



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE
ALMIDÓN DE CEBADA (*Hordeum vulgare L*)”**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN QUÍMICA EN ALIMENTOS

PRESENTA

MARIANA DELGADILLO DÍAZ

ASESORES:

DRA. ALMA DELIA ROMÁN GUTIÉRREZ

DR. LUIS ARTURO BELLO PÉREZ

DEDICATORIAS

A **Dios**, por hacerme una persona única, por demostrarme tanto amor mediante la persona más importante de mi vida: mi mamá. Gracias por darme la oportunidad de vivir y cumplir mis sueños.

A **mi querida mamá**, por traerme al mundo, por estar conmigo en todo momento, por ser mi amiga, por dar su vida entera por mí. Gracias por estar a mi lado y ser mi mamá, por ti; soy. Te amo.

A **mi tío Martin**, por ser una excelente persona, por confiar en mí, por apoyarme hasta este momento. Muchas gracias.

AGRADECIMIENTOS

A la **Dra. Alma Delia Román Gutiérrez**, por brindarme su apoyo y confianza durante todo este tiempo, por darme la oportunidad de realizar este trabajo bajo su dirección.

A **los profesores y alumnos** del Departamento de Desarrollo Tecnológico, especialmente al Dr. Luis Arturo Bello Pérez, por el apoyo brindado para la realización de la parte experimental de este trabajo.

A **Tomás**, por el apoyo y ayuda incondicional en cada momento, por todos los momentos que hemos pasado juntos. Gracias por estar conmigo, por escucharme y comprenderme cada vez que lo necesito. ERES EL MEJOR CHICO QUE HE CONOCIDO EN MI VIDA, TE AMO.

A **Bertha y Manuel Alejandro**, por ser mis amigos incondicionales, por toda la ayuda que he recibido de su parte, especialmente durante la elaboración de este trabajo. Es un placer haberlos conocido.

A mi tía **Elena**, mi prima **Adriana**, **Héctor**, a mis padrinos **Inés y Faustino[†]**, **Sra. Bertha**, **Sra. Rosy y su familia**; por su apoyo durante toda mi carrera y en la realización de este trabajo.

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 (CEPROBI) del Instituto Politécnico Nacional.

Este trabajo de investigación intitulado **Aislamiento y caracterización de almidón de cebada (*Hordeum vulgare L*)** fue financiado por COFRUPO región centro en la convocatoria 2007. Dentro del proyecto: Obtención de bioproductos a partir del grano de cebada con clave 42-2007-0902.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIAS	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE TABLAS	III
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
<hr/>	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
2.1 Cebada	2
2.1.1 Producción	3
2.1.2 Usos	3
2.1.3 Estructura del grano de cebada	4
2.1.4 Composición química del grano de cebada	7
2.2 Almidón	9
2.2.1 Gránulo de almidón	10
2.2.2 Composición química del gránulo de almidón	13
2.2.3 Aislamiento del almidón	13
2.3 Cambios en el almidón producidos por tratamientos hidrotérmicos	19
2.3.1 Gelatinización	20
2.3.2 Retrogradación	22
2.3.3 Formación de pastas	23
2.4 Caracterización fisicoquímica del almidón	24
2.4.1 Calorimetría diferencial de barrido	25
2.4.2 Reología	27
III. OBJETIVOS	31
3.1 Objetivo General	31
3.2 Objetivos Específicos	31

IV. MATERIALES Y MÉTODOS	32
4.1 Materia prima	32
4.2 Selección y preparación de las muestras	32
4.3 Métodos	33
4.3.1 Aislamiento del almidón	33
4.3.2 Composición química del almidón	34
4.3.3 Caracterización morfológica del almidón	37
4.3.4 Caracterización fisicoquímica del almidón	37
4.3.4.1 Análisis térmico	37
4.3.4.2 Análisis reológico	38
4.3.5 Análisis estadístico	39
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
5.1 Rendimiento de la selección y preparación de las muestras	40
5.2 Composición química del grano de cebada	41
5.3 Composición química del almidón	42
5.4 Caracterización morfológica del almidón	45
5.5 Caracterización fisicoquímica del almidón	54
5.5.1 Análisis térmico	54
5.5.2 Análisis reológico	57
VI. CONCLUSIONES	61
VII. PERSPECTIVAS	62
VIII. BIBLIOGRAFÍA	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1	Características morfológicas de los gránulos de almidón de diferentes fuentes botánicas.	11
2	Composición química de los gránulos de almidón de diferentes fuentes botánicas expresada en % en base seca.	13
3	Propiedades de los componentes de almidón.	15
4	Calorimetría diferencial de barrido para almidones. T_i , T_p y T_f son las temperaturas de inicio, pico y final; ΔH es la entalpía de gelatinización.	25
5	Composición química del grano de cebada expresada en % en base seca.	41
6	Composición química de los almidones expresada en % en base seca.	42
7	Propiedades térmicas de los almidones. T_i , T_p y T_f son las temperaturas de inicio, pico y final en °C; ΔH es la entalpía de gelatinización.	54
8	Resultados de Ley de la Potencia para los almidones.	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura del grano de cebada a) testa y germen b) endospermo, capa de aleurona y pericarpio.	5
2	Estructura del gránulo de almidón.	10
3	Componentes y sus estructuras químicas del almidón.	14
4	Estructura “racimo” de la amilopectina.	17
5	Representación esquemática de los cambios en el almidón durante el calentamiento en exceso de agua.	21
6	Representación esquemática de un amilograma.	24
7	Típico termograma de calorimetría diferencial de barrido.	26
8	Gráficas de fluido newtoniano y no-newtoniano.	29
9	Representación de la Ley de la Potencia o de Ostwald-De Waele.	30
10	Micrografías de almidón de maíz comercial a) 2000x y b) 1000x amplitudes.	46
11	Micrografías de almidón de cebada perlada a) 2000x y b) 1000x amplitudes.	47
12	Micrografías de almidón de cebada con cáscara a) 2000x y b) 1000x amplitudes.	48
13	Micrografías de almidón de maíz comercial a) luz normal b) luz polarizada.	51
14	Micrografías de almidón de cebada perlada a) luz normal b) luz polarizada.	52
15	Micrografías de almidón de cebada con cáscara a) luz normal b) luz polarizada.	53
16	Curvas de flujo de los almidones de maíz comercial (AM), cebada perlada (A CP) y cebada con cáscara (A CC); viscosidad contra velocidad de cizalla.	57
17	Formación de las pastas de los almidones de maíz comercial (AM), cebada perlada (A CP) y cebada con cáscara (A CC).	60

I. INTRODUCCIÓN

Desde hace algunos años, se están buscando fuentes alternas para aislar el almidón por dos razones: en primer lugar satisfacer la demanda de las diferentes industrias que emplean el almidón como materia prima y/o ingrediente, y en segundo lugar buscar almidones que presenten propiedades funcionales, reológicas y fisicoquímicas diferentes o mejores a lo ya convencional (Agustiniano, 2004).

Una de las principales fuentes de aislamiento del almidón son los cereales y tubérculos. Los carbohidratos son sus principales componentes y representan aproximadamente el 80% del peso seco del grano; de éstos, el almidón es el principal constituyente (Serna, 2001). El almidón es un polisacárido formado por dos estructuras: la amilosa o componente lineal, y la amilopectina o componente ramificado (Agama y col., 2005). El almidón es usado en la industria de alimentos impartiendo propiedades funcionales, modificando la textura de los alimentos y la consistencia (Bello y col., 2006). La cebada (*Hordeum vulgare*) esta constituida aproximadamente del 65% de almidón, el cual, esta almacenado en gránulos dentro del endospermo (MacGregor y Bhatti, 1996). Este cereal es utilizado en la industria cervecera, como forraje de ganado y para consumo humano. En México, este cultivo es de gran importancia económica y social (Acosta, 2007). Actualmente ocupa el cuarto lugar de producción de cereales después del trigo, arroz y maíz. El estado de Hidalgo es el principal productor de cebada bajo el sistema de temporal (SAGARPA, 2006).

Una manera de aprovechar la producción del cereal en la región. Debido a que el almidón es el principal constituyente del endospermo del grano de cebada. Es de gran interés desarrollar metodologías para el aislamiento del almidón. El objetivo de este trabajo de investigación fue aislar el almidón de cebada y caracterizarlo parcialmente.

II. ANTECEDENTES

Los cereales son los frutos de pastos cultivados que pertenecen a la familia de las Gramíneas. Son plantas monocotiledóneas cuyo cotiledón, localizado en el germen del grano, es denominado botánicamente *escutelum* o escudo. Es el alimento que contribuye con el aporte energético como uno de los numerosos nutrientes para el organismo. Los cereales han sido, son y seguirán siendo el principal sustento del hombre. Todos los cereales son clasificados como de hábito anual porque completan su ciclo de crecimiento antes del año. Actualmente, los cereales conocidos son nueve: arroz, trigo, maíz, cebada, sorgo, centeno, avena, triticale y mijo. Uno de los usos más importantes de los cereales es como materia prima para la obtención de almidón. En el mercado las principales fuentes comerciales de almidón de cereales son maíz, trigo y arroz (Serna, 2001).

2.1 Cebada

Es uno de los cereales más antiguamente cultivado en el mundo entero (Marconi y col., 2000). Se han encontrado vestigios de su cultivo que datan desde hace 5 000 a 10 000 años en las culturas, Babilónica, Egipcia y China, así como en la Edad de Piedra en las inmediaciones del Lago Suizo. En Norteamérica, la cebada fue cultivada por vez primera por colonos alemanes y españoles hacia el año de 1602 (ASERCA, 2003).

Las características taxonómicas de *Hordeum* son descritas de acuerdo a sus espigas. Tres espigas se van alternando en equipos opuestos en cada nodo del raquis plano de la misma. Por lo tanto es formado un trillizo de espigas en cada nodo, la central y dos laterales. Cada espiga es encerrada por dos glumas. Cuando las tres espigas son fértiles, la espiga es descrita como de seis hileras.

Cuando únicamente la espiga central es fértil, la espiga es de dos hileras (MacGregor y Bhatti, 1996).

2.1.1 Producción

La cebada es el cuarto cereal producido a nivel mundial después del trigo, arroz y maíz (Czuchajowska y col., 1998). Esto es debido a la amplia adaptación en cualquier condición ambiental como ningún otro cereal (López, 2005). Los principales países productores de este cultivo son: Alemania, Canadá, España, Federación de Rusia, Francia, Turquía, Ucrania y Reino Unido (FAO, 2006).

En México, la producción de cebada generalmente se ubica en los estados de Hidalgo, Tlaxcala, México, Guanajuato, Puebla, Zacatecas, Michoacán y Querétaro; los que durante el periodo 2000-2006 cosecharon, en promedio, un poco más del 90% del total de la cebada producida (SAGARPA, 2006).

La principal producción de cebada a nivel nacional corresponde al ciclo primavera-verano, con el 75%, se siembra bajo condiciones de temporal. Los estados de Hidalgo y Tlaxcala ocuparon el primer y segundo lugar en producción de cebada de temporal con 293,176.70 ton y 142,462.30 ton respectivamente, en el 2006. Durante el ciclo otoño-invierno, se produce cerca del 95% bajo condiciones de riego. En el año 2006, bajo este sistema de producción, el estado de Guanajuato fue el mayor productor con 221,537.21 ton del grano (SAGARPA, 2006).

2.1.2 Usos

En la actualidad, aproximadamente el 90% del cultivo de cebada es usado para la industria cervecera y como forraje en ganado (Czuchajowska y col., 1998; Tang y col., 2000). Hoy en día el uso de cebada para consumo humano

no es muy generalizado, tal como el principal ingrediente en productos primarios de comida como pasta, fideos, o como levadura para productos horneados (Izydorczyk y col., 2001). El grano de cebada perlada principalmente es utilizado en el proceso de molienda para la obtención de la harina. La harina de cebada y el salvado son utilizados en la formulación de ciertos productos horneados (Klamczynski y Czuchajowska, 1999).

Altos niveles de aceptación y consumo humano de cebada es relacionado con la cultura y el estatus social. Sin embargo, en otros países del mundo como Corea, la cebada es usada como un sustituto de arroz o como un componente de productos de trigo, como panes y fideos (Czuchajowska y col., 1998).

La cebada es una buena fuente de fibra dietética y β -glucanos los cuales, confieren un alto número de beneficios en el humano. Los productos de cebada reducen altos niveles de colesterol, disminuyen las concentraciones de glucosa en la sangre y han sido reportados con propiedades anti-carcinogénicas (Gill y col., 2002).

2.1.3 Estructura del grano de cebada

En la figura 1, se presentan las principales partes que forman el grano de cebada. Las gramíneas, que se caracterizan por producir un fruto cubierto o protegido, pertenecen a la clase de las Angiospermas. El grano es llamado botánicamente cariósida. La cariósida esta compuesta por el pericarpio (envoltura del grano) y la semilla. La semilla a su vez se subdivide en germen, endospermo, testa o envoltura de la semilla (Serna, 2001).

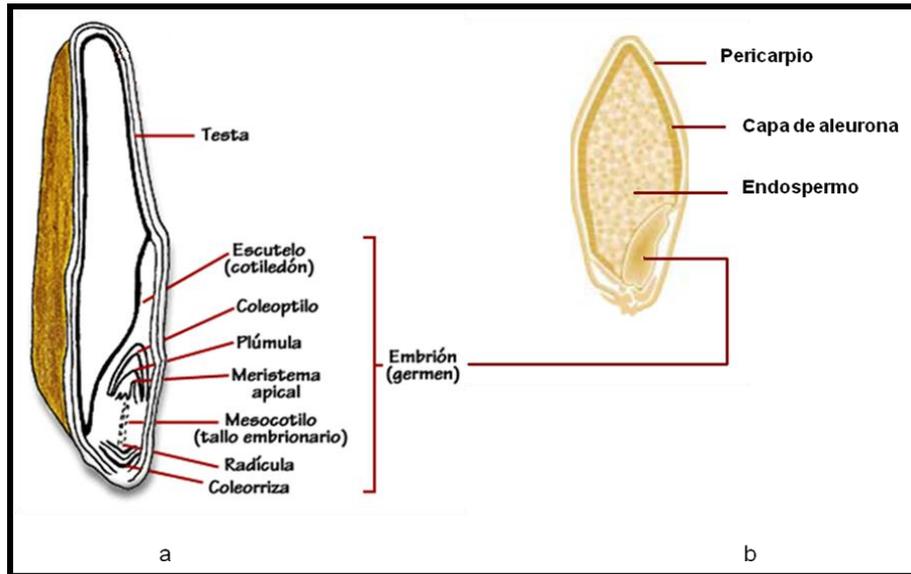


Figura 1. Estructura del grano de cebada a) testa y germen b) endospermo, capa de aleurona y pericarpio.

Fuente: (http://www.uc.cl/sw_educ/cultivos/introcer.htm Enero, 2008)

Las glumas son estructuras florales en forma de hoja que encierran a la carióspside. Sirven como un mecanismo de protección en el grano en desarrollo y maduro contra agentes externos como insectos, hongos y humedad (Serna, 2001).

El pericarpio (Figura 1b) encierra a la semilla, es decir, es la envoltura real del grano y ésta compuesto de varias capas de células. Básicamente esta estructura se divide en epicarpio, mesocarpio y endocarpio. El pericarpio constituye 5-10% del peso del grano. Está caracterizado por contener alto contenido de fibra y cenizas, y carecer totalmente de almidón (Serna, 2001).

El germen (Figura 1a) constituye 3-10% del peso del grano, encierra al *escutelum* y se caracteriza por carecer de almidón y por su alto contenido de aceite, proteína, azúcares solubles y cenizas (Serna, 2001).

La capa más externa del endospermo, de naturaleza proteica, se denomina capa de aleurona (Figura 1b), que en la mayoría de los cereales esta compuesta por una sola capa de células, pero en la cebada hay dos o cuatro estratos (Desrosier, 1999).

El endospermo (Figura 1b) es lo más abundante y voluminoso del grano, pudiendo llegar hasta 75-85% del peso total. El almidón es el principal componente del endospermo, acumulado en gránulos embebidos en una matriz proteica. El almidón del endospermo, excluyendo la capa de aleurona, esta compuesto por tres tipos de células: periféricas, prismáticas y centrales. Las células varían en tamaño, forma y localización dentro del grano. Las células periféricas son la primera hilera de células que están en el interior de la capa de la aleurona, y son usualmente pequeñas, siendo igual en diámetro en todas direcciones o ligeramente prolongadas hacia el centro del grano. Varias hileras de las células prismáticas son prolongadas y se encuentran en el interior de las células periféricas. Las células centrales están en el interior de las células prismáticas. Existe mayor irregularidad en el tamaño y forma que en comparación con otras células. El endospermo periférico se caracteriza por su alto contenido proteico y por contener unidades de almidón pequeñas, angulares y compactas (Serna, 2001).

El endospermo puede ser vítreo o almidonoso. En el endospermo vítreo, no existen espacios de aire y los gránulos de almidón están bien recubiertos por la matriz proteica, por lo que adquieren formas angulares. El endospermo almidonoso se encuentra encerrado por el vítreo. Contiene las mismas estructuras del endospermo vítreo, pero las unidades de almidón son de mayor tamaño y menos angulares; la asociación entre los gránulos de almidón y la matriz proteica es más débil y en general tiene menos contenido de proteína que el vítreo (Serna, 2001).

La testa (Figura 1a) está firmemente adherida a la parte ventral de las células tubulares y consiste en uno o dos estratos de células (Serna, 2001).

2.1.4 Composición química del grano de cebada

El grano de cebada maduro se compone principalmente de agua, minerales, lípidos, proteína y carbohidratos. En la cosecha del grano maduro, el contenido de humedad de la cebada es cerca del 15% (MacGregor y Bhatta, 1996).

Minerales

Los minerales representan entre el 2-3% de la materia seca del grano de cebada. En general el pericarpio, el germen y la capa de aleurona son ricos en estos constituyentes. El potasio y el fósforo son los minerales presentes en mayor cantidad, representando el 50%. El fósforo se encuentra en forma de fitatos. El hierro, zinc y cobre están en el pericarpio, el germen y la capa de aleurona, esta última, también contiene magnesio el cual, generalmente esta ligado al ácido fítico. Pero el sodio y el calcio son un fuente pobre en este cereal (Serna, 2001). Estos resultados fueron comprobados en el estudio realizado por López (2005), para la evaluación de la calidad de diferentes variedades de cebada cultivadas en el los estados de Hidalgo y Tlaxcala.

Lípidos

El contenido de lípidos del grano de cebada maduro esta normalmente en el rango del 2-4%. Muchos de estos lípidos están presentes en la capa de aleurona y germen más que en el endospermo. Los triglicéridos son los lípidos más abundantes, y los ácidos grasos insaturados presentes son el oleico y linoleico. Otros constituyentes de la fracción de lípidos incluyen diacilgalactosilgliceridos, di-O-acilfosfolipidos y un único tipo de lípidos llamado almidón-lípidos. Estos son definidos como esos lípidos que se encuentran dentro de los gránulos de almidón nativo y están pensados que existen como inclusión de complejos de amilosa (MacGregor y Bhatta, 1996).

Proteína

La cantidad de proteínas, es del 8-15% del peso seco del grano de cebada maduro, son estructuras fundamentales, las cuales se encuentran distribuidas en diferentes fracciones dentro del grano. Las proteínas se clasifican en cuatro grupos de acuerdo a sus propiedades de solubilidad establecidas por Osborne en 1924. Las albúminas y las globulinas, son solubles en agua y en soluciones salinas diluidas, respectivamente, y las prolaminas, son solubles en soluciones alcohólicas. La fracción final de las glutelinas, consiste en todas las proteínas no extraídas en los otros solventes. Las glutelinas son extraídas con soluciones diluidas de ácidos o álcalis, esto no es muy usual, comúnmente se utiliza un detergente. Las proteínas de la cebada se definieron de acuerdo a lo anterior y a su funcionamiento las cuales, son de almacenamiento y no almacenamiento. Por lo tanto, las proteínas incluidas son las de mayor solubilidad en soluciones alcohólicas, en este caso son las prolaminas (hordeína) y las cuantitativamente menores, son las globulinas. La proporción de las proteínas del endospermo de la cebada son aproximadamente del 30% de hordeína, 30% de glutelina y 10% de globulina, el 30% quedado es esencialmente compuesto de albuminas y aminoácidos (MacGregor y Bhatti, 1996). Las glutelinas son las principales proteínas estructurales del endospermo. Básicamente se encuentran situadas dentro de la matriz proteica y asociadas con las prolaminas (López, 2005).

Carbohidratos

Cerca del 80% constituyen los carbohidratos del peso del grano de cebada. El componente más abundante contenido es el almidón, arriba del 65%. Los polisacáridos de la pared celular son también cuantitativamente importantes y pueden representar más del 10% del peso del grano los cuales, son microfibrillas celulósicas y β -glucanos. Más allá, los polisacáridos contribuyen en la fibra dietética de las dietas humanas. Por otro lado, 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 las cuales, están en concentraciones considerables en el germen con respecto

al endospermo. La mayor cantidad de celulosa en el grano es localizada en la cáscara en conjunto con la lignina (MacGregor y Bhatta, 1996).

2.2 Almidón

El almidón es el principal carbohidrato de reserva alimenticia predominante en las plantas (Fennema, 2000). Aunque el contenido de almidón varía según la fuente de aislamiento, éste se encuentra generalmente entre 60 y 75%, y provee entre el 70-80% de las calorías consumidas por el hombre (Agustiniano, 2004).

El almidón representa una fracción importante en un gran número de productos agrícolas como los cereales (maíz, trigo, arroz) cuyo contenido va del 30 a 80%, las leguminosas (fríjol, chícharo, haba) con un 25 a 50% y los tubérculos (papa, yuca) en los que representa un 60 a 90% de la materia seca (Guilbot y Mercier, 1985). La producción anual de almidón extraído de cereales (principalmente maíz) es aproximadamente 2,050 millones de ton, y de raíces y tubérculos es de 679 millones de ton. La mayor parte del maíz y el almidón de maíz son producidos en Estados Unidos de América, mientras Europa es un importante productor de almidones de trigo y papa (Tamás, 2000).

Las principales aplicaciones del almidón se encuentran en diversas industrias, como la del papel, farmacéutica, química, fermentaciones y de alimentos (Bello y Tovar, 2001). La primera utilización del almidón en los alimentos fue como material nutritivo obtenido a partir de frutas, vegetales, raíces y semillas (Moore y col., 1984). Actualmente, el almidón es usado en la industria de alimentos como espesante o de consistencia, para proporcionar características de viscosidad y sentido al gusto, pero también funciona como un adhesivo, enlazador, agente encapsulante, formador de película, agente gelificante, enlazador de agua, texturizante y sustituto de grasa (Mauro, 1996).

2.2.1 Gránulo de almidón

El almidón existe en entidades discretas las cuales, reciben el nombre de gránulos. Estos consisten de áreas cristalinas (cristales, micelas) y no cristalinas (amorfos, fase gel), arregladas en capas concéntricas (Figura 2). Las capas cristalinas están conformadas por dobles hélices de las ramificaciones de la amilopectina, mientras que los puntos de ramificación están en las zonas amorfas (Sandoval y col., 2005).

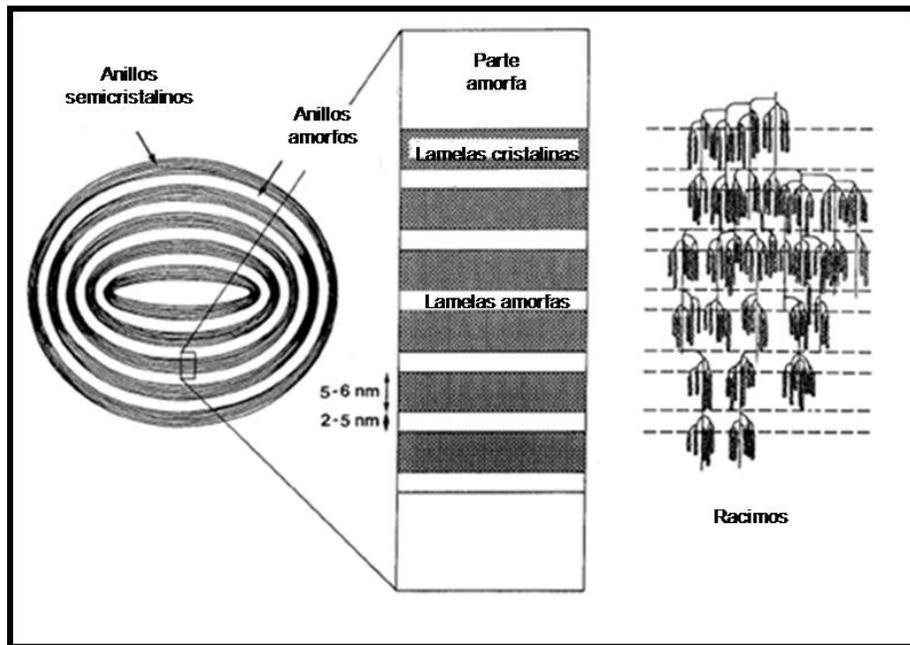


Figura 2. Estructura del gránulo de almidón.

Fuente: (Jacobs y Delcour, 1998)

El tamaño, la forma y la estructura de los gránulos difieren substancialmente entre fuentes botánicas como se observa en la tabla 1. Los diámetros varían en un rango de 1 μm a 200 μm ; las formas pueden ser elípticas, esféricas, angulares; simples o compuestas (Sandoval y col., 2005).

Tabla 1. Características morfológicas de los gránulos de almidón de diferentes fuentes botánicas.

Fuentes	Tipo	Forma	Distribución	Tamaño (µm)
Cebada	Cereal	Lenticular (Tipo A) Esférica (Tipo B)	Bimodal	5-15
Maíz (ceroso y normal)	Cereal	Esférica/ poliédrica	Unimodal	2-30
Amilomaiz	Cereal	Irregular	Unimodal	2-30
Avena	Cereal	Poliédrica	Unimodal	3-10
Arroz	Cereal	Poliédrica	Unimodal	3-8
Centeno	Cereal	Lenticular (Tipo A) Esférica (Tipo B)	Bimodal	10-40
Sorgo	Cereal	Esférica	Unimodal	5-20
Trigo	Cereal	Lenticular (Tipo A) Esférica (Tipo B)	Bimodal	15-35
Chícharo	Leguminosa	Rentiforme (simple)	Unimodal	5-10
Papa	Tubérculo	Lenticular	Unimodal	5-100

Fuente: (Millán, 2004)

Los gránulos de tubérculos de papa miden 100 µm, mientras que existen otros de 1-3 µm como los de raíz de taro (planta de raíces comestibles) (Bernal y Martínez, 2006). Los gránulos de almidón de papa son elípticos, los almidones de legumbres como el chícharo son de forma ovoidal, mientras que los gránulos de cereales son generalmente pequeños y poliédricos (Jacobs y Delcour, 1998; Svihus y col., 2005). Un típico tamaño bimodal (dos poblaciones) del gránulo de almidón ha sido reportado en trigo, centeno y cebada (Svihus y col., 2005). Este último cereal presenta los gránulos de tipo A, con una forma grande lenticular (rango de tamaño de 10-30 µm) y los gránulos de tipo B, son esféricos pequeños (rango de tamaño <10 µm) (McDonald y col., 1991; Oscarsson y col., 1997).

Las propiedades fisicoquímicas y características estructurales del tipo A y B o gránulos de almidón total han sido estudiadas y reportadas (Tang y col., 2000). Sin embargo, algunas investigaciones refieren reportes de gránulos de almidón de trigo y cebada de tamaño pequeño, mediano y grande (Stevnebø y col., 2006).

Los gránulos de almidón pueden reconocerse por su forma, tamaño, posición del hilio y temperatura de gelatinización. Cuando los gránulos de almidón se encuentran libres de una matriz proteica, la superficie no dañada es relativamente suave sin presentar poros o fracturas. Bajo la luz polarizada, los gránulos de almidón presentan la apariencia de esferocristales distorsionados, con un típico transverso oscuro interceptando el hilio, comúnmente llamado cruz de malta (Bello y Tovar, 2001). Este fenómeno es conocido como birrefringencia el cual, indica que existe un alto grado de orientación molecular dentro del gránulo, llegándose a la conclusión que dicha orientación es en una dirección radial (Méndez, 2006).

La microscopía electrónica de barrido (MEB) es una herramienta útil para observar la morfología de los gránulos de diferentes fuentes botánicas. Esta también ha sido relacionada con los cambios de la estructura de las pastas (Singh y col., 2003).

Los gránulos de almidón cuando se extraen y se secan tienen la apariencia de un polvo blanco y son insolubles en agua fría. En forma general, presentan una composición química con 0.06-0.45% de proteína, 0.05- 0.8% de lípidos y 0.07-1.4% de cenizas y el resto lo forma el almidón propiamente dicho (Guilbot y Mercier, 1985). Estos constituyentes en muchas ocasiones juegan un papel importante en las propiedades funcionales del almidón, y su contenido varía dependiendo de la fuente de obtención como se observa en la tabla 2 (Della, 2005).

Tabla 2. Composición química de los gránulos de almidón de diferentes fuentes botánicas expresada en % en base seca.

Fuente	Humedad	Cenizas	Lípidos	Proteína^b	Carbohidratos
Maíz	13	0.1	0.6	0.35	85.92
Papa	19	0.4	0.05	0.06	80.41
Trigo	14	0.15	0.8	0.4	84.59
Tapioca	13	0.2	0.1	0.1	86.59
Sorgo	13	0.08	0.7	0.3	85.92
Arroz	15	0.5	0.8	0.45	83.15
Amaranto	6	1.4	0.4	0.1	92.10
Plátano	12.6	1.3	2.2	2.03	80.27

b= Nx6.25

Fuente: (Della, 2005)

2.2.2 Composición química del gránulo de almidón

Químicamente el almidón es un polisacárido, compuesto de un número de monosacáridos, moléculas de D-glucosa (Sajilata y col., 2006). El almidón contiene dos clases de estructuras: amilosa y amilopectina las cuales, difieren en el grado de polimerización y en la frecuencia de ramificación (Tamás, 2000). La proporción de estas estructuras influye fuertemente en las propiedades del almidón (Sasaki y col., 2007).

Amilosa

Es un polímero lineal formado por cadenas de glucosa unidas por enlaces α -1,4 (Figura 3) (Bernal y Martínez, 2006). Sin embargo, se ha demostrado la presencia de cierta cantidad de enlaces α -1,6, en esta macromolécula (Bello y Tovar, 2001). Constituye el 20-30% del gránulo de almidón en los órganos de almacenamiento y 4-20% en los gránulos provenientes de las hojas (Bernal y

Martínez, 2006). Esta molécula tiene una masa molecular de 105 a 106 g/mol (Sajilata y col., 2006), con un promedio de 500 a 6000 unidades de D-glucosa, repartidas en un número de cadenas que va de 1 a 20. Cada cadena presenta un grado de polimerización (GP, número de unidades de glucosa que se encuentran unidas en una cadena) promedio de 500 (Millán, 2004). Aunque, la localización exacta de la amilosa en el gránulo no ha sido determinada de manera concluyente, se ha sugerido que se encuentra principalmente en la región menos cristalina, la parte amorfa (Bernal y Martínez, 2006).

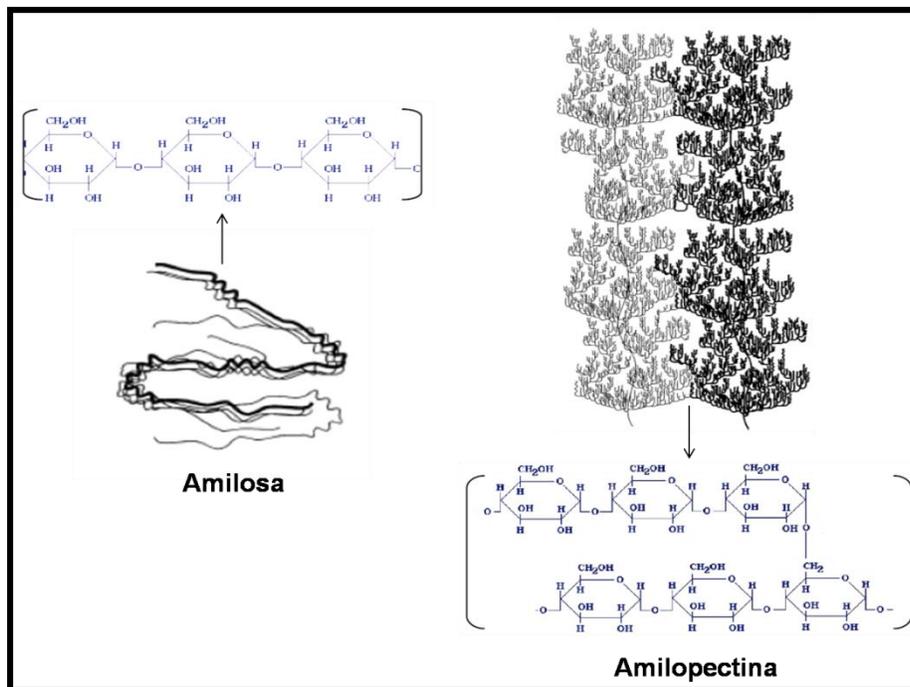


Figura 3. Componentes y sus estructuras químicas del almidón.

Fuente: (Tamás 2000, Tenorio, 2004)

Por su contenido de amilosa, los almidones pueden ser clasificados en diferentes grupos; como son los almidones cerosos que tienen poca cantidad de amilosa, alrededor de 1-2%, los normales entre 17-24% de amilosa y los altos 70% o más de este polímero (Agustiniano, 2004). La proporción de amilosa en

varios almidones de cebada es de 30 a 460 g/Kg, en maíz es de 0 a 700 g/Kg y en trigo de 30 a 310 g/Kg (Svihus y col., 2005).

En la tabla 3, se muestran las propiedades de la molécula de amilosa. Debido a su estructura lineal, flexible y de gran longitud, confiere a la amilosa la capacidad de enrollarse de manera helicoidal, de esta forma dentro de la hélice se propicia un entorno hidrofóbico, lo cual provee algunas propiedades como: su capacidad para formar complejos con yodo, alcoholes o ácidos orgánicos (Della, 2005).

Tabla 3. Propiedades de los componentes de almidón.

Propiedad	Amilosa	Amilopectina
Estructura molecular	Esencialmente lineal	Ramificada
Longitud de cadena	10^3 Da	20 -25 Da
Grado de polimerización	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 película	Fuerte	Quebradiza
Digestibilidad %		
β – amilasa	70	55-60
β – amilasa y dextrinaza	100	100

Fuente: (Della, 2005)

Los largos segmentos helicoidales de la amilosa, permiten la formación de largas cadenas de poli (I_3^-), que dan lugar al color azul característico que puede ser utilizado como diagnóstico de la presencia de almidón. El complejo amilosa-yodo contiene un 19% de yodo, y la determinación de la cantidad de complejo sirve para medir la cantidad de amilosa aparente presente en el almidón (Fennema, 2000).

Los lípidos polares pueden afectar a las pastas del almidón como resultado de la formación del complejo amilosa-lípido, presente naturalmente en el almidón y/o formado durante la gelatinización (Fennema, 2000; Gelders y col., 2004).

Amilopectina

Es un polisacárido semicristalino, altamente ramificado de mayor tamaño que la amilosa, con un esqueleto de enlaces α -1,4 y 4-5% de puntos de ramificación α -1,6 (Figura 3) (Bernal y Martínez, 2006). La amilopectina tiene una masa molecular de 107 a 109 g/mol y un promedio de grado de polimerización de 2 millones. Es una molécula de las más grandes en la naturaleza, con un número de 20 a 25 unidades de glucosa entre los típicos puntos de ramificación.

La molécula de amilopectina presenta tres tipos de cadenas: cadenas cortas (A) con grado de polimerización de 12-16, que pueden formar dobles hélices arregladas en racimos. Los racimos comprenden del 80-90% de las cadenas, son unidos por largas cadenas (B) que forman el otro 10 a 20% de las cadenas y una sola cadena de grado de polimerización mayor de 60 que posee el extremo reductor (Figura 4) (Sajilata y col., 2006; Agustiniano, 2004).

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). Algunas características importantes de la amilopectina son listadas en la tabla 3.

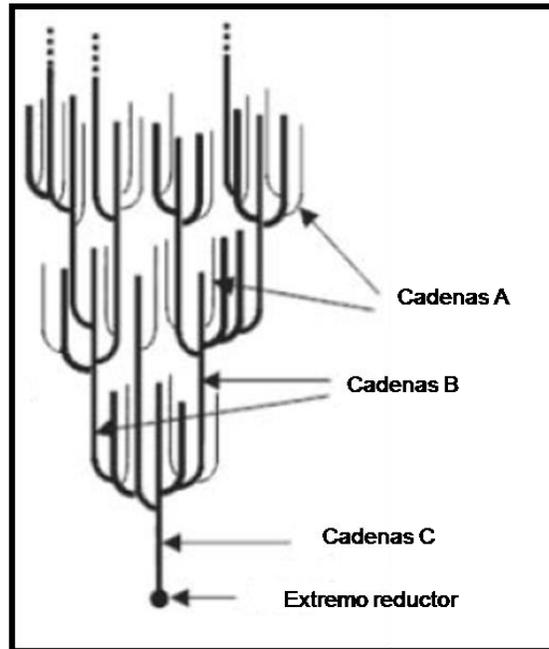


Figura 4. Estructura “racimo” de la amilopectina.

Fuente: (Sajilata y col., 2006)

2.2.3 Aislamiento del almidón

Los métodos tradicionales de obtención del almidón a nivel laboratorio e industrial no son aplicables directamente en todas las especies, principalmente debido a que en ellas el almidón se encuentra acompañado de otros compuestos químicos como proteína, lípidos y fibra (Estévez y col., 2000).

Gran parte de los almidones nativos se aíslan a partir de las fuentes de cereales (a partir del grano o subproductos), particularmente de maíz, maíz céreo, maíz rico en amilosa, trigo y varios tipos de arroz; conservando la estructura nativa del almidón (Fennema, 2000).

Uno de los métodos para obtener almidón, es mediante la llamada molienda húmeda (Badui, 1997). Este método se ha utilizado para extraer almidón a partir de plátano (Flores y col., 2004), mango (Agustiniano, 2004), tubérculos de

Discorea bulbifera (Araujo, 2004), semillas de *Araucaria brasiliensis* (Bello y col., 2006) y *Amaranthus hypochondriacus* (Paredes y col., 1994). En éste, el grano se remoja en soluciones con diversos compuestos químicos; con la finalidad de impedir el crecimiento de microorganismos y debilitar o romper la matriz proteica, que esta íntimamente ligada con los gránulos de almidón. Además, se usa agua como vehículo para lograr la conducción, separación y purificación de este importante carbohidrato (Serna, 2001, Badui (1997), Ji y col. (2004), Andersson y col. (2001)

El almidón también puede ser extraído de la harina: almidón de trigo (Serna, 2001), almidón de cebada (Kaukovirta y col. 1997).

Otro de los métodos utilizados para el aislamiento de almidón, es el método alcalino: almidón de arroz (Wang y Wang, 2004), almidón de cebada (Yoshimoto y col., 2000; Yoshimoto y col., 2002).

Existen procesos diseñados y adaptados para la extracción de almidón a partir de algunas leguminosas (frijol, garbanzo, arveja, castaña, piñón, quinoa y amaranto), de otros cereales (sorgo y centeno) y ciertas semillas (*Okenia hypogaea*) (Estévez y col., 2000; Serna, 2001; Reyes y col., 2003). El aislamiento de almidón para algunas fuentes botánicas se emplea el método de aislamiento neutro de Adkins y Greenwood (1966) modificado por Paredes y col. (1989). Este método es uno de los más utilizados para aislar el almidón ya que produce un mínimo de modificaciones a los almidones. Sin embargo, los rendimientos y la pureza obtenida insinúan la necesidad de investigar nuevos métodos para mejorarlos (Estévez y col., 2000).

Los diferentes procesos de extracción afectan la composición química, presentando pequeñas cantidades principalmente de proteína; lo cual provoca una disminución de la pureza del almidón obtenido. También afectan sus propiedades físicas y estructurales de los gránulos, provocando la organización no rígida de los gránulos de almidón (Ji y col., 2001).

El rendimiento del almidón depende del método utilizado para su obtención. Ji y col. (2001) refirieron el material obtenido seco de sus procesos como almidón. Sin embargo no todo el material fue completamente puro. La materia recobrada después de la molienda húmeda presentó una cantidad mínima de proteína, fibra y otros residuos. El rendimiento del almidón fue determinado utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ rendimiento almidón} = \frac{\text{peso materia seca} \times 100}{\text{peso de granos}}$$

Tanto el maíz como el trigo tienen un mayor contenido de almidón que la cebada, y en la extracción es también mayor comparado con la cebada (Andersson y col., 2001).

2.3 Cambios en el almidón producidos por tratamientos hidrotérmicos

Existen dos tratamientos hidrotérmicos que modifican las propiedades fisicoquímicas del almidón sin destruir la estructura granular, los cuales son annealing (templado) y tratamiento combinado calor-humedad. Ambos tratamientos requieren el almacenamiento del almidón a un contenido de humedad y temperatura específicos durante un período de tiempo determinado. Estas modificaciones, ocurren a temperaturas por encima de la temperatura de transición vítrea (T_g) y toman lugar en las áreas amorfas del almidón cuando se encuentran en estado gomoso (Jacobs y Delcour, 1998).

El tratamiento físico requiere la incubación de los gránulos de almidón en exceso de agua o a contenidos intermedios, esto es por encima de 40% de agua (p/p), durante un período de tiempo determinado a temperatura por encima de la transición vítrea (Sandoval y col., 2005). Después de este tratamiento, no cambia el tamaño del gránulo ni la forma, ni existe la formación de complejos entre amilosa y lípidos (Jacobs y Delcour, 1998).

El tratamiento calor-humedad se realiza incubando gránulos de almidón a bajos contenidos de humedad, es decir, por debajo de 35% de agua (p/p), durante un cierto período de tiempo y temperatura por encima de la temperatura de transición vítrea y menor a la temperatura de gelatinización (Jacobs y Delcour, 1998). No obstante, se pueden trabajar temperaturas mayores pues el almidón se encuentra con un contenido de humedad que no es suficiente para soportar la gelatinización; lo anterior produce una reorientación de la estructura en las regiones amorfas del gránulo quedando semejantes a la región cristalina (Sandoval y col., 2005).

2.3.1 Gelatinización

Los gránulos de almidón, son insolubles en agua fría, pero se hinchan cuando se calientan en una solución acuosa. Este hinchamiento inicialmente es reversible, y las propiedades ópticas del gránulo no se pierden (por ejemplo, la birrefringencia). Sin embargo si se alcanza una cierta temperatura, la estructura del gránulo se altera significativamente y el hinchamiento llega a ser irreversible (Lai y Kokini, 1991). Este proceso es conocido con el nombre de gelatinización, y la temperatura a la cual ocurre el fenómeno se le conoce como temperatura de gelatinización (Bello y Tovar, 2001). La gelatinización empieza en el hilio del gránulo y se hincha rápidamente a la periferia del mismo. La gelatinización ocurre inicialmente en las regiones amorfas, las opuestas a las regiones cristalinas del gránulo, porque quitan fuerza al hidrógeno vinculado en estas áreas (Singh y col., 2003).

Esta transformación va acompañada de cambios irreversibles en sus propiedades como: absorción de agua, hinchazón del grano, fusión de la parte cristalina, pérdida de la birrefringencia y la solubilidad del gránulo (Rodríguez y col., 2001). Mientras estos cambios tienen lugar, hay un incremento en la viscosidad del medio, en el cual el almidón es calentado. Cuando la mayoría de los gránulos han pasado por este proceso, el almidón es considerado como

empastado (Fennema, 2000). Los cambios que suceden durante la gelatinización y empastado afectan notoriamente las propiedades reológicas de las suspensiones de almidón (Jacobs y Delcour, 1998).

La fase inicial del proceso de gelatinización y el rango durante el cual se lleva a cabo, es gobernada principalmente por la concentración del almidón en solución, el método de observación, origen y forma del gránulo y la homogeneidad dentro del gránulo (Rodríguez y col., 2001). Cuando la cantidad de agua es limitada, no ocurre una gelatinización completa en el intervalo usual de temperatura. Sin embargo, conforme la temperatura se incrementa los gránulos de almidón se vuelven progresivamente más móviles y eventualmente las regiones cristalinas se funden (Bello y Tovar, 2001).

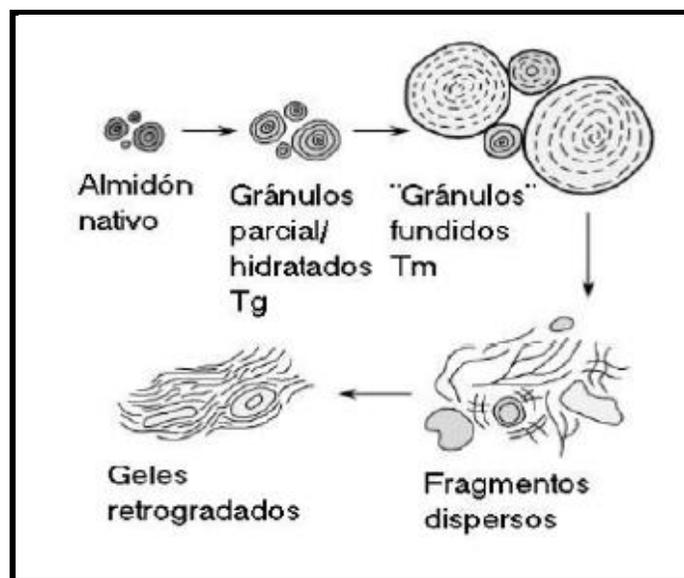


Figura 5. Representación esquemática de los cambios en el almidón durante el calentamiento en exceso de agua.

Fuente: (Sandoval y col., 2005)

La calorimetría diferencial de barrido utilizada comúnmente para estudiar este fenómeno, mide los cambios térmicos que presentan la muestra en este proceso, y la energía requerida para la gelatinización, lo cual principalmente refleja la pérdida del orden molecular (las dobles hélices) (Jacobs y Delcour, 1998). La temperatura de inicio de gelatinización es típicamente reportada entre 50-60 °C en exceso de agua (Figura 5) (Sandoval y col., 2005).

La gelatinización es un fenómeno importante que ocurre en las operaciones del procesamiento de los alimentos como horneado de pan, extrusión de productos a base de cereales, elaboración de salsas, etc. (Biliaderis y col., 1980).

2.3.2 Retrogradación

La retrogradación es un fenómeno usado para describir los cambios que ocurren después de la gelatinización (periodo de enfriamiento y almacenamiento) del gránulo de almidón de un estado inicial amorfo a uno más ordenado o estado cristalino (Fredriksson y col., 1998; Liu y col., 2007). Los cristales que se forman son acompañados por un incremento gradual en la rigidez y la separación de fases entre el polímero y el solvente (sinéresis) (Sandoval y col., 2005). Sin embargo, a veces la aparición de cristales en este proceso promueve una modificación en la estructura, en las propiedades mecánicas u organolépticas de ciertos productos a base de almidón (Adb y col., 2000).

La retrogradación del almidón ocurre en dos procesos: a corto plazo atribuido a la gelación y la cristalización de la fracción de amilosa solubilizada, mientras que los cambios a largo plazo son atribuidos a la recristalización de la fracción de la amilopectina (Sasaki y col., 2007).

2.3.3 Formación de pastas

La formación de pastas es el fenómeno seguido a la gelatinización en la disolución de almidón. Pueden ser consideradas como mezcla de gránulos hinchados y fragmentados, embebidos en una fase continua. Contiene los componentes moleculares lixiviados del almidón cuando es cocinado, y eventualmente el rompimiento total de los gránulos. Tal modelo es útil para la interpretación cualitativa del comportamiento de las pastas de almidón (Bello y Tovar, 2001; Núñez y col., 2004). La entrada de grandes cantidades de agua da lugar a que los gránulos se hinchen hasta alcanzar un tamaño varias veces superior al original. Si una suspensión de almidón al 5% se agita moderadamente y se calienta, los gránulos embeben agua hasta que la mayor parte es absorbida por ellos, forzándolos a hincharse, y a presionar unos contra otros hasta llenar el recipiente que los contiene en forma de una pasta altamente viscosa. Los gránulos así hinchados se rompen fácilmente, y son desintegrados por agitación, lo que resulta en una disminución de viscosidad. Conforme se van hinchando, las moléculas de amilosa hidratadas difunden a través de la pasta hasta la fase externa (agua), fenómeno que es responsable de algunos aspectos del comportamiento de la pasta (Fennema, 2000).

Entre los métodos de medición de textura imitativos para las pastas, se ha utilizado ampliamente el viscoamilógrafo Brabender, el cual comúnmente es usado en industrias de alimentos como una prueba de control de calidad para productos almidonosos, en este equipo se generan los perfiles de consistencia durante los procesos de calentamiento-cocción-enfriamiento, evaluando comparativamente y caracterizando la viscosidad de las pastas de almidón durante los procesos. Los datos mas importantes del amilograma son los que se muestran en la figura 6 (Hernández y col., 2004; Della, 2005). Otros equipos que también han sido utilizados para la medición de la viscosidad de las pastas de almidón son el Rapid Visco-Analyzer (RVA) y el viscosímetro rotacional (Singh y col., 2003).

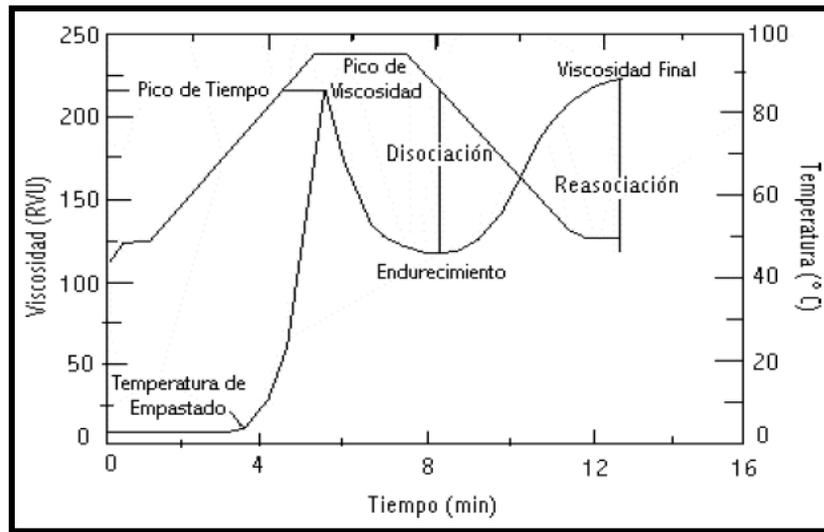


Figura 6. Representación esquemática de amilograma.

Fuente: (Della, 2005)

2.4 Caracterización fisicoquímica del almidón

El almidón es usado en la industria de alimentos, el cual imparte propiedades funcionales, y modifica la textura de alimentos y la consistencia. En años recientes, han realizado importantes esfuerzos para obtener almidones de fuentes no convencionales. Estos esfuerzos han sido hechos para encontrar almidones natales con las propiedades necesarias para la industria de alimentos (sinéresis, transparencia, estabilidad congelamiento/deshielo), sin la modificación química o genética. De este modo, el conocimiento sobre las características fisicoquímicas de diferentes almidones natales es muy importante para seleccionar el almidón más conveniente para un uso específico (Bello y col., 2006).

2.4.1 Calorimetría diferencial de barrido

La calorimetría diferencial de barrido (DSC), inicialmente se había desarrollado como una herramienta para entender las características y las transiciones térmicas en polímeros sintéticos. En los últimos 20 años, ha sido usada como el método estándar para la medición de propiedades térmicas de alimentos y biopolímeros (Yu y Christie, 2001; Sablani y col., 2007). El principio de esta técnica, es detectar los cambios de flujo de calor asociados con transiciones de primer orden (fusión) y de segundo orden (transición vítrea) de materiales poliméricos. Los resultados dan información valiosa del fenómeno orden-desorden de las moléculas (Bello y Tovar, 2001). Los parámetros más comunes son, la temperatura de transición (T_p), dada como la temperatura de pico, y la entalpía de la transición (ΔH), energía necesaria para llevarse a cabo las transiciones (Tabla 4) (Méndez, 2006).

Tabla 4. Calorimetría diferencial de barrido para almidones de diferentes fuentes botánicas. T_i , T_p y T_f son las temperaturas de inicio, pico y final; ΔH es la entalpía de gelatinización.

Fuente	T_i (° C)	T_p (° C)	T_f (° C)	ΔH (J/g)
Cebada normal	46.7	56.5	73.7	10.5
Cebada cerosa	43.7	57.6	77.0	12.1
Maíz normal	58.3	70.7	83.0	8.7
Maíz ceroso	60.8	72.4	85.3	14.5
Arroz ceroso	46.0	64.3	81.0	13.4
Trigo	52.0	59.0	65.0	10.0
Papa	58.0	71.0	94.0	22.2
Maíz	65.0	70.6	77.0	13.8
Arroz	70.0	76.3	82.0	13.0
Amaranto	67.7	72.6	78.1	13.4

Fuente: (Bello y Tovar, 2001)

En un experimento de DSC, se registra de forma continua la capacidad calorífica aparente de una disolución o de cualquier macromolécula en función de la temperatura, obteniéndose lo que comúnmente se denomina *termograma* (Figura 7). Éste generalmente, está caracterizado por un pico de absorción de calor correspondiente a un proceso o transición térmicamente inducida, por lo que, de acuerdo con el segundo principio de la termodinámica (supuesto el proceso de equilibrio), corresponde a un proceso endotérmico (Conejero y col., 2000).

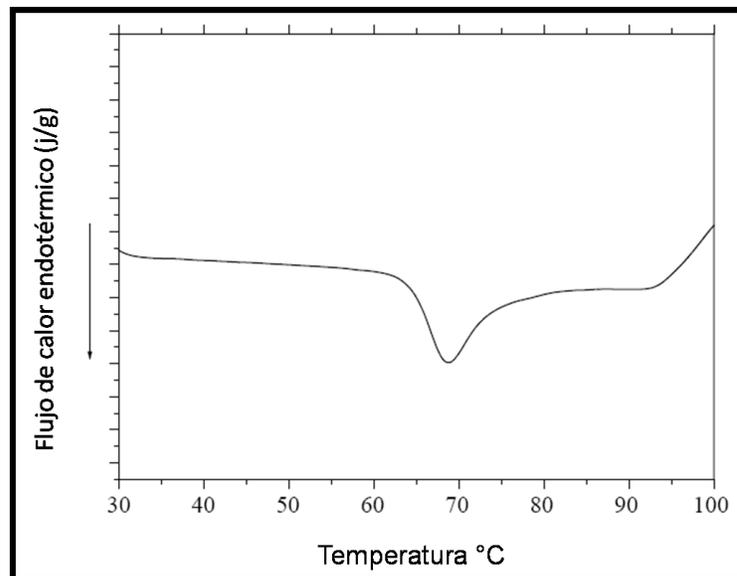


Figura 7. Típico termograma de calorimetría diferencial de barrido.

Fuente: (Singh y col., 2006)

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 al igual que las modificaciones térmicas por los tratamientos combinados de calor y humedad (Sandoval y col., 2005).

2.4.2 Reología

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 término reología fue inventado por el profesor Bingham Lafayette. La reología se define como la ciencia que estudia la relación entre el esfuerzo y la deformación a través de las relaciones matemáticas constitutivas reológicas de estado (Núñez y col., 2001).

Algunos parámetros reológicos importantes son: esfuerzo de corte o cizalla (τ), velocidad de corte o cizalla ($\dot{\gamma}$), viscosidad (η), viscosidad aparente, elasticidad o deformación elástica y viscoelasticidad (Méndez, 2006).

El conocimiento de las propiedades reológicas de las suspensiones de almidón y geles, no solo proporcionan información tecnológica, sino también económica y comercial. Este tipo de estudio 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).

Unas de las muchas aplicaciones de la reología a nivel industrial son el procesamiento de polímeros, tiempo de inyección de polímeros térmicamente inestables, grado de dispersión en suspensiones y compuestos, optimización de parámetros calor y cizalla para procesado de polímeros, diseño de bombas/tuberías para líquidos no-newtonianos, control de propiedades de textura, diseño de boquillas para polímeros, grado de caída de un adhesivo, entre otros (Steinbrüggen, 2006).

Existen métodos de medición de textura imitativos (farinográfico y viscoamilográfico) y métodos reológicos fundamentales (viscosimétricos y viscoelásticos dinámicos) (Méndez, 2006).

Método viscosimétrico

La viscosidad es medida en función de la reología fundamental marcando el comportamiento reológico del fluido (Della, 2005).

Existen diferentes métodos prácticos para determinar la viscosidad; entre ellos se encuentran los viscosímetros rotacionales coaxiales, los cuales son los más utilizados en la caracterización de las propiedades reológicas de almidones y pueden tomar varias formas; éstas son normalmente descritas en términos de sus sistemas de medición, por medio de las cuales se realiza el análisis de las curvas que presenta el flujo (Della, 2005).

Los fluidos presentan dos tipos diferentes de comportamientos reológicos en función de la cizalla: newtonianos y no-newtonianos.

En el primero la viscosidad es constante independientemente del esfuerzo de corte al cual se somete el fluido y en el segundo la viscosidad depende del esfuerzo de corte aplicado.

El diagrama que representa el esfuerzo de corte o cizalla en función de la velocidad de deformación se llama curva de flujo o reograma. En el caso de los fluidos newtonianos es una línea recta que pasa por el origen y cuya pendiente es igual a la viscosidad (a temperatura y pendiente fija) (Figura 8). Existen numerosos materiales, frecuentemente empleados en la industria alimentaria, en los que esta relación tan simple no se cumple. A estos se les denomina fluidos no-newtonianos, aun a temperatura y presión fijas, son aquellos que presenta una curva de flujo no lineal, que inclusive puede no pasar por el origen (Núñez y col., 2001).

Los fluidos no-newtonianos pueden ser clasificados en tres categorías: fluidos dependientes del tiempo, reopécticos y tixotrópicos, fluidos independientes del tiempo, reofluidizantes (pseudoplásticos) y reoespesantes (dilatantes) y fluidos viscoelásticos (Núñez y col., 2001).

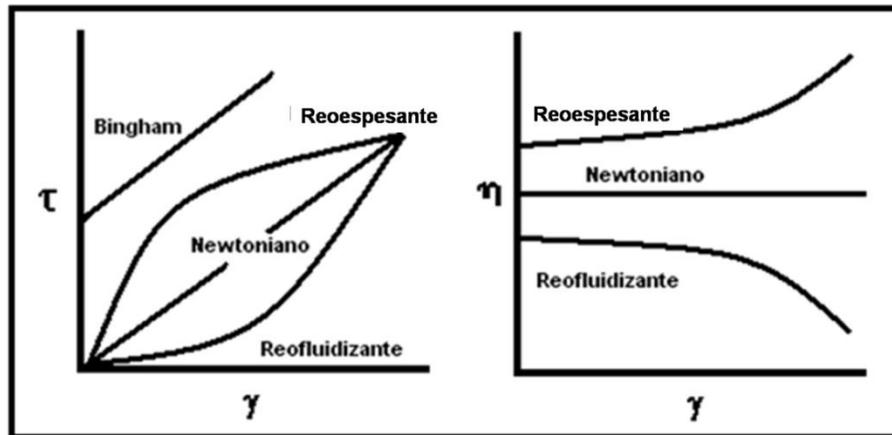


Figura 8. Gráficas de fluido newtoniano y no-newtoniano.

Fuente: (Núñez y col., 2001)

Los fluidos reofluidizantes son menos espesos cuando se someten a altas velocidades de deformación que cuando se cizallan lentamente.

Los fluidos reoespesantes son un fenómeno de espesamiento independiente del tiempo que se da a altas velocidades de deformación, se trata del fenómeno opuesto al reofluidizante.

Por la gran aplicación que tienen los fluidos no-newtonianos a nivel industrial es de gran importancia el estudio y la caracterización de sus propiedades reológicas. Los fluidos pueden ser caracterizados siguiendo la ecuación reológica conocida como la Ley de la Potencia o de Ostwald de Waale. Este método es utilizado para los fluidos newtonianos y no-newtonianos de tipo reofluidizante y reoespesante (Della, 2005).

En los sistemas reoespesantes y reofluidizantes, la relación $\tau - \gamma$ no viene expresada por una línea recta, sino que es única. A cada valor de τ le corresponde un solo valor de γ . Por esta razón, la gráfica se puede describir a

veces matemáticamente empleando la dependencia de η con respecto a $\dot{\gamma}$, de acuerdo a la siguiente fórmula de Núñez y col. (2001):

$$\tau = k\dot{\gamma}^n$$

Donde k y n son constantes; k ha sido denominada índice de consistencia y n índice de comportamiento de flujo. Este último constituye una medida del grado de desviación del comportamiento newtoniano. Si $n = 1$, el producto es newtoniano y k el coeficiente de viscosidad; si $n > 1$, se produce un espesamiento y el producto es reoespesante; si $n < 1$, se produce un aclaramiento y el material es reofluidizante (Figura 9) (Núñez y col., 2001).

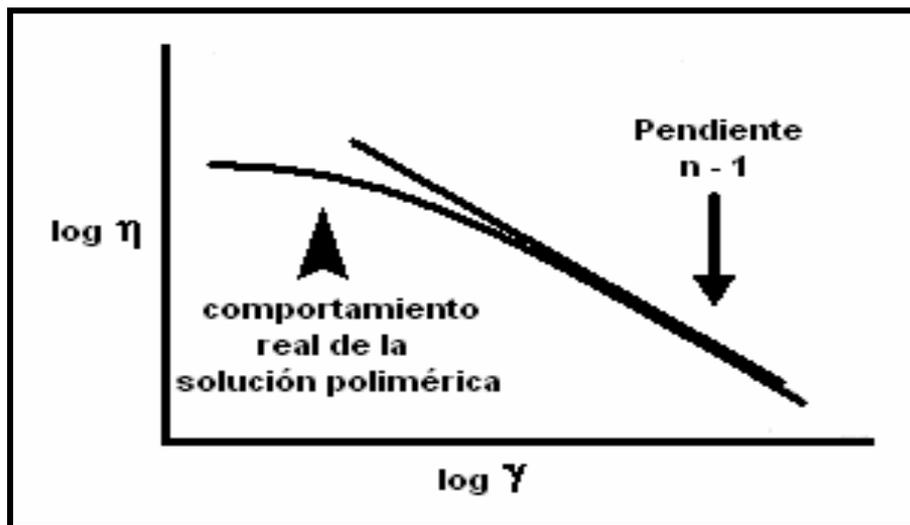


Figura 9. Representación de la Ley de la Potencia o de Ostwald-De Waele.

Fuente: (Núñez y col., 2001)

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Aislar almidón de cebada (*Hordeum vulgare*) por medios físicos así como su caracterización morfológica y fisicoquímica.

3.2 Objetivos Específicos

- Recolectar, seleccionar y preparar las muestras (cebada perlada y cebada con cáscara).
- Aislar los almidones de los granos de cebada mediante molienda húmeda.
- Evaluar la composición química de los almidones aislados.
- Determinar la morfología de los gránulos de almidón mediante microscopía electrónica de barrido y microscopía de luz polarizada.
- Determinar la temperatura de gelatinización de los almidones aislados mediante análisis calorimétrico diferencial.
- Evaluar la viscosidad de los almidones aislados mediante el uso de un reómetro de placas paralelas en los almidones.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materia prima

La cebada (*Hordeum vulgare*) que se utilizó para el aislamiento del almidón fue “Esmeralda Zapotlán” (EZ), cultivada en el año 2005 en la región de Zapotlán de Juárez, Hgo.

Como control se utilizó almidón de maíz comercial marca Sigma, proporcionado por el Departamento de Desarrollo Tecnológico del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CeProBi-IPN), adquirido en la empresa Arancia.

4.2 Selección y preparación de las muestras

El grano de cebada se limpió en un agitador de tamices (marca W. S. Tyler modelo 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.

Una vez limpia, la muestra se dividió en dos lotes: con cáscara y sin cáscara (perlada). Para el perlado la muestra se preparó de la siguiente manera:

El grano se acondicionó a una humedad del 17% con un reposo de 24 horas. La fórmula que se utilizó para acondicionar el grano a una humedad del 17% en 100 g de materia seca fue:

cantidad de agua (mL)

$$= \frac{\% \text{ Humedad requerida} \times g \text{ materia seca}}{\% \text{ Diferencia de humedad}} - \% \text{ Humedad inicial}$$

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

4.3 Métodos

Los análisis realizados, se hicieron por triplicado para cada una de las muestras.

4.3.1 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 horas en una solución reguladora de acetato de sodio 0.02 M con sales de cloruro de mercurio 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 Man, modelo 610, 3 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 una tamizadora (marca Testing Equipment, modelo RNU) 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 horas a temperatura ambiente. Posteriormente la suspensión se centrifugó a 3500 rpm por 15 min. a 4 °C en una centrifuga (marca Hermle modelo Z 400K), 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.

El rendimiento del almidón aislado se determinó utilizando la fórmula de Ji y col. (2004).

4.3.2 Composición química del almidón

Análisis proximal

- 1) El contenido de humedad se determinó utilizando el método 925.10 de la AOAC (1990). Se pesaron 3 g de muestra, se colocaron en charolas de aluminio se metieron a secar en una estufa con recirculación de aire a una temperatura de $130 \text{ °C} \pm 3 \text{ °C}$ por 1 hora.
- 2) El contenido de cenizas se determinó utilizando el método 923.03 de la AOAC (1990). Se incineraron 3 g de muestra, en una mufla a una temperatura de $550 \text{ °C} \pm 3 \text{ °C}$ hasta la obtención de un residuo inorgánico.
- 3) El contenido de lípidos se determinó utilizando el método 920.39 de la AOAC (1990). Se pesaron 5 g de muestra seca, se utilizó un sistema de extracción Soxhlet empleando éter etílico anhidro como solvente.
- 4) El contenido de proteína se determinó utilizando el método 46.10 de la AACC (2001). Se pesaron 0.2 g de muestra, para la determinación de nitrógeno total se utilizó el método de Dumas, con un factor de conversión de 5.85.

Almidón total

Para determinar la pureza del almidón aislado se cuantificó el contenido de almidón total (AT) utilizando el método enzimático de Goñi y col. (1997), el cual se fundamenta en cuantificar la glucosa liberada como resultado de la hidrólisis enzimática con amiloglucosidasa, que hidroliza los enlaces α -1,4 y α -1,6 de las cadenas de amilosa y amilopectina. Se pesaron 50 mg de muestra de almidón en base seca en tubos de centrifuga (capacidad 50 mL), a cada tubo se le añadieron 3 mL de agua destilada y 3 mL de KOH 4 M (preparado el mismo día), se dejaron en agitación constante durante 30 min., a temperatura ambiente. Posteriormente se añadieron 5.5 mL de HCl 2 M y 3 mL de regulador acetato sódico 0.4 M ajustando el pH a 4.75, se agregaron 60 μ L de amiloglucosidasa (Roche) y se incubaron en un baño de agua a 60 °C con agitación constante durante 45 min. Después se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min., se recuperó el sobrenadante en un matraz aforado de 50 mL. Los matraces se aforaron y se tomaron alícuotas de 50 μ L de muestra, las cuales se colocaron en tubos que contenían 1 mL del reactivo Glucosa Oxidasa/Peroxidasa (GOD-POD).

Se midió la concentración de glucosa con el reactivo Glucosa Oxidasa/Peroxidasa utilizando la siguiente curva estándar:

Reactivo (mL)	Agua (μ L)	Glucosa (μ L)
1	50	0
1	40	10
1	25	25
1	0	50

Finalmente se incubaron en un baño de agua a 37 °C durante 10 min. y se leyeron en un espectrofotómetro (marca Genesys modelo UV) a una absorbancia de 510 nm.

El porcentaje de almidón total se determinó utilizando las siguientes fórmulas:

$$\mu g \frac{\text{glucosa}}{\text{mL}} = \frac{\text{abs muestra}}{\text{abs patrón}}$$

$$\% AT = \frac{\left(\mu g \text{ de } \frac{\text{glucosa}}{\text{mL}} \right) \times \text{Volumen} \times 0.9 \times 100}{\mu \text{ de muestra}}$$

Amilosa aparente

El contenido de amilosa aparente se determinó utilizando el método empleado por Hoover y Ratnayake (2002). Se disolvieron 50 mg de muestra de almidón en base seca en 8 mL de dimetilsulfoxido (DMSO) al 90% (preparado un día antes), se agitó vigorosamente por 20 min., y posteriormente se calentó a 85 °C durante 15 min. Se dejó enfriar y se aforó a un volumen de 25 mL. Se transfirió 1 mL de esta solución a un matraz aforado de 50 mL, se agregaron 40 mL de agua destilada y 5 mL de una solución de I₂/KI, se aforó y se dejó reposar por 15 min. a 18-22 °C antes de leer la absorbancia a 600 nm en un espectrofotómetro (marca Genesys modelo UV). Para la realización de la curva estándar, se disolvieron 10 mg de amilosa en DMSO al 90% y se aforó a 10 mL. Se disolvieron 10 mg de amilopectina en agua tibia y se aforó a 10 mL. Las soluciones fueron utilizadas de la siguiente manera:

% amilosa	Amilosa (mL)	Amilopectina (mL)
0	0	1
20	0.2	0.8
40	0.4	0.6
60	0.6	0.4
80	0.8	0.2
100	1	0

La cuantificación de amilosa se realizó por interpolación en la curva tipo elaborada y se reportó en porcentaje.

4.3.3 Caracterización morfológica del almidón

Microscopía electrónica de barrido

Las muestras de almidón fueron secadas en una estufa a una temperatura de $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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.

Microscopía de 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.

4.3.4 Caracterización fisicoquímica del almidón

4.3.4.1 Análisis térmico

Las propiedades térmicas de los almidones fueron estudiadas usando un calorímetro diferencial de barrido (DSC, marca TA Instruments, modelo 2010) previamente calibrado con Indio.

Gelatinización

La temperatura de gelatinización de los almidones se evaluó por el método propuesto por Paredes y col. (1994). Se pesaron 2.1 mg de muestra de almidón en base seca dentro de una charola de aluminio. Posteriormente se adicionaron 7 μ L de agua desionizada. La charola fue sellada herméticamente y se dejó equilibrar por espacio de unos 30 minutos antes de realizar el análisis. Como referencia se utilizó una charola de aluminio vacía. Transcurrido el tiempo de humectación ($\frac{1}{2}$ hora) 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 (Ti), temperatura de gelatinización o de pico (Tp), temperatura final (Tf) y la entalpía (ΔH) fueron obtenidas a partir de los termogramas directamente del análisis del software TA Instruments OS/2 versión 2.1.

4.3.4.2 Análisis reológico

Evaluación de las curvas de flujo

El comportamiento viscosimétrico de las muestras de almidón se determinó preparando dispersiones con los almidones al 7.5% (p/v) de sólidos totales en base seca, se analizaron en un reómetro (marca TA Instruments, modelo AR 1000-N), con un sistema de placas paralelas, de 60 mm de diámetro (siendo la placa superior de acrílico y estriada) con un espesor de muestra de 1000 μ m, las placas paralelas se cubrieron con un aceite mineral (vaselina líquida) para evitar la evaporación del agua durante la prueba. Se realizaron las mediciones a 25 °C (después de un calentamiento de 25 °C hasta 90 °C y posteriormente enfriado a 25 °C empleando una velocidad de calentamiento-enfriamiento de 2.5 °C/min.). Se realizaron mediciones de dos ciclos: ascendente y descendente de 0.03 a 100 s⁻¹, y un tercer barrido descendente de 100 a 0.03 s⁻¹.

Evaluación de la viscosidad

Para determinar el perfil de viscosidad de las muestras de almidón se prepararon dispersiones con los almidones al 7.5% (p/v) de sólidos totales en base seca, se analizaron en un reómetro (marca TA Instruments, modelo AR 1000-N), con un sistema de placas paralelas, de 60 mm de diámetro (siendo la placa superior de acrílico y estriada) con un espesor de muestra de 1000 μm , las placas paralelas se cubrieron con un aceite mineral (vaselina líquida) para evitar la evaporación del agua durante la prueba. Se programó el equipo con un ciclo de calentamiento-cocción-enfriamiento, de 25 °C hasta 90 °C, se mantuvo a esa temperatura por 10 min., posteriormente se enfrió a 25 °C manteniéndose a esa temperatura por 10 min. Se empleó una velocidad de calentamiento-enfriamiento durante el ciclo de 2.5 °C/min y una velocidad de corte de 100 s^{-1} .

4.3.5 Análisis estadístico

Para determinar las diferencias estadísticas en la composición química y propiedades térmicas se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, donde las variables fueron cada una de las muestras, con un nivel de significancia de 5 % ($\alpha = 0.05$) por medio de un software Statistica versión 6.0.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Rendimiento de la selección y preparación de las muestras

El rendimiento que se obtuvo de la muestra fue a partir de 1 Kg de grano de cebada a las condiciones mencionadas en materiales y métodos.

El rendimiento del grano de cebada limpia fue de 91.21%. Esto significa que la muestra tenía un 8.79% de impurezas, principalmente restos vegetales y florales. Esto indica que no se tuvo un especial cuidado durante la recolección de los granos lo cual, se ve reflejado en el porcentaje de rendimiento y en su precio de comercialización. De acuerdo a la NMX-FF-043-SCFI-2003 para la comercialización de la cebada, esta debe contener como máximo un 2% de impurezas. Indicando con esto que la variedad en estudio no se encuentra dentro del límite establecido. Por lo tanto, el grano es utilizado como forraje para el ganado, sin embargo se están buscando otras alternativas para el uso de este cereal y una de ellas puede ser el aislamiento de almidón.

El rendimiento de cebada perlada fue de 79.45%, el porcentaje expresado es con respecto al 100% de la cebada limpia. Esto indica el acondicionamiento del grano a un 17% de humedad ayudó a que el pericarpio se hiciera más frágil, y por lo tanto se pudiera separar más fácil del grano lo cual, mejoró el rendimiento de la cebada. Además evitó que ocurrieran daños mecánicos que pudieran alterar el rendimiento de procedimientos posteriores (Acosta, 2007).

Márquez (2007) en el rendimiento de molienda de seis variedades de cebada reportó, que la variedad Esmeralda Zapotlán 2005 obtuvo el mayor rendimiento de cebada perlada ($\approx 79\%$) con respecto a las variedades restantes. Por las características de esta variedad de cebada, es conveniente usarla como una alternativa de materia prima para diferentes procedimientos.

5.2 Composición química del grano de cebada

Los valores del análisis proximal se muestran en la tabla 5. Estos resultados fueron presentados por Acosta (2007). La composición química se presenta con la finalidad de conocer la proporción de los constituyentes del grano el cual, fue utilizado como materia prima en este trabajo. Estos valores serán utilizados como referencia de comparación para el rendimiento del almidón aislado.

Tabla 5. Composición química del grano de cebada expresada en % en base seca.

Variedad	Humedad*	Cenizas	Lípidos	Proteína	Fibra	CHO's
EZ	9.59± 0.01	2.88± 0.21	1.48± 0.01	10.62± 0.06	2.55± 0.00	86.75± 0.02

* Base húmeda

± Desviación estándar

Fuente: (Acosta, 2007)

Rendimiento del almidón aislado

Para el aislamiento de almidón de cebada a nivel laboratorio se utilizaron 2.5 Kg de grano, para cada muestra. El rendimiento de almidón aislado a partir de cebada perlada fue únicamente del 38.51% de la materia seca. En tanto que el de cebada con cáscara fue de 25.91%. Indicando con esto que la cebada perlada es una buena fuente de materia prima para el aislamiento de almidón. Esto debido a la preparación previa de la muestra mediante el acondicionamiento y descascarillado. Mientras que, la cebada con cáscara al ser triturada durante la molienda húmeda perdió parte del endospermo al quedar adherido con el pericarpio. Estos valores son ligeramente similares al resultado de 34% reportado por Andersson y col. (2001). Sin embargo son menores al valor de 45% reportado por Ji y col. (2004) para el aislamiento de almidón de maíz y al valor de 42.2% reportado por Verwimp y col. (2004) para

el aislamiento de almidón de centeno. Esto indica que los valores son menos de la mitad del almidón presente en el endospermo el cual, presenta un valor arriba del 65% de acuerdo a los reportes de MacGregor y Bhatti (1996). Existen otros componentes que acompañan a este polvo blanco, principalmente son proteína y lípidos.

5.3 Composición química del almidón

En la tabla 6 se presenta la composición química de los almidones de maíz comercial, cebada perlada y cebada con cáscara. Los almidones de cebada perlada y cebada con cáscara no presentaron diferencias significativas en su composición química, pero comparados con el almidón de maíz comercial, si presentaron diferencias significativas. Esto demuestra que la fuente de obtención de almidón fue un factor importante.

Tabla 6. Composición química de los almidones expresada en % en base seca.

Almidón	Humedad	Cenizas	Lípidos	Proteína	Almidón total	Amilosa aparente
Maíz (control)	5.51± 0.07 ^a	0.09± 0.01 ^a	13.93± 0.06 ^a	1.00± 0.05 ^a	85*	33.4± 1.85 ^a
Cebada perlada	7.56± 0.32 ^b	0.41± 0.03 ^b	0.88± 0.31 ^b	0.86± 0.12 ^a	97.87± 3.28 ^b	27.26± 2.38 ^b
Cebada con cáscara	10.97± 0.12 ^c	0.39± 0.01 ^b	1.70± 0.30 ^c	0.90± 0.02 ^a	97.03± 3.02 ^b	28.42± 3.90 ^c

Valores con las mismas letras dentro de cada columna no son diferentes significativamente ($\alpha = 0.05$)

* Resultado proporcionado por el proveedor

± Error estándar

En cuanto al contenido de humedad, las tres muestras presentaron diferencias significativas. Esto indica que la mayor cantidad de agua esta ligada y por tanto, no disponible. El resultado de cebada perlada es menor a los valores de 7.8-14% para almidón de cebada perlada según Waduge y col. (2006). En el caso del maíz el resultado es menor al valor de 13% reportado por (Della, 2005) para almidones de diferentes fuentes botánicas. Estos resultados están asociados al procedimiento de aislamiento de almidón. Sin embargo, un alto contenido de humedad favorece al desarrollo de hongos, lo cual provoca la pérdida de la muestra para los análisis posteriores.

El contenido de cenizas en el almidón de maíz comercial presentó diferencias significativas con respecto a los almidones de cebada. El resultado de la cebada perlada indica que el descascarillado no fue tan eficiente, ya que presentó un valor mayor que la cebada con cáscara. Indicando con esto que a mayor porcentaje de cenizas, mayor serán los restos de cascarilla. Los valores de este estudio son mayores al rango de valores de 0.11 y 0.20% reportados por Vasanthan y col. (1997), Czuchajowska y col. (1998) para almidón de cebada. Vasanthan y col. (1997), Li y col. (2001) reportaron 0.07% para almidón de maíz. Otros autores reportan diferentes contenidos de cenizas de almidones como es el caso del trigo con un valor de 0.21% (Verwimp y col., 2004). Los niveles de cenizas son importantes para las propiedades funcionales de los almidones, como se ha reportado en el caso del almidón de papa, donde los geles que se obtienen tienen mayor claridad, debido al contenido de grupos fosfatos (Millán, 2004).

Con respecto al contenido de lípidos, el almidón de maíz comercial presentó diferencias significativas con respecto al almidón de cebada perlada y cebada con cáscara. Esto indica una pequeña cantidad de lípidos presentes en el almidón. Principalmente lípidos de superficie y lípidos internos (monoacil y ácidos grasos libres), los cuales presentan inclusión con la amilosa. Los lípidos internos difícilmente son extraídos ya que usualmente requieren alcohol calentado que daña la estructura del gránulo de almidón (Kaukovirta y col.,

1997). Los valores son mayores a los resultados de Vasanthan y col. (1997) quienes reportan 0.55% para almidón de cebada y 0.63% para almidón de maíz. Diversos contenidos de lípidos han sido encontrados para otros cereales de acuerdo a los reportes de Della (2005). Verwimp y col. (2004) reportaron un valor de 0.24% para almidón de centeno. Con el procedimiento de aislamiento del almidón utilizado no fue posible obtener un almidón puro. Es importante la pureza de almidón debido a que se puede tener una idea de las posibles interacciones del almidón con otros componentes (como lípidos) y con ello poder determinar su papel en las propiedades fisicoquímicas (Méndez, 2006).

La cantidad de proteína en el almidón de maíz comercial fue menor que en las muestras de almidón de cebada, estas diferencias se observaron en el análisis estadístico. Los resultados son atribuidos principalmente a la presencia de hordeína y glutelinas las cuales, se encuentran en mayor porcentaje dentro del endospermo del grano de cebada (MacGregor y Bhatti, 1996, López, 2005). Czuchajowska (1998) reportó un valor de proteína en el almidón de cebada del 0.56%. Posteriormente, Li y col. (2001) reportaron un valor de proteína de cebada perlada de 0.36% y un valor de proteína de maíz de 0.33%. Por lo tanto, estos valores son menores a los presentados en este estudio. Lo cual indica que con el procedimiento de aislamiento del almidón utilizado no fue posible obtener un almidón puro.

En el contenido de almidón total las muestras de cebada perlada y con cáscara no presentaron diferencias significativas entre sí. Esto indica que el procedimiento utilizado permitió obtener un alto contenido de pureza, sin embargo se presentó una pequeña cantidad de proteína y lípidos. Los valores son similares a los de Czuchajowska y col. (1998), Andersson y col. (2001) quienes reportan $\approx 97\%$ de pureza de almidón; Li y col. (2001) también reportaron un alto contenido de almidón total con un 96.67% para cebada perlada. El valor de la muestra de maíz comercial fue de 85%. Este resultado es menor a los valores de 92.5% y 98.21% reportados por Vasanthan y col. (1997),

Li y col. (2001) respectivamente. La baja pureza del almidón de maíz se debe, a la ineficiencia del procedimiento utilizado para el aislamiento del almidón.

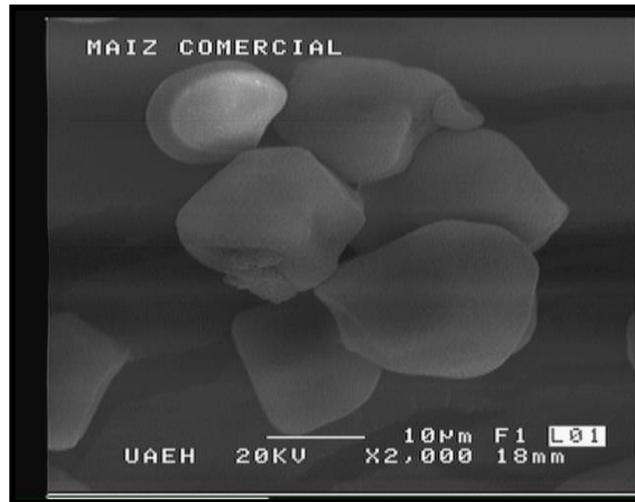
El contenido de amilosa aparente obtenido para los almidones de maíz comercial fue 33.40%, para cebada perlada fue de 27.26% y para cebada con cáscara fue de 28.42%. Esto indica que los almidones se consideran como normales, ya que los resultados se encuentran dentro del intervalo de proporción descrita (20-30%) por Bernal y Martínez (2006) para almidones con un contenido normal de amilosa. Indicando con esto, que la cantidad de amilosa presente será capaz de la formación del complejo amilosa-lípidos, el cual ocurre durante los tratamientos térmicos, especialmente durante la gelatinización de los almidones. El acomplejamiento de la amilosa produce una estructura helicoidal. En este tipo de complejos los grupos hidrofílicos están orientados hacia el exterior y los hidrofóbicos hacia el interior de la cavidad (Bello y Tovar, 2001). El resultado de maíz comercial es mayor al rango de valores de 22.4-32.5% reportado por Singh y col. (2003), Kuakpetoon y Wang (2007). Yoshimoto y col. (2002) reportaron contenidos de amilosa aparente de 25.4%, Vasanthan y col. (1997) del 32.3% y Li y col. (2001) del 22.5% para almidones de cebada. Recientemente, Ao y Jane (2007) reportaron valores de amilosa aparente de 32% y 29.5% para almidones de trigo y triticale, respectivamente.

5.4 Caracterización morfológica del almidón

Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido mostró un panorama más amplio de la superficie del gránulo del almidón así como su morfología y tamaño del mismo. Estas características difieren substancialmente entre las fuentes botánicas. En las figuras 10, 11 y 12 se muestran las micrográficas de los almidones de maíz comercial, cebada perlada y cebada con cáscara, respectivamente a amplitudes de 2000x y 1000x.

a)



b)

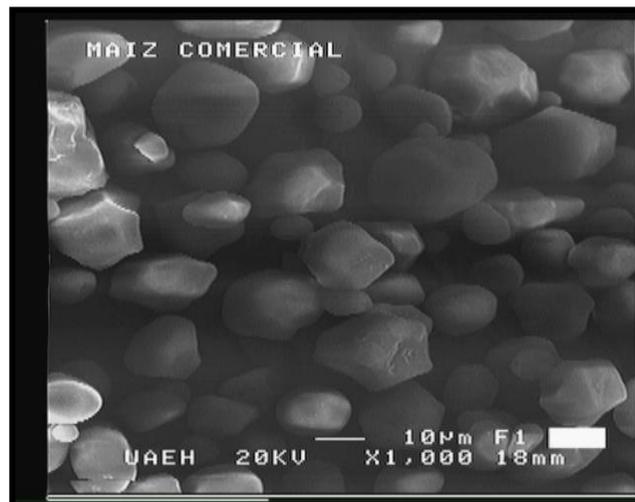


Figura 10. Micrografías de almidón de maíz comercial a) 2000x y b) 1000x amplitudes.

a)



b)

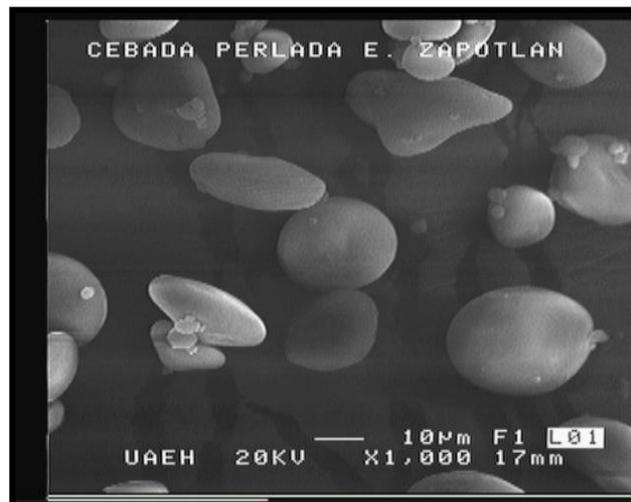
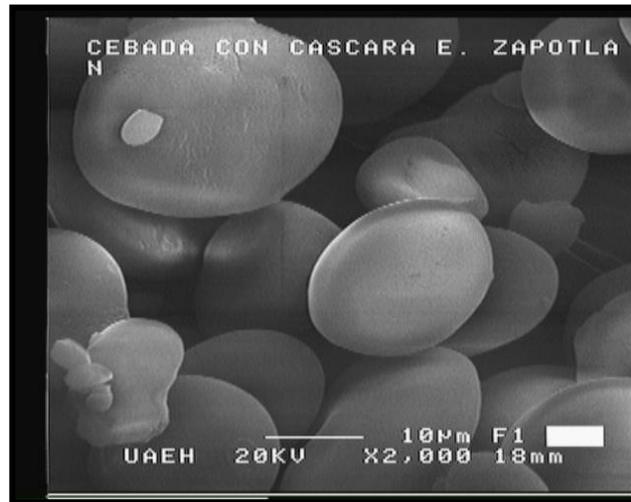


Figura 11. Micrografías de almidón de cebada perlada a) 2000x y b) 1000x amplitudes.

a)



b)

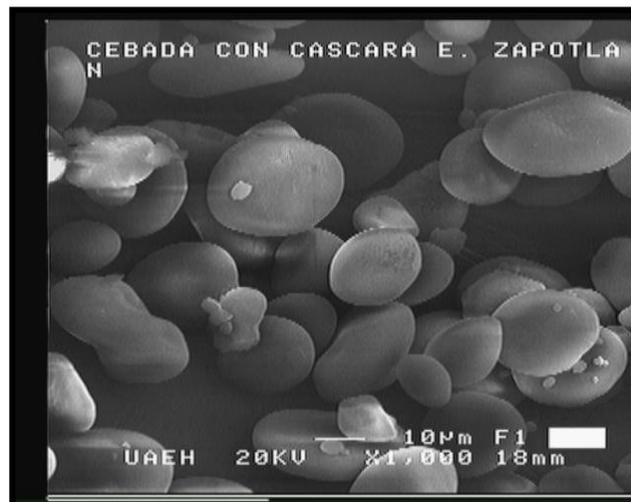


Figura 12. Micrografías de almidón de cebada con cáscara a) 2000x y b) 1000x amplitudes.

El almidón de maíz comercial presentó una forma poliédrica, de un tamaño de 10 μm . Este valor es similar al rango de valores de 7-10 μm reportado por Singh y col. (2003), Li y col. (2001) para almidones de cebada. Singh y Singh (2003), Millán (2004) reportaron las mismas características para el almidón de arroz (forma poliédrica, tamaño de 3 a 10 μm). Los almidones de cebada perlada y cebada con cáscara presentaron sus gránulos de forma lenticular y esférica, de un tamaño de 10 μm , es decir, se presentó un tamaño bimodal de gránulos pequeños, tal como lo han reportado Stevnebø y col. (2006), Song y Jane (2000), Oscarsson y col. (1997), McDonald y col. (1991). Svihus y col. (2005). Ao y Jane (2007) reportaron que los gránulos de almidón de centeno, trigo, triticale y cebada mostraron un tamaño bimodal. Li y col. (2001), Singh y col. (2003), Waduge y col. (2006) reportaron para los gránulos de almidón de cebada perlada gránulos de forma grande lenticular y pequeña irregular.

Guzmán (2005) reportó usando MEB para la microestructura del grano de cebada, que los gránulos de almidón presentaron formas lenticulares y esféricas de varios tamaños, y observó algunas áreas de proteína adheridas a la superficie del gránulo.

Castillo (2005) utilizando la misma microscopía, para harinas de diferentes variedades de los estados de Hidalgo y Tlaxcala, reportó formas de gránulos lenticulares y esféricos, de tamaños pequeños y grandes. En algunas variedades observó la presencia de aglomerados de proteína.

Las características según la literatura consultada, son similares a las obtenidas en este estudio. Indicando con esto, que la morfología de los almidones no presentó alteraciones estructurales. Por lo tanto pueden ser usados según las necesidades específicas. Las presentes diferencias morfológicas de los almidones estudiados son atribuidas al origen biológico, a la bioquímica del amiloplasto y a la fisiología de la planta (Sandhu y col., 2004).

Cuando se observaron los gránulos de almidón bajo la microscopía electrónica de barrido, la superficie del gránulo de maíz y de los gránulos de cebada presentó una apariencia suave. Indicando con esto que los gránulos de los almidones, no presentaron poros, surcos ni fracturas o grietas. Singh y col. (2003) reportó usando MEB que la superficie de los gránulos de almidón de maíz, arroz y trigo parecía ser menos suave que los gránulos de almidón de papa. Sandhu y col. (2004) han observado la presencia de poros en la superficie de los gránulos de almidón de maíz, sorgo y mijo. Por lo tanto, los gránulos de almidón del presente estudio indican que el método utilizado para el aislamiento del almidón no dañó los gránulos de los almidones.

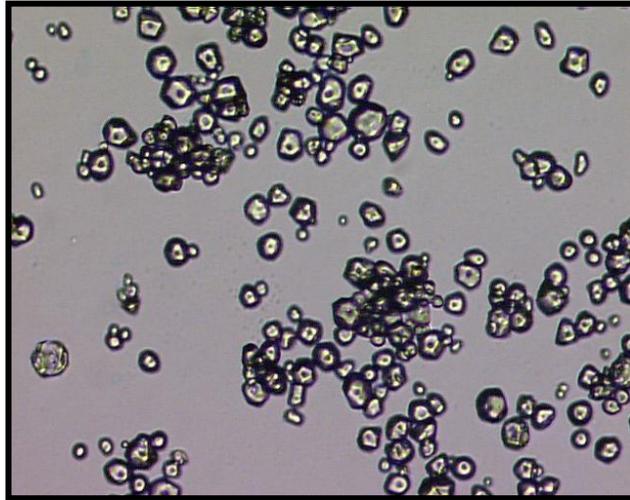
Microscopía de luz polarizada

La microscopía de luz normal mostró la forma del gránulo y si se desea, también se puede utilizar esta técnica para determinar su tamaño. En las figuras 13a, 14a y 15a, se muestran las micrografías de luz normal para los almidones de maíz comercial, cebada perlada y cebada con cáscara, respectivamente.

El almidón de maíz comercial bajo luz normal fue quien presentó bien definido el hilio. En los almidones de cebada este punto no se apreció de manera clara. Esto indica el origen a partir del cual ocurre el crecimiento del gránulo. Visser y Jacobsen (1993) reportó características similares para almidón de papa, mandioca y maíz.

La microscopía de luz polarizada para almidón de maíz comercial, cebada perlada y cebada con cáscara se muestra en las figuras 13b, 14b y 15b, respectivamente.

a)



b)

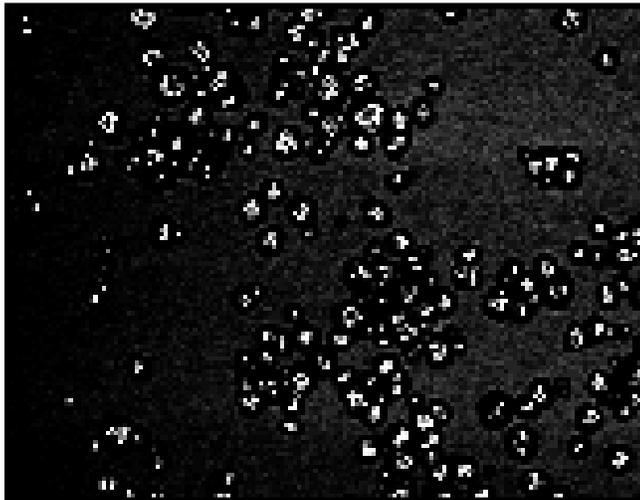


Figura 13. Micrografías de almidón de maíz normal comercial a) luz normal b) luz polarizada.

a)



b)

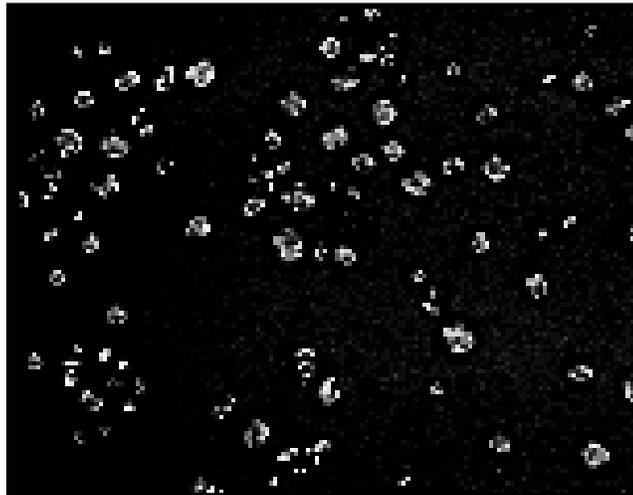
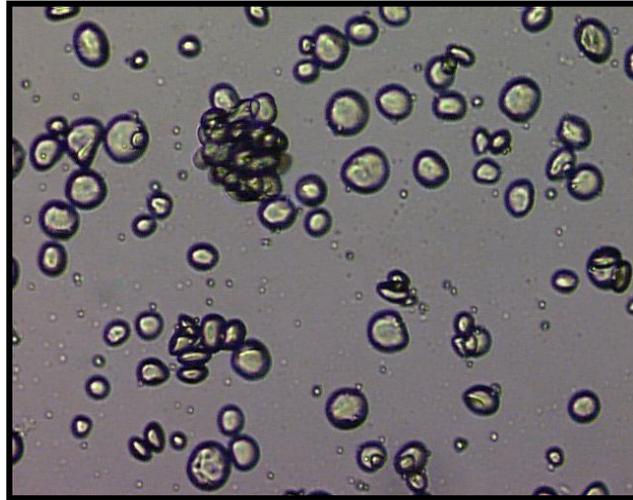


Figura 14. Micrografías de almidón de cebada perlada a) luz normal b) luz polarizada.

a)



b)

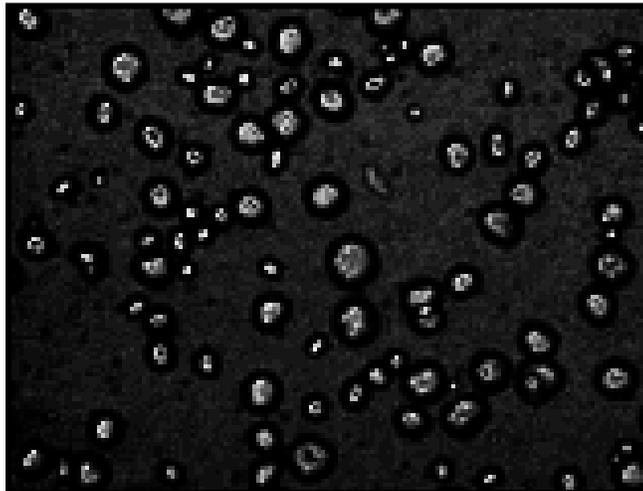


Figura 15. Micrografías de almidón de cebada con cáscara a) luz normal b) luz polarizada.

Los tres almidones estudiados presentaron birrefringencia al ser observados bajo la luz polarizada, mediante la formación de una cruz de malta en el centro del gránulo del almidón, es decir, en el hilio. Este fenómeno indica el grado de orientación molecular dentro del gránulo sin hacer referencia a alguna forma cristalina. En el caso del almidón de maíz las características son similares a las reportadas por Méndez (2006). Millán y col. (2005) observaron bajo luz polarizada el fenómeno de birrefringencia para almidón de okenia, mango y banana. Con los resultados obtenidos se concluye que este fenómeno reafirmó que el método utilizado para el aislamiento del almidón no ocasionó ningún daño en los gránulos de los almidones.

5.5 Caracterización fisicoquímica del almidón

5.5.1 Análisis térmico

Gelatinización

Las propiedades térmicas (gelatinización) del almidón de maíz comercial y de los almidones de cebada, fueron medidas por calorimetría diferencial de barrido. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Propiedades térmicas de los almidones. T_i , T_p y T_f son las temperaturas de inicio, pico y final en °C; ΔH es la entalpía de gelatinización en J/g.

Almidón	T_i	T_p	T_f	(ΔH)
Maíz (control)	64.84±0.12 ^a	69.18±0.13 ^a	75.89±0.37 ^a	8.89±0.07 ^a
Cebada perlada	58.51±0.23 ^b	61.62±0.24 ^b	67.54±0.53 ^b	8.16±0.12 ^b
Cebada con cáscara	58.16±0.09 ^b	61.08±0.11 ^b	66.40±0.49 ^b	7.27±0.15 ^c

Valores con las mismas letras dentro de cada columna no son diferentes significativamente ($\alpha = 0.05$)

± Error estándar

La temperatura inicial y final de los almidones de cebada es similar al rango de valores de temperatura inicial 46.7-59.02 °C y temperatura final de 70.0-88.0 °C reportado por Yoshimoto y col. (2000), Yoshimoto y col. (2002), Bello y Tovar (2001). El almidón de maíz comercial presentó resultados similares a los valores de temperatura inicial de 58.3-72.2 °C y temperatura final de 74.9-84.3 °C reportados por Singh y col. (2003), Kuakpetoon y Wang (2007). La temperatura de pico fue de 69.18 °C, 61.62 °C y 61.08 °C, para almidón de maíz comercial, almidón de cebada perlada y almidón de cebada con cáscara, respectivamente. Estadísticamente el almidón de maíz presentó diferencias significativas comparadas con los almidones de cebada. Yoshimoto y col. (2002) reportaron utilizando DSC, para almidones de cebada una temperatura de pico del gránulo de almidón de 60 °C. Así mismo Guzmán (2005) reportó para algunas variedades de cebada de los estados de Hidalgo y Tlaxcala con diferentes contenidos de humedad una temperatura máxima de pico entre 58-65 °C. Singh y col. (2003) reportaron una temperatura de gelatinización del almidón de maíz comercial de 69.4 °C. Los resultados son similares a los obtenidos en este trabajo. Estas transiciones de pico corresponden al punto de fusión de los cristales de almidón, el cual es principalmente de la amilopectina (Yoshimoto y col., 2000). Las diferencias pueden ser atribuidas a un alto grado de cristalinidad, lo cual proviene de una estructura estable y gránulos hechos más resistentes hacia la gelatinización (Singh y col., 2003). Cabe mencionar que todas las variedades de almidones de cebada tienen cadenas ramificadas relativamente cortas (Song y Jane, 2000). El tamaño del gránulo no afectó su temperatura de gelatinización, debido a que, los gránulos de almidón presentaron un tamaño uniforme. Otros factores, tales como el almidón dañado, técnicas de aislamiento del almidón y variación en condiciones climáticas durante el crecimiento del almidón, también pueden influenciar en la medición de las temperaturas (Fredriksson y col., 1998).

La entalpía de gelatinización da en general una cantidad de cristalinidad (cualitativa y cuantitativa) y es un indicador de la pérdida del orden molecular dentro del gránulo (Singh y col., 2003). Los resultados de entalpía para el almidón de maíz comercial fue de 8.89 j/g, para almidón de cebada perlada que fue de 8.16 j/g y para almidón de cebada con cáscara fue de 7.27 j/g. Los tres almidones presentaron diferencias significativas. Estos valores son menores a los presentados por Kuakpetoon y Wang (2007) para almidón de maíz comercial (13.77 j/g), Yoshimoto y col. (2000), Bello y Tovar (2001) para almidón de cebada (10.5-11.5 j/g). Estos resultados pueden ser influenciados por el tamaño de los gránulos. Las entalpías tienden a decrecer en el orden de los gránulos grande, mediano y pequeño. Algunos estudios han reportado que los gránulos de almidón de cebada grandes tienen una mayor entalpía que los gránulos pequeños de algunos cultivos. Vasanthan y Bhatta (1996) también reportaron que los gránulos de almidón de cebada pequeños tienen menor entalpía que los gránulos de almidón grandes (Tang y col., 2000). Esto explica los bajos resultados de entalpía de gelatinización en este estudio, ya que se obtuvieron gránulos de almidón de tamaño pequeño.

También durante la gelatinización, parte de los lípidos libres presentes en el almidón del cereal, probablemente pueden formar una inclusión helicoidal de complejo con moléculas de amilosa. Esta formación de complejo es un proceso exotérmico y puede resultar un decremento observado en la entalpía de gelatinización (Fredriksson y col., 1998).

Las temperaturas de transición y entalpías de gelatinización de los almidones por DSC pueden estar relacionadas a las características del gránulo de almidón, como el grado de cristalinidad. Esto es influenciado por la composición química del almidón. Los almidones de diferentes fuentes botánicas, exhiben diferentes temperaturas de transición y entalpías de gelatinización (Singh y col., 2003).

5.5.2 Análisis reológico

Evaluación de las curvas de flujo

Por medio de este análisis viscosimétrico se determina principalmente el comportamiento del almidón como fluido durante un proceso de calentamiento (Della, 2005). Se ha sugerido que la viscosidad en suspensiones diluidas está representada por la fracción volumétrica de los gránulos hinchados, además en sistemas concentrados es gobernada por la rigidez de la partícula (Méndez, 2006). En la figura 16 se muestran las curvas de flujo de los almidones de maíz comercial, cebada perlada y cebada con cáscara.

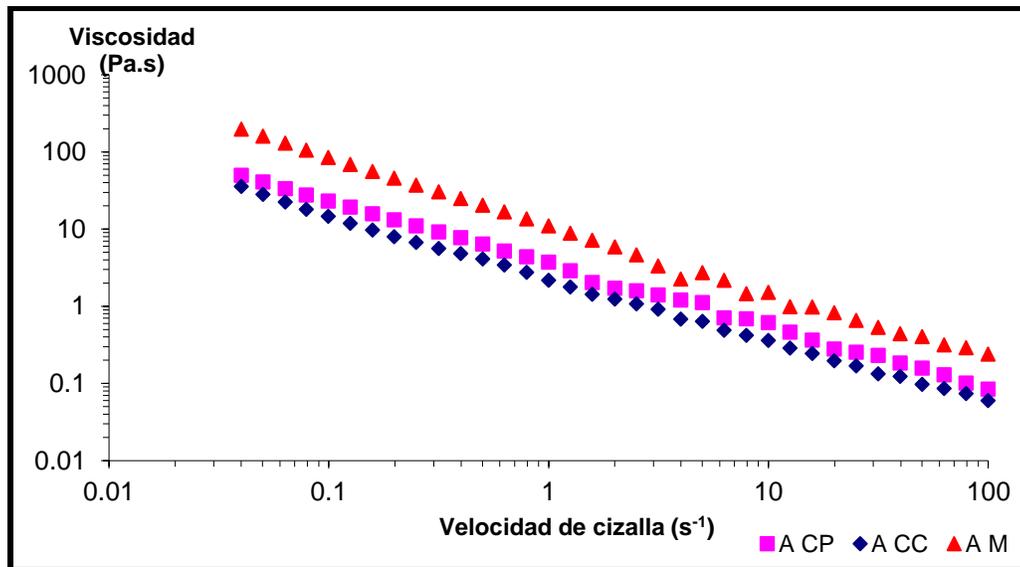


Figura 16. Curvas de flujo de los almidones de maíz comercial (AM), cebada perlada (A CP) y cebada con cáscara (A CC), viscosidad contra velocidad de cizalla.

Los almidones de maíz comercial, cebada perlada y cebada con cáscara presentaron un comportamiento no newtoniano (se realizó la corrección de la viscosidad debido a que esta información se obtuvo con un sistema de placas paralelas). Los tres almidones 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). Los datos obtenidos de la curva de flujo, normalmente se describen con la ecuación de Ley de la Potencia, los cuales se muestran en la tabla 8. Los parámetros presentados no tienen significado físico.

Tabla 8. Resultados de Ley de la Potencia para los almidones.

Almidón	R	n	K (Pa.s ⁿ)
Maíz (control)	0.9987	0.126	10.990
Cebada perlada	0.9994	0.189	3.564
Cebada con cáscara	0.9995	0.192	2.290

El valor del coeficiente de relación (R) de los tres almidones fue de 0.99, lo que indica que se estableció un buen ajuste al comportamiento de la ecuación de Ley de la Potencia, a pesar de presentar ligeramente curvaturas durante el procedimiento, lo cual es característico de las suspensiones de almidón (Méndez, 2006). Los tres almidones 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. Los almidones de maíz comercial, de cebada perlada y de cebada con cáscara presentaron diferencias entre sí. Sin embargo, el almidón de cebada con cáscara registró un índice de comportamiento de flujo más cercano a 1, es decir, mostró menos dependencia con respecto a la velocidad de cizalla lo cual, indica una mayor aproximación a ser un fluido newtoniano. En los valores de índice de consistencia (k), el almidón de maíz comercial presentó un valor aproximadamente tres veces mayor al almidón de cebada perlada y el valor de este también fue mayor que el almidón de cebada con cáscara. Este resultado indica que el almidón de maíz comercial presentó mayores características de un material reofluidizante.

Un factor importante es que las propiedades reológicas de los sistemas almidón en solución acuosa están determinadas por la concentración de la fase dispersa y el comportamiento reológico de la fase continua. En este sentido, el comportamiento de la muestra se torna más complejo cuando dos macromoléculas están presentes (amilosa y amilopectina) (Bello y Tovar, 2001). El almidón de maíz comercial presentó mayor cantidad de amilosa aparente, componente de la fase continua que se vio reflejado en el comportamiento del almidón, presentando mayor viscosidad. Estos resultados también se demostraron en la evaluación de viscosidad mediante el reómetro de placas paralelas.

Hay que considerar que para fines comparativos, las condiciones de preparación de las pastas sea el mismo (velocidad de agitación, perfil térmico, composiciones, entre otros) (Bello y Tovar, 2001).

Evaluación de la viscosidad

En la figura 17 se muestra el comportamiento de las pastas de los almidones de maíz comercial, cebada perlada y cebada con cáscara.

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).

Los valores de viscosidad máxima de los almidones fue de 521.05 Pa.s para el almidón de maíz comercial a una temperatura aproximadamente de 30 °C, para el almidón de cebada perlada fue de 252.60 Pa.s a una temperatura alrededor de 37 °C y para la cebada con cáscara fue de 206.63 Pa.s a una temperatura aproximadamente de 35 °C.

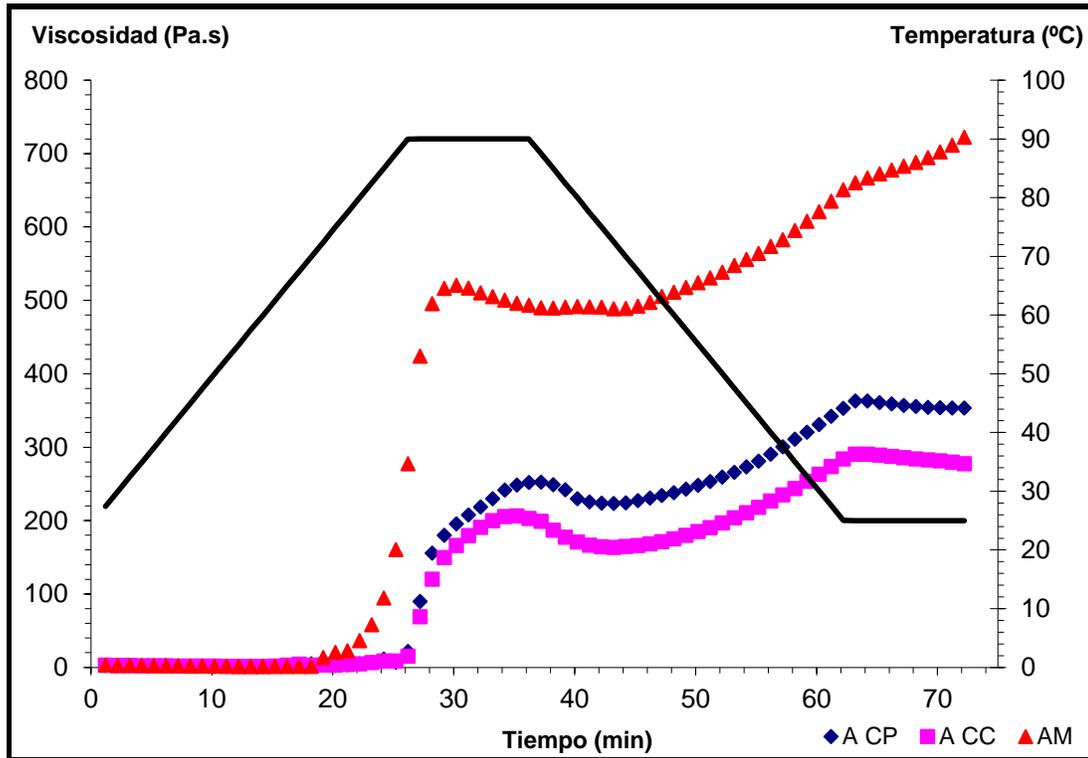


Figura 17. Formación de las pastas de los almidones de maíz comercial (AM), cebada perlada (A CP) y cebada con cáscara (A CC).

Consecuentemente la viscosidad de los almidones disminuyó, esto es explicado por la disociación molecular de los componentes del almidón (amilosa y amilopectina), en esta fase, la amilosa presente es solubilizada y liberada a la fase acuosa (Hernández y col., 2004). Los gránulos así hinchados se rompen fácilmente, y son desintegrados por agitación lo que resulta también la disminución de viscosidad (Fennema, 2000). Durante la etapa de enfriamiento (etapa de reasociación) el almidón de maíz comercial presentó un incremento en la viscosidad debido a la reorganización de las cadenas lineales (principalmente amilosa) lixiviadas durante las etapas previas, lo cual provocó un mayor número de entrecruzamientos durante la formación de la pasta, mientras que los almidones de cebada permanecieron estables bajo las condiciones aplicadas.

VI. CONCLUSIONES

- De su alto rendimiento de la selección y preparación de la muestra, la variedad utilizada se puede considerar como una buena materia prima para el aislamiento de almidón.
- Con la metodología empleada se obtuvo almidón de cebada de alta pureza (97%). Por lo tanto los resultados encontrados en este estudio indican una alternativa para el aislamiento de almidón de cereales.
- Las microscopías permitieron observar que los gránulos de almidón no sufrieron modificaciones importantes debido a que conservaron la cruz de malta y su forma lenticular. Por lo tanto el proceso de obtención no altera la estructura.
- Los almidones aislados presentaron temperaturas de gelatinización (61 °C) y entalpías de gelatinización (7.2-8.1J/g), estas son similares a las reportadas para el grano de cebada. Esto indica que los gránulos no presentaron modificaciones en sus propiedades fisicoquímicas después del aislamiento del almidón.
- En el análisis reológico, los almidones aislados presentaron un comportamiento no-newtoniano. Este comportamiento es característico de los almidones utilizados en la industria de alimentos. Por lo tanto los almidones en este estudio son una alternativa para aplicarlos en la industria.
- Los almidones aislados presentaron viscosidades bajas. Por consecuencia estos pueden ser utilizados en la industria de alimentos para aderezos o como aditivo.

VII. PERSPECTIVAS

- Se espera que este estudio sea complementado realizando estudios moleculares principalmente difracción de rayos-X y espectroscopia de infrarrojo utilizando técnicas comunes.
- También se sugiere complementar la caracterización fisicoquímica, realizando los siguientes estudios: retrogradación de los gránulos de almidón mediante DSC, índice de absorción de agua e índice de solubilidad en agua empleando un viscoamilógrafo.
- Por otro lado, se propone un análisis reológico fundamental utilizando el método viscoelástico dinámico.
- Se espera que el método utilizado para el aislamiento del almidón se pueda optimizar y se considere para aplicarlo con otras variedades del mismo cereal y otros cereales.
- En base a la descripción parcial de los almidones aislados, se espera tener un panorama más amplio de sus características y posteriormente se considere para posibles aplicaciones en la industria de alimentos.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- AACC, 2001. Approved Methods of American Association of Cereal Chemists. 10th edition. Vol. II.
- Abd, K. A., Norziah, M. H., Seow, C.C. 2000. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*. 71:9-36.
- Acosta, R. K. 2007. Elaboración de una pasta alimentaria a partir de sémolas de diferentes variedades de cebada. Tesis de Licenciatura de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Adkins, G. K., Greenwood, C. T. 1966. The isolation of cereal starches in the laboratory. *Starch/Stärke*. 7:213-218.
- Agama, A. E., Ottenhof, M. A., Farhat, I., Paredes, L. O., Ortíz, C. J., Bello, P. L. 2005. Aislamiento y caracterización del almidón de maíces pigmentados. *Agrociencia*. 39: 419-429.
- Agustiniano, O. J. 2004. Obtención de almidón resistente mediante extrusión a partir de almidón de mango *Mangifera indica* L. (Var. Tommy Atkins). Tesis de Maestría del Instituto Politécnico Nacional.
- Andersson, A. A., Andersson, R., Aman, P. 2001. Starch and by-products from a laboratory-scale barley starch isolation procedure. *Cereal Chemistry*. 78 (5):507-513.
- Ao, Z., Jane, J. 2007. Characterization and modeling of the A- and B-granule starches of wheat, triticale, and barley. *Carbohydrate Polymers*. 67:46-55.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th edition. Vol. II. Edited by Kenneth Helrich. Pp. 777-781, 1095-1096.
- Araujo, V. C., Rincón, A., Padilla, F. 2004. Caracterización del almidón nativo de *Dioscorea bulbifera* L. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 52(2):1-12.
- ASERCA, 2003. Claridades agropecuarias: la cebada en la agricultura nacional. Revista 2003.

- Badui, D. S. 1997. Química de los alimentos. Longman de México Editores S.A. de C.V. Alambra Mexicana, México D.F.
- Bello, P. L., García, S. F., Méndez, M. G., Oliviera, N., J., Maria, L. F., Cordenunse, B. 2006. Isolation and characterization of starch from seeds of *Araucaria brasiliensis*: A novel starch for application in food industry. *Starch/Stärke*. 58:283-291.
- 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.
- Bernal, L., Martínez, B. E. 2006. Una nueva visión de la degradación del almidón. Revista del Centro de Investigación de la Universidad La Salle. México D.F. 7(25):77-90.
- Biliaderis, C. G., Maurice, T. J., Vose, J. R. 1980. Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Food Science*. 45:1669-1680.
- Castillo, R. C. 2005. Uso alternativo de las cebadas (*Hordeum sativum* jess) cultivadas en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala en la industria de la panificación. Tesis de Licenciatura de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Conejero, L. F., López, M. O., Sadqui, M. 2000. Estudio termodinámico de los estados parcialmente plegados del dominio SH-3 de α -espectrina. Tesis de Doctorado de la Universidad de Granada.
- Czuchajowska, Z., Klamczynski, A., Paszczynska, B. Baik, B. K. 1998. Structure and functionality of barley starches. *Cereal Chemistry*. 75(5):747-754.
- 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.
- Desrosier, N. W. 1999. Elementos de tecnología de alimentos. Editorial CECSA, S.A.
- Estévez, A. A., Escobar, A. B., Hurtado, P. M., Cánovas, B. G. 2000. Extracción, caracterización y aplicación de almidón de fuentes no tradicionales.
- Fennema O. R. 2000. Química de los alimentos, segunda edición. Editorial Acibia. Zaragoza, España.

- Flores, G. E., García, S. F., Flores, H. E., Núñez, S. M., González, S. R., Bello, P. L. 2004. Rendimiento del proceso de extracción de almidón a partir de frutos de plátano (*Musa paradisiaca*). Estudio en planta piloto. *Acta Científica Venezolana*. 55: 86-90.
- Fredriksson, H., Silverio, J., Andersson, R., Eliasson, A. C., Aman, P. 1998. The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches. *Carbohydrate Polymers*. 35:119-134.
- Gelders, G. G., Vanderstukken, T. C., Goesaert, H., Delcour, J. A. 2004. Amylose–lipid complexation: a new fractionation method. *Carbohydrate Polymers*. 56:447-458.
- Gill, S., Vasanthan, T., Ooraikul, B., Rossnagal, B. 2002. Wheat bread quality as influenced by the substitution of waxy and regular barley flours in their native and cooked forms. *Journal of Cereal Science*. 36:219-237.
- Goñi, I., García, A., Saura, C. F. 1997. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*. 17:427-437.
- Guilbot, A., Mercier, C. 1985. Starch: The Polysaccharides. In: O. Aspinall (Ed.), Academic Press, New York, USA.
- Guzmán, O. F. 2005. Valoración de las propiedades fisicoquímicas de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum jess*) cultivadas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala. Tesis de Licenciatura de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Hernández, U. J., Pérez, R. G., Méndez, M. G., Bello, P. L., Solorza, F. J. 2004. Thermal and viscoelastic properties of starch isolated from mexican corn hybrids. *Food Technology*. 55:276-287.
- Hoover, R., Ratnayake, W. S. 2002. Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. *Food Chemistry*. 78:489-498.
- Izydorczyk, M. S., Hussain, A., MacGregor, A. W. 2001. Effect of barley and barley components on rheological properties of wheat dough. *Journal of Cereal Science*. 34:251-260.
- Jacobs, H., Delcour, J. A. 1998. Hydrothermal Modifications of Granular Starch, with Retention of the Granular Structure: A Review. *Agricultural and Food Chemistry*. 46(8):2896-2905.

- Ji, Y., Seetharaman, K., White, P. J. 2004. Optimizing a small scale corn starch extraction method for use in the laboratory. *Cereal Chemistry*. 81(1):55-58.
- Kaukovirta, N. A., Reinikainen, P., Olkku, J., Laakso, S. 1997. Starch lipids of barley and malt. *Cereal Chemistry*. 74(6):733-738.
- Klamczynski, A. P., Czuchajowska, Z. 1999. Quality of flours from waxy and nonwaxy barley for production of baked products. *Cereal Chemistry*. 76(4):530-535.
- Kuakpetoon, D., Wang, Y. J. 2007. Internal structure and physicochemical properties of corn starches as revealed by chemical surface gelatinization. *Carbohydrate Research*. 2-30.
- Lai, L., Kokini. 1991. Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion: A review. *Biotechnology Progress*. 7(3):251-266.
- Li, J. H., Vasanthan, T., Rossnagel, B., Hoover, R. 2001. Starch from hull-less barley: I. Granule morphology, composition and amylopectin structure. *Food Chemistry*. 74:395-405.
- Liu, H.ongsheng., Yu, L., Chen, L., Li, L. 2007. Retrogradation of corn starch after thermal treatment at diVerent temperatures. *Carbohydrate Polymers*. 69:756-762.
- López, P. P. 2005. Evaluación de la calidad de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum* jess) cultivadas en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala. Tesis de Licenciatura de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- MacGregor, A. W., Bhatti, R. S. 1996. Barley Chemistry and Technology. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.
- Marconi, E., Graziano, M., Cubadda, R. 2000. Composition and utilization of barley pearling by-products for making functional pastas rich in dietary fiber and β -glucans. *Cereal Chemistry*. 77(2):133-139.
- Márquez, E., A. 2007. Elaboración y evaluación de un producto de panificación con harina de cebada. Tesis de Licenciatura de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Mauro, D. J. 1996. An update on starch. *Cereal Foods World*. 41:776-780.
- McDonald, A. M., Stark, J. R., Morrison, W. R., Ellis, R. P. 1991. The composition of starch granules from developing barley genotypes. *Journal of Cereal Science*. 13:93-112.

- Méndez, M. G. 2006. Cambios fisicoquímicos y moleculares en el almidón de maíz debido al proceso de nixtamalización. Tesis de Doctorado de la Universidad Autónoma de Querétaro.
- Méndez, M. G., Solorza, F. J., Velázquez, V. M., Gómez, M. N., Paredes, L. O., Bello, P. L. 2005. Composición química y caracterización calorimétrica de híbridos y variedades de maíz cultivadas en México. *Agrociencia*. 39:267-274.
- Millán, T. C. 2004. Estudios estructurales y moleculares del almidón de fuentes no convencionales: mango (*Mangifera indica* L.), plátano (*Musa paradisíaca*) y okenia (*Okenia hypogaea*). Tesis de Maestría del Instituto Politécnico Nacional.
- Millán, T. C., Mendez, M. G., Ottenhof, M. A., Farhat, I. A., Bello, P. L. 2005. Determination of the molecular and structural characteristics of okenia, mango, and banana starches. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 53:495-501.
- Moore, C. O., TuschHoff, J. V., Hastings, C. W., Schanefelt, R. V. 1984. Applications of starches in foods. In *Starch: Chemistry and Technology*, ed. R.L. Whistler. Academic Press. Inc. New York, USA.
- Norma Mexicana NMX-FF-043-SCFI-2003. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano -cereal- cebada maltera (*Hordeum vulgare* L. y *Hordeum distichum* L.). Especificaciones y métodos de prueba.
- Núñez, S. M., Bello, P. L., Tecante, A. 2004. Swelling-solubility characteristics, granule size distribution and rheological behavior of banana (*Musa paradisiaca*) starch. *Carbohydrate Polymers*. 56:65-75.
- Núñez, S. M., Méndez, M. G, y Solorza, F. J. 2001. Introducción a la Reología, primera edición. Editorial tresguerras. México, D.F.
- Oscarsson, M., Parkkonen, T., Autio, K., Åman, P. 1997. Composition and microstructure of normal, waxy and high-amylose barley samples. *Journal of Cereal Science*. 26:259-264.
- Paredes, L. O., Bello, P. L., López, M. G. 1994. Amylopectin: structural gelatinization and retrogradation studies. *Food Chemistry*. 50:411-418.

-
- Paredes, L. O., Schevenin, M. L., Hernández, L. D., Cárabez, A. 1989. Amaranth starch isolation and partial characterization. *Starch/Starke*. 41:205-207.
- Reyes, G. E., Méndez, M. G., Solorza, F. J., Toro, V. J., Bello, P. L. 2003. Rheological and thermal characterization of *Okenia hypogaea* (Schlech. & Cham.) starch. *Carbohydrate Polymers*. 52:297-310.
- Rodríguez, P., San Martín, M. E., González, C. G. 2001. Calorimetría diferencial de barrido y rayos-x del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada. *Sociedad Mexicana de Ciencia de Superficies y de Vacío*. 13:61-65.
- Sablani, S. S., Kasapis, S., Al-Tarqe, Z.H., Al-Marhubi, I., Al-Khuseibi, M., Al-Khabori, T. 2007. Isobaric and isothermal kinetics of gelatinization of waxy maize starch. *Journal of Food Engineering*. 82:443-449.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., Kulkarni, P. R. 2006. Resistant starch: A review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 5:1-17.
- Sandhu, S. K., Singh, N., Kaur, M. 2004. Characteristics of the different corn types and their grain fractions: physicochemical, thermal, morphological, and rheological properties of starches. *Journal of Food Engineering*. 64:119-127.
- Sandoval, A. A., Rodríguez, S. E., 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., 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., Kaur, L., Singh, S. K., Kaur, J., Nishinari, K. 2006. Relationships between physicochemical, morphological, thermal, rheological properties of rice starches. *Food Hydrocolloids*. 20:532-542.
- Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Singh, S. N., Singh, G. B. 2003. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*. 81:219-231.

- Singh, S. N., Singh, N. 2003. Morphological, thermal and rheological properties of starches separated from rice cultivars grown in India. *Food Chemistry*. 80:99-108.
- Song, Y., Jane, J. 2000. Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties. *Carbohydrate Polymers*. 41:365-377.
- Steinbrüggen, R. 2006. Reología de líquidos y semisólidos. Instrumentos Físicos Ibérica, S.L. Tel: 93 446 36 59 Fax: 93 446 36 60 08041. Barcelona.
- Stevnebø, A., Sahlström, S., Svihus, B. 2006. Starch structure and degree of starch hydrolysis of small and large starch granules from barley varieties with varying amylose content. *Animal Feed Science and Technology*. 130:23-38.
- Svihus, B., Uhlen, A. K., Harstad, O. M. 2005. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal Feed Science and Technology*. 122:303-320.
- Tamás, C. E. 2000. Genetic alteration of starch for use in packaging and paper technologies. Institute of Media Technology, Rejtő Sándor Faculty of Light Industry. Engineering, Budapest Tech, Budapest, Hungary.
- Tang, H., Ando, H., Watanabe, K., Takeda, Y., Mitsunaga, T. 2000. Some physicochemical properties of small, medium, and large-granule starches in fractions of waxy barley grain. *Cereal Chemistry*. 77(1):27-31.
- Tang, H., Watanabe, K., Mitsunaga, T. 2002. Structure and functionality of large, medium and small granule starches in normal and waxy barley endosperms. *Carbohydrate Polymers*. 49:217-224.
- Tenorio, P.G. 2004. Regulación de la enzima almidón sintasa unida a gránulo en plantas. Tesis de Doctorado de la Universidad de Sevilla.
- Vasanthan, T., Bhatta, R. S., Tyler, R. T., Chang, P. 1997. Isolation and cationization of barley starches at laboratory and pilot scale. *Cereal Chemistry*. 74(1):25-28.
- Verwimp, T., Vandeputte, G. E., Marrant, K., Delcour, J. A. 2004. Isolation and characterisation of rye starch. *Journal of Cereal Science*. 39:85-90.
- Visser, R. G., Jacobsen, E. 1993. Towards modifying plants for altered starch content and composition. *TIBTECH*. 2:63-68.

- Waduge, R. N., Hoover, R., Vasanthan, T., Gao, J., Li, J. 2006. Effect of annealing on the structure and physicochemical properties of barley starches of varying amylose content. *Food Research International*. 39: 59-77.
- Wang, L., Wang, Y. J. 2004. Rice starch isolation by neutral protease and high-intensity ultrasound. *Journal of Cereal Science*, 39:291-296.
- Yoshimoto, Y., Takenouchi, T., Takeda, Y. 2002. Molecular structure and some physicochemical properties of waxy and low-amylose barley starches. *Carbohydrates Polymers*. 47:159-167.
- Yoshimoto, Y., Tashiro, J., Takenouchi, T., Takeda, Y. 2000. Molecular structure and some physicochemical properties of high-amylose barley starches. *Cereal Chemistry*. 77(3):279-285.
- Yu, L., Christie, G. 2001. Measurement of starch thermal transitions using differential scanning calorimetry. *Carbohydrate Polymers*. 46:179-184.

Páginas de internet consultadas:

http://www.uc.cl/sw_educ/cultivos/introcer.htm, Enero, 2008.

FAO. 2006. Food and Agriculture Organization. <http://www.fao.org/>

SAGARPA. 2006. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Delegación Hidalgo. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>