405-3195.
- Bello, P. L., y Tovar, J. (2001). Actualización en química y nutrición del almidón. Memorias del curso del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional.
- Betancur, A. D., Chel, G. L. y Cañizares, H. E. (1997). Acetylation and characterization of *Canavalia ensiformis* starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 378-382.
- BeMiller, J. N. (2007). Carbohydrate Chemistry for Food Scientists. AACCI International, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.
- Branen, L. A., Davidson, P. M., Salminen, S. y Thorngate III, J. H. (2002). Food Additives. Segunda edición. Marcel Dekker, Inc. Capítulo 24.
- Callejo, G. M. J. (2001). Industria de Cereales y Derivados. Mundi-Prensa Libros S.A. Río Pánuco, México.

-
- Carmona, G. R., Bello, P. L. A., Garza, M. B. y Sánchez, R. M. (2007). Efecto del Entrecruzamiento en las Transiciones Térmicas y en la Morfología del Gránulo de Almidón de Plátano. IX CONGRESO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS y V FORO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS.
- Chavez, M. E. C., Wang, Y. y Bello, P. L. A. (2008). Morphological, Physicochemical and Structural Characteristic of Oxidized Barley and Corn Starches. *Starch/Stärke* 60: 634-645
- Chi, H., Xu, K., Wu, X., Chen, Q., Xue, D., Song, C., Zhang, W. y Wang, W. (2008). Effect of acetylation on the properties of corn starch. *Food Chemistry* 106: 923-928
- Chmelik, J. (2001). Comparison of size characterization of barley starch granules determined by electron and optical microscopy, low angle laser light scattering and gravitational fieldflow fraction. *Journal Inst Brewing* 107: 11-17
- Ciesla, K., Eliasson, A-C. (2002). DSC studies of gamma irradiation influence on gelatinisation and amylose-lipid complex transition occurring in wheat starch. *Radiation Physics and Chemistry* 68: 933-940
- Colthup N., Daly L. H. y Wiberley S. E. (1990). Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy. Academic Press, New York, USA.
- Cui, W. S. (2005). Food Carbohydrates. Chemistry, Physical Properties and Applications. Taylor & Francis Group LLC. Cap. 9.
- Delgadillo, D. M., (2008). Aislamiento y Caracterización de Almidón de Cebada (*Hordeum vulgare L*). Tesis de licenciatura de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
- Della, V. D. (2005). Estudios reológicos y térmicos del almidón de plátano (*Musa paradisiaca*) modificado por acetilación y oxidación. Tesis de licenciatura del Instituto Tecnológico de Acapulco.
- Della, V. D. (2007). Efecto del nivel de acetilación en las características morfológicas y moleculares del almidón de plátano (*Musa paradisiaca L*). Tesis de maestría del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos de Yauatepec, Morelos.
- de Graaf R. A., Broekroelofs G. A., Janssen L. P. B. M. y Beenackers A. A. C. M. (1995). The kinetics of the acetylation of gelatinized potato starch. *Carbohydrate Polymers*, 28: 137-144.
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2006). Obtenido el 26 de octubre del 2009, disponible en <http://www.fao.org/>
- Fennema, O. R. (2000). Química de los alimentos, segunda edición. Editorial Acriba. Zaragoza, España. pp. 228-245

-
- Flores, G. E., García, S. F. J., Flores, H. E., Nuñez, S. M. C., Gonzáles, S. R. A. y Bello, P. L. A. (2004). Rendimiento del proceso de extracción de almidón a partir de frutos de plátano (*Musa paradisiaca*). *Acta Científica Venezolana*, 55: 86-90.
- Fox, B. A. y Cameron, A. G. (2002). Ciencias de los Alimentos, Nutrición y Salud. Editorial Limusa. Grupo Noriega Editores. P.150-171.
- Franco, F. M. J. (2005). Propiedades mecánicas y de textura del queso tipo Oaxaca. Efecto del proceso de elaboración y del contenido graso. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Guerra-Dellavalle, D., Bello-Pérez, L. A., González-Soto, R. A., Solorza-Feria, J., Arámbula-Villa, G. (2008). Efecto del tiempo de reacción en la acetilación de almidón de plátano. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. Vol. 7(3). Disponible en Internet: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=62011164012>. ISSN 1665-2738.
- Gunaratne, A. y Corke, H. (2007). Influence of prior acid treatment on acetylation of wheat, potato and maize starches. *Food Chemistry* 105 917–925.
- Heins D., Kulicke W. M., Käuper P. y Thielking H. (1998). Characterization of acetyl starch by means of NMR spectroscopy and SEC/MALLS in comparison with hydroxyethyl starch. *Starch/Stärke*, 50(10): 431-437.
- Hernández, M. y Mejía, A. (2007). Gaceta del Senado. Obtenida el 09 de noviembre de 2008, de <http://www.senado.gob.mx/gace.php?sesion=2007/09/20/1&documento=43>
- Hernández, M. T. S. (2006). Estudio de la composición química de cebada cultivada en Zapotlán, Villa de Tezontepec y Tultengo, Hidalgo. Tesis de licenciatura de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Holtekjølen, A.K., Uhlen, A.K., Bråthen, E., Sahlstrøm, S. y Knutsen, S.H. (2006). Contents of starch and non-starch polysaccharides in barley varieties of different origin. *Food Chemistry*. 94: 348-358.
- Huang, J., Schols, H. A., Klaver, R., Jin, Z., Sulmann, E. y Voragen, A. G. J., (2007). Characterization of differently sized granule fraction of yellow pea, cowpea and chickpea starches after modification with acetic anhydride and vinyl acetate. *Carbohydrate polymers*, 67:11-20.
- Huber K. C. y BeMiller J. N. (2001). Location of sites of reaction within starch granules. *Cereal Chemistry* 78: 173-180.

-
- Jacobs, H. y Delacour, J. A. (1998). Hydrothermal Modifications of Granular Starch, with Retention of the granular Structure: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 46, No. 8.
- ISI. (2006). International Starch Institute. International starch: starch raw material composition & starch usage worldwide. Aarhus, Denmark: International starch institute. Obtenido el 23 de Octubre del 2009, disponible en <http://www.starch.dk/isi/stat/rawmaterial.asp>.
- Lawal, O. S. (2004). Succinyl and acetyl starch derivatives of a hybrid maize: physicochemical characteristics and retrogradation properties monitored by differential scanning calorimetry. *Carbohydrate Research* 339 2673-2682.
- Lui, H. y Corke, H. (1999). Physical Properties of Cross-linked and Acetylated Normal and Waxy Rice Starch. *Starch/Stärke* 51: 249–252
- López, P. P., Gúzman, O. F. A. y Santos, L. E. M. (2005). Evaluación de la calidad de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum* jess) cultivadas en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala. *Revista Chilena de Nutrición*. Vol. 32, No. 3, p.247-253. ISSN 0717-7518.
- Lozada, C. M. A. (2007). Extracción y caracterización reológica de polisacáridos tipo pectina de la cáscara de tuna (*Opuntia* spp.) Tesis de Licenciatura de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Mano J. F., Koniarova D. y Reis R. L. (2003). Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blends with potential biomedical applicability. *Journal of Materials Science* 14: 127-135.
- Márquez. E. A. K., Acosta, R. K. y Román, G. A. D. (2006). Rendimiento de molienda de distintas variedades de cebada (*Hordeum Sativum* jess). *Revista Salud Pública y Nutrición*. Edición especial No. 14-2006 ISSN 1870-0160.
- Mark A. M. y Mehlretter C. L. (1972). Facile preparation of starch triacetates. *Starch/Stärke*, 24: 73-76.
- McGregor, A. W. Y Bhatti, R. S. (1996). Barley, Chemistry and Technology. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.
- Méndez, M. G. (2006). Cambios fisicoquímicos y moleculares en el almidón de maíz debido al proceso de nixtamalización. Tesis de Doctorado del Instituto Politécnico Nacional.
- Millán, T. C., Mendez, M. G., Ottenhof, M. A., Farhat, I. A. y Bello, P. L. (2005). Determination of the molecular and structural characteristics of okonia, mango, and banana starches. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 53:495-501.

-
- Mirmoghtadaie, L., Kadivar, M. y Shahedi, M. (2009). Effects of cross-linking and acetylation on oat starch properties. *Food Chemistry* 116: 709–713.
- Myers A. M., Morell M. K., James M. G. y Ball S. G. (2000). Recent progress towards understanding biosynthesis of the amylopectin crystal. *Plant Physiology*, 122: 989-997.
- Newman, R. K. y Newman, C. W. (2008). Barley for Food and Health. Science, Technology, and Products. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- NMX-FF-043-2003. Productos Alimenticios No Industrializados para Consumo Humano-Cereal- Cebada Maltera (*Hordeum vulgare* L. Y *Hordeum distichum* L.)- Especificaciones y Métodos de prueba. Obtenida el 03 de abril del 2009, disponible en www.economia.gob.mx/work/normas/nmx/1982/nmx-ff-043-1982.pdf
- Núñez, S. M., Bello, P. L. y Tecante, A. (2004). Swelling-solubility characteristics, granule size distribution and rheological behavior of banana (*Musa paradisiaca*) starch. *Carbohydrate Polymers*. 56:65-75.
- Osca, L. J. M. (2001). Cultivo de cereales herbáceos extensivos: Cereales. Editorial Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.
- Paredes, L. O., Schevenin, M. L., Hernández, L. D., Cárabez, A. 1989. Amaranth starch isolation and partial characterization. *Starch/Starke*. 41:205-207.
- Phillips, L. D., Liu, H., Pan, D. y Corke, H. (1999). General Application of Raman Spectroscopy for the Determination of Level of Acetylation in Modified Starches. *Cereal Chemistry* 76(3) 439-443
- Predicción de Cosechas PRONESPRES. Resumen Ejecutivo Grupo Colegiado (2006). Obtenido el día 19 de febrero del 2010, disponible en encuestascontinuas.siap.gob.mx/.../20061106_Cebada_Hidalgo_VGC_F2.pdf
- Pushpamalar V., Langford S. J., Ahmad M. y Lim Y. Y. (2006). Optimization of reaction conditions for preparing carboxymethyl cellulose from sago waste. *Arbohydrate Polymers* 64: 312-18.
- Rincón, M. A., Rached, B. L., Aragoza, L. E. y Padilla, F. (2007). Efecto de la acetilación y oxidación sobre algunas propiedades del almidón de semillas de Fruto de pan (*Artocarpus altilis*). *ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN*. Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición. Vol. 57, No. 3
- Robles, S.R. (1990). Producción de granos y forrajes. 4ª. Ed. de México
- Rutenberg R. W. y Solarek D. (1984). Starch derivatives: Production and uses.
-

-
- En: Starch Chemistry and Technology. 2nd Ed. Eds. R.L. Wistler, J. N. BeMiller, E. F. Paschall. Academic Press, New York, EUA. pp. 311-366.
- Saartrat S., Puttanlek C., Rungsardthong V. y Uttapap D. (2005). Paste and gel properties of low-substituted acetylated canna starches. *Carbohydrate Polymers*, 61: 211-221.
- SAGARPA. (2006). Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Delegación Hidalgo. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>
- SAGARPA. (2008). Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Delegación Hidalgo. Obtenida el 09 de noviembre de 2008, de <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>
- Sandoval, A. A., Rodríguez, S. E. y Fernández, Q. A. (2005). Aplicación del análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) para la caracterización de las modificaciones del almidón. *Dyna*. 72(146):45-53.
- Sasaki, T., Yasui, T., Kiribuchi-Otobe, C., Yanagisawa, T., Fujita, M. y Kohyama, K. 2007. Rheological properties of starch gels from wheat mutants with reduced amylose content. *Cereal Chemistry*. 84(1):102-107.
- Serna, S. S. 2001. Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. AGT Editor. México, D. F.
- Singh, N., Chawla, D. y Singh, J. (2003). Influence of acetic anhydride on physicochemical, morphological and thermal properties of corn and potato starch. *Food Chemistry* 86 (2004) 601-608.
- Singh J., Kaur L. y McCarthy O. J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications. A review. *Food Hydrocolloids*, 21: 1-22.
- Sívoli, L., Pérez, E., Rodríguez, P., De Abrisqueta, A. y Raymúndez, M. B. (2005). Cambios en la Estructura Granular durante el Proceso de Modificación Química (Fosfatado- Acetilado) del Almidón de Yuca Analizado por Microscopía Óptica y Electrónica. *Acta Microscópica* Vol. 14 Nos. 1 y 2, pp. 6-9
- Thomas, J. D. y Atwel, A. W. (1998). Starches. Egan Press Handbook. Estados Unidos de América.
- Tomasik, P. (2004). Chemical and Functional Properties of Food Saccharides. CRC Press LLC. Cap. 8.
- Tovar, B. T. (2008). Caracterización Morfológica y Térmica del Almidón de Maíz (*Zea mays L*) Obtenido por Diferentes Métodos de Aislamiento. Tesis de

-
- Licenciatura de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Waliszewski, K. N., Aparicio, M. A., Bello, L. A. y Monroy, J. A. 2003. Changes of banana starch by chemical and physical modification. *Carbohydrate Polymers*, 52:237-242.
- Wurzburg, O. B. y Szymanski, C. D. (1970). Modified starch for the food industry. *Journal of Agriculture Food and Chemistry*. 18: 997-998.
- Xu Y., Miladinov V. y Hanna M. A. (2004). Synthesis and characterization of starch acetates with high substitution. *Cereal Chemistry*, 81: 735-740.
- Xu Y. y Hanna M. A. (2005). Preparation and properties of biodegradable foams from starch acetate and poly (tetramethylene adipate-coterephthalate). *Carbohydrate Polymers* 59: 521-529.
- Yu, L., Christine, G. (2001). Measurement of starch thermal transitions using differential scanning calorimetry. *Carbohydrate Polymers*. 46: 179-184