

EFFECTO DE LA ACETILACIÓN SOBRE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES Y NUTRICIONALES DE ALMIDONES DE HABA (*VICIA FABA*)

Constanza López*, Ana Silvia Bermúdez*

Recibido: 01/08/01 Aceptado: 12/12/01

Palabras clave: almidón, almidón modificado, *Vicia faba*, biodisponibilidad, leguminosa, almidón acetilado.

Keywords: starch, modified starch, *Vicia faba*, bioavailability, legumes, acetylated starch.

RESUMEN

Se analizaron algunas propiedades funcionales del almidón de haba (*Vicia faba*), con dos niveles de proteína -12,89% y 4,41%-, obtenido por fraccionamiento por vía húmeda de las semillas secas. Se comparan el secado en rodillos y la liofilización como métodos para deshidratar la muestra, así como las propiedades funcionales del almidón antes y después de acetilarlo con anhídrido acético. También se investigaron ciertas propiedades de interés nutricional con el fin de observar la influencia de la modificación química en la biodisponibilidad del almidón de haba. Se realizó la determinación de almidón total, almidón resistente por retrogradación (AR3), almidón disponible y la velocidad de hidrólisis enzimática en el almidón nativo y en el modificado.

ABSTRACT

Some functional properties of the faba (*Vicia faba*) starch were analyzed. The faba starch had two protein levels: 12,89% and 4,41%. It was obtained by fractionation by wet process of the dry seeds; it was compared the drying in rollers and the freeze-drying as methods to dehydrate the sample, as well as their functional properties before and after acetylated with acetic anhydride. Certain properties of nutritional interest were also investigated with the purpose of ascertaining the influence of the chemical modification in the bioavailability of the bean starch. It was carried out the determination of Total Starch, Resistant Starch for retrogradation (AR3), Available Starch and the rate of enzymatic hydrolysis in the native starch and in the modified one.

INTRODUCCIÓN

Aunque las fuentes más comunes de almidones para alimentos han sido tradicionalmente los cereales y los tubérculos, los almidones de leguminosas se han convertido en una fuente potencial, al obtenerlos como subproducto en el proceso

* Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Bogotá, Colombia. E-mail: alimento@ciencias.ciencias.unal.edu.co.

de fraccionamiento de sus semillas. El haba en Colombia se cultiva en las regiones frías de Cundinamarca, Boyacá y Nariño. El consumo del haba puede ser incrementado si se desarrollan nuevos productos y nuevas alternativas para su uso.

Los almidones nativos han sido usados de manera restringida en la industria de alimentos debido a las características que presentan, como la inestabilidad bajo condiciones de procesamiento (calentamiento, bombeo, pH bajos), la tendencia a la retrogradación y la poca estabilidad cuando se rompe la cadena de frío y se someten a ciclos de congelación y descongelación.

En el proceso de fraccionamiento de leguminosas, cuyo objetivo es el aprovechamiento de fuentes no convencionales de proteína, la fracción amilácea representa un 60% del gránulo (1), por lo cual es conveniente disponer su uso en alimentos, para lograr un uso integral. La fracción amilácea de las semillas de haba presenta características sensoriales como olor y color desagradables; además, sus geles son duros (2) y muy susceptibles a la sinéresis (3).

En algunas investigaciones se indica que la acetilación es una buena opción para modificar el almidón, ya que aumenta la viscosidad, el poder de hinchamiento y la solubilidad, y disminuye la temperatura de gelatinización. Comer y Fry (4) encontraron que la acetilación incrementa la estabilidad de almidones de leguminosas a bajas temperaturas de almacenamiento. Biliaderis (5) mostró que la acetilación ocurre exclusivamente en ciertas partes del gránulo de almidón.

El objetivo general de este estudio fue evaluar el efecto del contenido de proteína, del método de deshidratación y de la acetilación de almidones de haba sobre algunas propiedades funcionales y nutricionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Como materia prima se usaron semillas de haba seca obtenidas en el mercado local. Para obtener la harina integral, las semillas se pasaron por un molino de martillos marca Fitz Mill. La harina se tamizó a través de una malla No. 14, y se utilizó el material tamizado para el proceso de fraccionamiento.

Fraccionamiento de la harina de haba por vía húmeda

El fraccionamiento de la harina se llevó a cabo mediante la metodología establecida por Mordecay (2) y modificada por Palomeque (6). Con el objeto de disminuir el contenido de proteína, una parte del material se trató con Alcalasa®, una proteasa bacteriana, usando 0,0122 unidades Anson por gramo de proteína, a 45°C y a pH 8 durante 15 horas, con agitación constante, teniendo en cuenta la ficha técnica de esta enzima (7).

Las fracciones amiláceas que se obtuvieron se deshidrataron mediante dos tratamientos: secado en rodillos a 150°C y 1,5 rpm, y liofilización. Se realizó la caracterización físico-química de las fracciones siguiendo la metodología de la AOAC (8).

Estabilidad de los geles de almidón

Se prepararon suspensiones de almidón al 12%, las cuales se gelatinizaron en un baño a ebullición durante 30 min; posteriormente, las muestras se congelaron a -15°C durante 24 horas, y luego se descongelaron en un baño a 30°C . Enseguida se centrifugaron por 10 min a 3000 rpm y se pesó la cantidad de líquido separado del gel. Se realizaron cinco ciclos de congelación-descongelación de las muestras, y en cada uno se determinó la estabilidad (9).

Modificación del almidón por acetilación

Para la acetilación del almidón de haba se siguió el método de Wurzburg (10) en suspensiones acuosas al 10% de sólidos totales, manteniendo en agitación suave por 60 min a 25°C para obtener una suspensión uniforme.

El pH se ajustó a 8,0 con NaOH al 3%. Luego se adicionó anhídrido acético (0,1 moles por 100 g de muestra) gota a gota sobre la suspensión, con agitación mecánica. La reacción se mantuvo durante 30 minutos a 30°C , después de finalizar la adición del anhídrido acético. Se ajustó el pH a 4,5 con HCl 0,5N y se efectuaron tres lavados con agua, dejando decantar durante una hora después de cada lavado. Luego se secó en estufa con aire forzado a 40°C durante 24 h.

El grado de sustitución (GS) en la acetilación fue determinado siguiendo el método descrito en el *Food Chemicals Codex* (11), observando el punto final potenciométricamente. Los blancos se determinaron con almidón sin modifi-

car. El GS se define como el promedio de los grupos acetilo por unidad de glucosa en la molécula de almidón.

Porcentaje de grupos acetilo (GA)

$$GA = \frac{\text{meq HCl (blanco - muestra)} \times 4,3}{\text{peso de la muestra (g base seca)}}$$

$$GS = \frac{162 \times \text{porcentaje de grupos acetilo}}{4300 - (42 \times \text{porcentaje de grupos acetilo})}$$

Determinación de viscosidad

Se usó un viscoamilógrafo (Brabender 3263 tipo V5-6 500 cmg) para medir las propiedades reológicas de la pasta, en las muestras sin modificar y modificadas, con contenido alto y bajo en proteína. Las suspensiones de almidón al 8,2% en base seca (b.s.) fueron transferidas al vaso del amilógrafo. Las suspensiones fueron calentadas de 25°C hasta 95°C . La velocidad de aumento de temperatura fue de $1,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Se mantuvieron a 95°C por 30 min y luego fueron enfriadas a una velocidad de $1,5^{\circ}\text{C}$ hasta 50°C ; se mantuvo esta temperatura durante 30 min y se registró el comportamiento reológico.

Los cinco puntos característicos determinados fueron:

- Tg: temperatura a la que la viscosidad comienza a aumentar.
- Máximo de viscosidad y temperatura a la que ocurre el máximo de viscosidad.
- Viscosidad a 95°C (temperatura alcanzada antes de que ebulle la suspensión).

- Inestabilidad del gel: diferencia entre el mínimo y máximo de viscosidad.
- Índice de gelificación: diferencia de viscosidad entre el mínimo y la viscosidad final.

Almidón resistente tipo III

El almidón resistente tipo III se evaluó según el método de Saura - Calixto y cols. (12), analizando el residuo de fibra dietaria insoluble después de solubilizarlo con KOH 2N. La cantidad de glucosa liberada por digestión enzimática fue medida con un reactivo de glucosa oxidasa-peroxidasa, y expresada como porcentaje.

Almidón disponible

El contenido de almidón fue medido siguiendo el método de Holm *et al.* (13). Las muestras fueron digeridas con Termamyl® y amiloglucosidasa Sigma A-3514. La glucosa liberada fue determinada por colorimetría a 450 nm luego del desarrollo de color con glucosa oxidasa/peroxidasa.

Almidón total

El almidón total se evaluó siguiendo el método de Tovar y cols. (14). Las muestras (500 mg) se suspendieron en KOH 4N para dispersar el almidón, agitando a temperatura ambiente por 30 min. Posteriormente, el almidón se hidrolizó, incubándolo con Termamyl® y amiloglucosidasa Sigma A-3514 (60°C, 30 min, a pH 4,75), y se determinó el

contenido de glucosa por el método de Holm *et al.* (13).

$$\% \text{ almidón} = \frac{\text{mg glucosa} \times 0,9}{\text{Peso de la muestra en mg}} \times 100$$

Donde 0,9 es el factor de transformación de glucosa a glucano.

Velocidad de hidrólisis

La velocidad de hidrólisis se determinó por el método de Holm *et al.* (15), usando 200 unidades de amilasa pancreática porcina por gramo de almidón, a 37°C y pH de 6,9. El curso de la digestión fue seguido por determinación de azúcares reductores, mediante reducción del ácido 3,5 dinitrosalicílico, utilizando una curva de calibración preparada con maltosa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

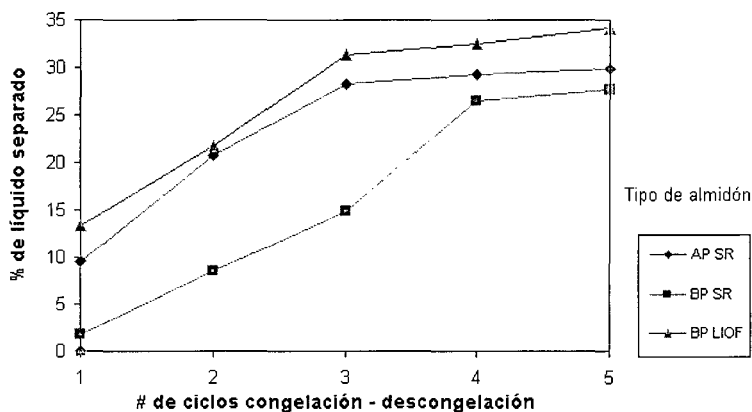
A partir del haba, se obtuvo una harina integral con una granulometría homogénea, donde el 81,6% de las partículas presentó un tamaño entre 300 y 425 μm .

En la tabla 1 se pueden observar algunas propiedades físico-químicas de las fracciones amiláceas del haba obtenidas por fraccionamiento por vía húmeda. Antes de realizar la hidrólisis proteica sobre la fracción amilácea, cuando se sigue la metodología establecida por Mordecay *et al.* (2) y modificada por Palomeque *et al.* (6), se logra obtener una fracción amilácea con el 12,89% de proteína y después de la hidrólisis proteica, se obtiene la fracción amilácea con alrededor del 4,4% de proteína. Además, las propiedades sensoriales como olor y color cambian significativamente. El olor característico

Tabla 1. Caracterización físico-química de fracciones amiláceas del haba obtenidas por fraccionamiento por vía húmeda

Análisis	AP SR	BP Liof.	BP SR
% Humedad	9,06	10,60	9,29
% Proteína (b.s)	12,89	4,22	4,41
Olor	Caract. del haba	Inoloro	Inoloro
Color	Café claro	blanco	Crema

AP SR: Alto en proteína, secado en rodillos
 BP Liof.: Bajo en proteína, liofilizado
 BP SR: Bajo en proteína, secado en rodillos


Figura 1. Estabilidad de los gels de almidón a los choques térmicos

co del haba y su color café disminuyen en las fracciones obtenidas bajas en proteína.

Estabilidad de los gels de almidón

Los resultados que se muestran en la figura 1 indican que la presencia de proteína inestabiliza el gel de almidón, probablemente debido a formación de interacciones hidrofóbicas que permiten la eliminación y separación de agua.

También se pueden tener interacciones proteína-almidón, las cuales se dan entre polímeros que se encuentran en solución. Existe una incompatibilidad termodinámica porque las dos reacciones son endotérmicas y la proteína puede competir en el cambio de energía interna durante la gelificación (16). Esta consideración es importante en el caso de las industrias, donde se tienen sistemas alimenticios con matrices complejas de ingredientes. Los compuestos fenólicos,

como los taninos, presentes en el tegumento de la semilla de haba, interaccionan con la proteína, y pueden también ser una causa de la inestabilidad del gel, así como las reacciones de Maillard entre almidón y proteína.

Se puede ver que el tratamiento térmico, es decir, el secado en rodillos, estabiliza el almidón, posiblemente porque lo modifica a nivel de estructura física, aumentando la superficie del gránulo y permitiendo mejor retención del líquido.

El efecto del contenido de proteína sobre el porcentaje de grupos acetilo y el grado de sustitución se muestran en la tabla 2.

Se puede observar que el porcentaje de proteína disminuyó en la muestra AP SR; esto puede deberse a la solubilización de la proteína, ya que la acetilación se realiza a pH de 8,0, condición que se utiliza en el fraccionamiento de la harina de haba en la etapa inicial para separar la proteína.

Con los grados de sustitución alcanzados, estos almidones se pueden considerar de bajo grado de sustitución; además, se observa que la proteína se

puede acetilar, dando mayor grado de sustitución en el AP SR.

Estabilidad de los geles de almidón acetilados

La estabilidad de los geles de almidón acetilados se puede observar en la figura 2. El almidón bajo en proteína, secado en rodillos y acetilado, es más estable en los ciclos de congelación-descongelación.

La acetilación previene la asociación entre las cadenas lineales de amilosa y los segmentos lineales de amilopectina, lo cual impide la retrogradación; este efecto es más notorio en BP SR.

Viscosidad amilográfica

El almidón BP liofilizado presentó una temperatura de inicio de gelatinización de 79°C; esta temperatura es superior a los datos encontrados por Haase (17) en tres variedades de *Vicia faba*. La temperatura de inicio de gelatinización encontrada por Haase fue cercana a los 70°C, determinada en el viscoamiloógrafo Brabender. El secado en rodillos y la acetilación apli-

Tabla 2. Efecto del contenido de proteína sobre el porcentaje de grupos acetilo y grado de sustitución (GS) de almidón de haba

Almidón	Porcentaje de proteína	Porcentaje de grupos acetilo	G S
BP Liof. Acetilado	1,05	0,90	0,034
AP SR Acetilado	3,88	1,53	0,059
BP SR Acetilado	1,05	0,94	0,036

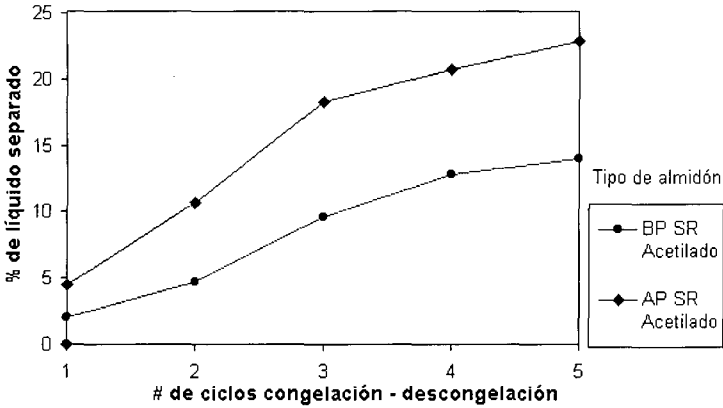
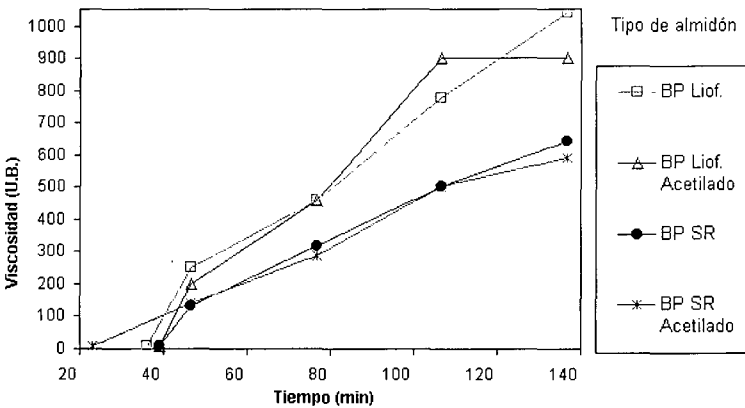


Figura 2. Estabilidad de los geles de almidón acetilado a los choques térmicos

cados independientemente aumentaron esta temperatura a 85°C. Solamente el efecto combinado de secado en rodillos y acetilación disminuyó la temperatura de gelatinización a 60°C. Estos resultados no coinciden con los encontrados por otros investigadores como H. Liu (18), pues, para sus estudios, después de la modificación por acetilación, la temperatura de gelatinización bajó para algunas variedades de almidón maíz.

Esto indica que el almidón acetilado secado en rodillos necesita menos cantidad de calor para alcanzar su gelatinización.

Los almidones de haba no presentan pico de viscosidad, como se observa en la figura 3, lo cual indica que los gránulos del almidón de haba son resistentes al hinchamiento y se van rompiendo a través de todo el proceso de calentamiento.



Concentración: 8,2% bs.; pH: 6,9. Calentamiento: 1,5°C/min. Lapso de calentamiento a 95°C: 30 min.

Figura 3. Propiedades amilográficas de suspensiones de almidones de haba

La acetilación mejora la estabilidad del gel, y solamente el efecto combinado de secado en rodillos y acetilación incrementa la capacidad de hinchamiento de los gránulos de almidón.

Propiedades nutricionales

Las características nutricionales del almidón dependen del tipo y grado de la modificación a la que ha sido sometido en los procesos tecnológicos, o de las modificaciones realizadas intencionalmente para impartirle las propiedades funcionales deseadas.

En cuanto al almidón resistente, se le halló en el almidón de haba BP Liof., en un 1,44%, (ver tabla 4). Las leguminosas se caracterizan por poseer elevados contenidos de almidón resistente (5,0 - 15%) según la clasificación sugerida por Goñi y cols. (19). Los almidones resistentes podrían ejercer efectos metabólicos más benéficos que los propios polisacáridos fibrosos (20).

El almidón BP SR presentó mayor contenido de almidón resistente. Este

resultado está de acuerdo con el de Tovar (21), en cuanto a que la manipulación tecnológica suprime las fracciones resistentes tipo I y II, pero favorece la aparición de material retrogradado (tipo III) debido al uso de tratamientos térmico-mecánicos.

El contenido de almidón disponible disminuye significativamente con la acetilación, debido a que probablemente las condiciones del proceso inducen la transglucosidación, generando pérdidas en el almidón susceptible a la hidrólisis por amilasas (22). Se debe considerar además que la sustitución covalente del almidón lo desmejora como sustrato para la amilólisis (23).

El secado en rodillos aumentó el almidón disponible, probablemente debido a que se alcanzan temperaturas de 170°C que despolimerizan el almidón, haciéndolo más susceptible a las hidrólisis enzimáticas.

En la figura 4 se muestra la cinética de digestión *in vitro* del almidón de haba BP Liof., y de los modificados. Se puede observar que los diferentes trata-

Tabla 4. Propiedades nutricionales de las fracciones amiláceas de haba *

Tipo de almidón	% Almidón resistente	% Almidón disponible	% Almidón total
BP Liof.	1,44 ± 0,18	55,69 ± 1,15	57,20 ± 2,91
BP Liof. Acetilado	1,28 ± 0,22	41,82 ± 1,82	65,64 ± 1,34
BP SR	2,40 ± 0,17	59,40 ± 0,99	59,12 ± 0,61
BP SR Acetilado	3,31 ± 0,71	48,80 ± 1,75	53,02 ± 1,84

* Promedios (n=3) ± LC

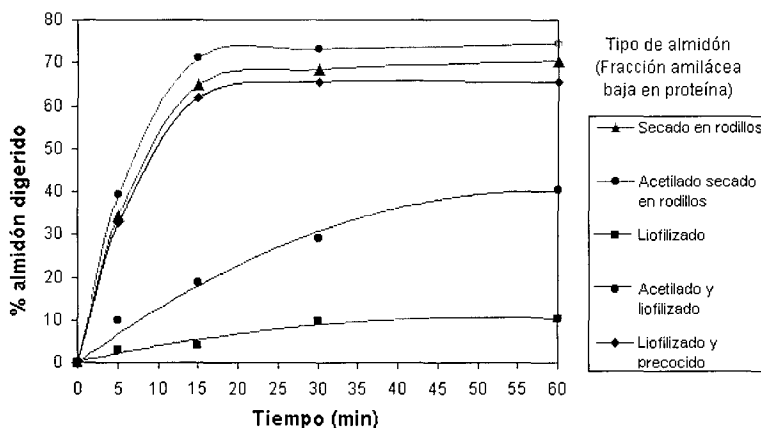


Figura 4. Tasa de digestión de almidón *in vitro*, de fracciones amiláceas de haba

mientos aumentaron la magnitud de la hidrólisis enzimática. Estos resultados coinciden con los de H. Liu (18) para el almidón de algunas variedades maíz, pero difieren de los de Santacruz y Ruales (24) (almidón de achira y yuca), los cuales indican que la hidrólisis enzimática no se incrementa con la acetilación.

CONCLUSIONES

La presencia de proteína en la fracción amilácea del almidón de haba inestabiliza los geles formados, haciéndolos susceptibles al fenómeno de sinéresis.

La acetilación reduce la tendencia del almidón a retrogradar, aumentando considerablemente sus posibilidades de uso.

La acetilación del almidón de haba con anhídrido acético induce cambios favorables en las propiedades funcionales y reológicas de este polisacárido, el cual podría ser utilizado como aditivo para alimentos, especialmente en postres y productos congelados.

El efecto combinado de secado en rodillos y acetilación mejora las propiedades nutricionales del almidón de haba para uso en industria de alimentos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al profesor Juscelino Tovar de la Universidad Central de Venezuela, U.C.V., por sus valiosos comentarios, y a LANFOODS, IPICS (Suecia) por su apoyo económico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Naivikul, O.; D'Appolonia, B.L. (1978). Comparison of Legume and Wheat Flour Carbohydrates. I. Sugar Analysis. *Cereal Chem* **55** (6) 913-918.
2. Mordecay, L. (1994). Obtención de productos proteicos a partir de semillas de haba (*Vicia faba*). Tesis de Maestría, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá.

3. Vose, J. R. (1980). Production and Functionality of Starches and Protein Isolates from Legumes Seeds (Field Peas and Horsebeans). *Cereal Chem* **57** (6) 406-410.
4. Comer, F. W.; Fry, M. K. (1978). Purification, Modification, and Properties of Air-Classified Pea Starch. *Cereal Chem* **55** (6) 818-829.
5. Biliaderis, C. G. (1982). Physical Characteristics, Enzymatic Digestibility, and Structure of Chemically Modified Smooth Pea and Waxy Maize Starches. *J. of Agric and Food Chem* **30** 925-930.
6. Palomeque, L. A. (1995). Efecto de la modificación enzimática y del método de deshidratación sobre la solubilidad del aislado proteico de haba (*Vicia faba*). Trabajo de grado, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
7. Ficha Tecnica Alcalasa. Novo Nordisk, Enzyme Process Division. Novo Allé, DK-2880 Bagsvaerd, Denmark.
8. Association of Analytical Chemistry, AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis*. 15 ed.
9. Dufour, D.; Hurtado J.J. (1996). Perspectivas de uso de almidones nativos de raíces y tubérculos en relación con sus propiedades específicas. *Conferencia Internacional de Almidón*, 8-10 de mayo, Quito, Ecuador, pp. 149-158.
10. Wurzburg, O.B. (1964). Esters: Acetylation. En: *Methods in Carbohydrate Chemistry: Starch*. Vol. **4**. Whistler, R.L., Nueva York: Academic Press, p. 286-294.
11. National Academy of Sciences. (1965). *Food Chemicals Codex. Acetyl Value*. Washington D.C: National Academy Press, pp. 465-470.
12. Saura-Calixto, F.; Goñi, I.; Mañas, E. (1993). Resistant Starch in Foods: Modified Method for Dietary Fiber Residues. *J. Food Sc* **58** 642-643.
13. Holm, J.; Björck, I.; Drews, A.; Asp, N.G. (1986). A Rapid Method for the Analysis of Starch. *Starch/Starke* **38** 224-226.
14. Tovar, J. y cols. (2000). Almidón total. En: Métodos de caracterización de carbohidratos. Proyecto de Investigación Precompetitiva XI.8. Editado por Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, pp. 72-73.
15. Holm, J. (1988). Factors Affecting Enzymatic Availability of Starch *in vitro* and *in vivo*. Tesis de doctorado. Universidad de Lund. Suecia.
16. Hettiarachy, N.S.; Ziegler, G.R. (1994). Protein Functionality in Food Systems. Marcel Dekker, (8), pp. 225-227.
17. Haase, N. U. (1991). A Characterization of Faba Bean Starch (*Vicia faba* L.). *Starch/Starke* **43** (6). 205-208.
18. Liu, H.; Ramsden, L.; Corke, H. (1998). Physical Properties and Enzymatic Digestibility of Acetylated ae, wx, and Normal Maize

- Starch. *Carbohydrate Polymers* **34** 283-289.
19. Goñi, I.; García-Díaz, L.; Mañas, E.; Saura-Calixto, F. (1995). Analysis of Resistant Starch: A Method for Foods and Food Products. *Food Chemistry* **56** 445-449.
20. García-Alonso, A.; Goñi, I.; Saura-Calixto, F.; (1998). Resistant Starch and Potential Glycemic Index of Raw and Cooked Legumes (Lentils, Chickpeas and Beans). *Z Lebensm Unters Forsch* **206** 284-287.
21. Tovar, J. (1996). Almidones resistentes: Propiedades, análisis, producción e interés industrial. *Conferencia Internacional de Almidón*, Quito, Ecuador, pp. 213-218.
22. Tovar, J.; Melito, C. (1996). Steam-cooking and Dry Heating Produce Resistant Starch in Legumes. *J of Agric and Food Chem* **44** 2642-2645.
23. Tovar, J.; Melito, C.; Herrera, E.; Laurentin, A.; Pérez, E. (1999). Starch Modification from a Nutritional Point of View. *Agro-Food Ind. Hi-Tech* **10** (2) 27-30.
24. Santacruz, P.; Ruales, J. (1998). Obtención y caracterización de almidones modificados químicamente a partir de almidón de achira (*Canna edulis*) y yuca (*Manihot esculenta*). Seminario del Proyecto de Investigación Precompetitiva XI.8, septiembre 2-4, (Baños) Ecuador.