

## COMPARACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOS-QUÍMICOS EN LA PRODUCCIÓN DE ALMIDÓN RESISTENTE

Néder-Suárez D,<sup>a\*</sup>, Quintero-Ramos A<sup>b</sup>, Amaya-Guerra C<sup>a</sup>, Galicia-García, T., Aguilar-Palazuelos E<sup>c</sup>.

a Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Pedro de Alba s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66450, San Nicolás de Los Garza, Nuevo León, México. \*neder\_david@yahoo.com.mx

b Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Ciudad Universitaria s/n, C.P. 1542-C, Chihuahua, Chihuahua, México.

c Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Apdo. Postal 1354, Culiacán, Sin., C.P. 80000, México

### RESUMEN:

El objetivo de este estudio fue comparar la formación de almidón resistente mediante dos procesos: extrusión y autoclave. Se utilizó almidón de maíz nativo que se hidrolizó con tres tipos de ácidos: cítrico, fosfórico y clorhídrico a una concentración de 2 N. En el primer proceso el almidón nativo e hidrolizado fue sometido a proceso de extrusión por medio de un extrusor de doble tornillo bajo condiciones óptimas de temperatura (90,100, 110 °C), velocidad de tornillo (220 rpm) y contenido de humedad (22%) y almacenamiento a 4 °C por 120 h. En el segundo proceso el almidón fue sometido a calentamiento (autoclave 121 °C) y enfriamiento en 3 ciclos por un periodo de 72 h. Los productos extruidos y sometidos a autoclave para cada condición experimental se les determinó cambios en almidón resistente así como evaluación microestructural. La mejor condición para la formación máxima de almidón resistente (13160 mg AR / 100 g de muestra) se obtuvo con el almidón hidrolizado con ácido clorhídrico y procesado mediante autoclave.

### ABSTRACT:

The objective of this study was to compare the formation of resistant starch obtained by two processes, extrusion and autoclaving. Native corn starch hydrolyzed with three different acids: citric, phosphoric and hydrochloric 2 N was used. During the first process native and hydrolyzed corn starch was submitted to extrusion process using a twin screw extruder under optimal conditions of temperature (90, 100, 110 °C), screw speed (220 rpm) and moisture content (22%) and store at 4°C for 120 h. During the second process the starch was submitted to heating (autoclaving 121 °C) and cooling by three cycles during 72 h. The extruded and autoclaved products for each experimental condition were determined changes in resistant starch and microstructural evaluation. The best condition for maximum formation of resistant starch (13160 mg RS / 100 g sample) was obtained by hydrolyzed starch with hydrochloric acid under autoclaving.

### Palabras clave:

Extrusión, autoclave, hidrólisis, almidón resistente.

### Keyword:

Extrusion autoclaving, hydrolysis, resistant starch.

**Área:** Cereales, Leguminosas y Oleaginosas

### INTRODUCCIÓN

El almidón resistente (AR) se define como el almidón o productos de degradación del almidón que escapa a la digestión en el intestino delgado de individuos sanos y pueden estar completa o parcialmente fermentada en el colon (Englyst et al., 1992), promoviendo el desarrollo de la flora microbiana benéfica. Su elaboración generalmente implica una hidrólisis ácida, tratamientos hidrotérmicos, calentamiento, retrogradación, modificaciones químicas y repolimerización, que conducen a la obtención de diferentes tipos de almidones con diferentes características fisicoquímicas y aplicaciones. Los almidones tipo 1 es almidón físicamente

inaccesible encontrados en granos molidos, semillas y leguminosas; en el tipo 2 se ubican gránulos de almidón crudo (como plátano y papa) y alto en amilosa (almidón de maíz), en el tipo 3 se encuentran almidones retrogradados, provenientes de un proceso de gelatinización o una dispersión de los gránulos, generando cristales de amilosa (Thompson., 2000) y el tipo 4, son almidones modificados químicamente para obtener resistencia a la digestión enzimática como almidones entrelazados por enlaces ésteres (Kim et al., 2006; Perera et al. 2010; Thompson, 2000). Estos se analiza como fibra dietética insoluble pero actúa como fibra dietética soluble, es un ingrediente no calórico por lo que no contribuyen a aumento de la glucosa en la sangre (Faraj et al., 2004). La modificación acida es ampliamente utilizada en la industria, los almidones son producidos por tratamiento con un ácido por debajo de la temperatura de gelatinización, cambiando las propiedades fisicoquímicas sin destruir su estructura granular. La tasa de retrogradación de geles de almidón-ácido aumentan con el tiempo de hidrólisis, incrementando la solubilidad, la fuerza del gel y disminuyendo la viscosidad de los almidones (Ozturk et al., 2011), combinada con tratamientos térmicos incrementan la cantidad de AR. El uso del proceso de extrusión ofrece soluciones a estas prácticas de obtención, ya que puede ser utilizado en un proceso continuo (Moad., 2011, Stojceska et al., 2010), que involucra esfuerzos mecánicos y temperatura (Hagenimana et al., 2006) para producir cambios químicos en el producto, incluyendo gelatinización del almidón parcial o completa mediante la destrucción de la estructura cristalina y fragmentación de los polímeros de almidón (Hagenimana et al., 2006), entrecruzamiento de las proteínas, y la generación de sabores (Kim et al., 2006). La extrusión tiene la ventaja, en la obtención de una excelente mezcla de los componentes y tiempos cortos de proceso normalmente en un intervalo de 2-5 min (Moad, 2011) con una alta productividad, variedad de formas, y ahorro de energía (Faraj et al., 2004, Kim et al., 2006). Una vez obtenido el AR se puede emplear como ingrediente en productos alimenticios mejorando sus características fisicoquímicas contribuyendo a la salud de los consumidores (Fuentes et al. 2010). El objetivo de esta investigación es determinar el efecto de la hidrólisis de diferentes ácidos en el almidón nativo de maíz y comparar la producción de almidón resistente bajo dos procesamientos térmicos para determinar la mejor estrategia de producción.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Materia prima**

Almidón nativo de maíz comprado en un mercado local (Monterrey, México), marca GPC lote# S1403905.

### **Hidrólisis de almidón.**

Se llevo a cabo conforme a Nasrim and Anal., (2014). Lotes de almidón de maíz se hidrolizo en tres soluciones de ácidos diferentes: clorhídrico, cítrico y fosfórico, todas a una concentración de 2N en relación de (1/1.5), a temperatura de 50 °C por un periodo de 3 horas. Posteriormente se llevo la solución a un pH de 6.5 con NaOH al 10%. Se centrifugo la solución a 4000 g eliminando el sobrenadante y lavando el precipitado con agua destilada, el proceso se llevo a cabo dos veces. El precipitado fue secado a 50°C por un periodo de 12 horas en un horno de convección hasta alcanzar un contenido de humedad entre 8-10%. Posteriormente Fue molido en un (Pulvex model 200, Mexico, D.F.) y tamizados a malla No. 80 (177 µm), para ser almacenados en bolsas de plástico para su posterior análisis.

### **Acondicionamiento del almidón**

Almidón nativo de maíz e hidrolizado fue hidratado con agua suficiente para alcanzar un contenido de humedad del 22%. El almidón hidratado fue mantenido en refrigeración a 4 °C por 24 horas en bolsas de plástico para su acondicionamiento. El contenido de humedad fue comprobado mediante un analizador de humeado (Ohaus® MB 45).

### **Proceso de extrusión**

Lotes de almidón nativo e hidrolizado fueron sometidos a una condición óptima de proceso previamente determinada, alimentado a un flujo másico de 7 Kg/h en un extrusor de doble tornillo corrotatorio nivel laboratorio marca (Shandong Light M&E Co. Ltd modelo LT65L), con una temperatura controlada de las chaquetas de calentamiento de 90, 100 y 110 °C y velocidad de tornillo de 220 rpm. El producto extrudido se almacenó a una temperatura de 4 °C por 120 horas en bolsas de plástico y posteriormente secados en un horno de convección con flujo de aire a 50 °C por 8 horas hasta alcanza una humedad entre 8-10 %. Los productos extrudidos fueron molidos en un (Molino Pulvex model 200, Mexico, D.F.) y tamizados a malla No. 80 (177 µm) y almacenados en bolsas de plástico para su posterior análisis.

### **Proceso de autoclave**

Almidón nativo e hidrolizado respectivamente fue suspendido en agua (01:10) y gelatinizados a 85 °C durante 30 min. La muestra se trató en autoclave a 120 °C durante 60 min seguido un enfriamiento y almacenado a 4 °C durante 24 h. Este proceso de autoclave y almacenamiento repitió tres veces a la misma temperatura y tiempo (72 h/ tiempo de almacenamiento total) para cada muestra (Nasrim and Anal., 2014). Posteriormente secados en un horno de convección con flujo de aire a 50 °C por 8 horas hasta alcanza un contenido de humedad entre 8-10 %. Los productos fueron molidos (Molino Pulvex model 200, México, D.F.) y tamizados a malla No. 80 (177 µm), y almacenados en bolsas de plástico para su posterior análisis.

### **Almidón resistente (AR)**

La determinación de almidón resistente (AR) se realizó por el método enzimático de acuerdo a Goñi et al. (1996), mediante el kit enzimático (Megazyme International Ireland Ltd. Co. Wicklow, Ireland), basado en el método 2002.02 de la AOAC.

### **Microscopia electrónica de barrido**

Para el estudio microestructural de las muestras extrudidas y almacenada se utilizó un microscopio electrónico de barrido (Joel Jsm-5800 LV), muestras tamizadas a malla 100 con una humedad menor al 2% fueron fijadas a cilindros conductores con cinta de grafito de doble cara conductora, bañados con una fina capa de oro, utilizando un ionizador de metales (Denton Vacuum Desk II) hasta alcanzar una presión de 6.66 Pa por un tiempo de 15 min. La evaluación microscópica se realizó a una amplificación de 750x para cada tratamiento.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Almidón resistente**

En la figura 1 se muestra la cantidad de almidón resistente generada después de la extrusión y su almacenamiento a baja temperatura, mostrando diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al tratado con ácido clorhídrico produciendo una cantidad máxima de 1710 mg/100g

de muestra después del almacenamiento, posiblemente por las condiciones de extrusión, especialmente esfuerzo de corte del tornillo del extrusor, causan la degradación de la amilosa en moléculas de menor grado de polimerización, que no podrían ser incorporadas a la estructura cristalina y por lo tanto, en una baja formación de AR (González et al. 2007).

La figura 2 muestra la cantidad de AR de almidón nativo e hidrolizado, mostrando diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en el AR obtenido con el tratamiento con ácido clorhídrico que resultó con incrementos hasta 2104 mg AR/100g de muestra. La figura 2 muestra la cantidad de AR del almidón nativo e hidrolizado después de diversos ciclos de autoclave y enfriamiento, teniendo un incremento considerable de AR hasta niveles de 13160 mg AR/100g para el tratamiento con HCl. Esto se atribuye al tratamiento ácido, que hidroliza la amilopectina formando moléculas lineales de almidón (Dundara and Gocmen., 2013) favoreciendo una mejor nucleación y una elongación en las cadenas durante la formación de la estructura de doble hélice, durante el enfriamiento, fenómeno conocido como retrogradación (Faraj et al. 2004) incrementando la cantidad de AR.

### Análisis microestructural

En la Figura 3 muestra el almidón nativo, hidrolizado y extruido, en la figura 3a se muestra el almidón nativo con una forma redonda, elíptica con superficies lisa, sin defectos evidentes o signos de daños en la superficie con un tamaño aproximado de 15  $\mu\text{m}$  (Fannon et al, 1992). En la figura 3i se muestra un estándar de almidón resistente del kit enzimático (Megazyme International Ireland Ltd. Co. Wicklow, Ireland) con 52 %, en la cual se aprecia una aglomeración compacta de gránulos con un tamaño que varía entre 20 y 25  $\mu\text{m}$ . Este mismo patrón se observa en la figura 3f con aglomeraciones de gránulos de almidón, para el tratamiento de HCl sometido a diversos ciclos de autoclave y enfriamiento. La figura 3c, 3e y 3g se muestran almidones hidrolizados con ácido fosfórico, clorhídrico y cítrico respectivamente, en donde no se muestra daño en la estructura del almidón debido a una temperatura baja menor a la de gelatinización y un tiempo corto de procesamiento (Ozturk et al., 2013).

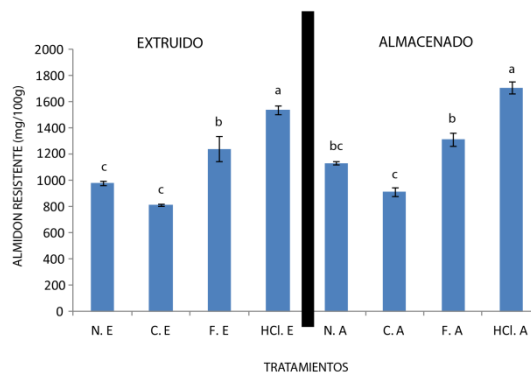


Figura 1. Comparación de almidón resistente entre tratamientos con almidón nativo e hidrolizado sometido a extrusión. N.E. (almidón nativo E.S.A), C.E. (almidón hidrolizado con ácido cítrico E.S.A), F.E. (almidón hidrolizado con ácido fosfórico E.S.A), HCl.E (almidón hidrolizado con ácido clorhídrico E.S.A), N.A. (almidón nativo E.C.A), C.A. (almidón hidrolizado con ácido cítrico E.C.A), F.A. (almidón hidrolizado con ácido fosfórico E.C.A), HCl.A (almidón hidrolizado con ácido clorhídrico E.C.A). E.S.A (extruido sin almacenamiento), E.C.A (extruido con almacenamiento a baja temperatura), letras diferentes por tratamiento son significativamente ( $p < 0.05$ ).

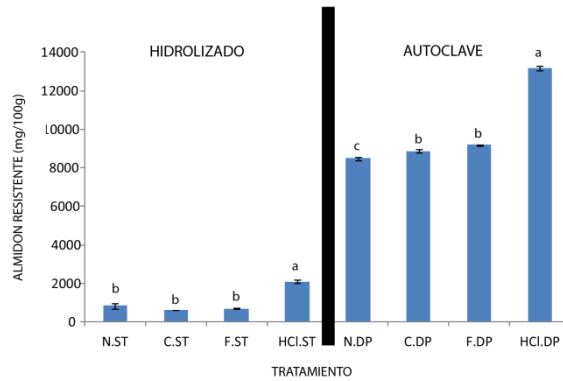


Figura 2. Comparación de almidón resistente bajo proceso de autoclave .N.ST (almidón nativo), C.ST (almidón hidrolizado con ácido cítrico), F.ST (almidón hidrolizado con ácido fosfórico), HCl.ST (almidón hidrolizado con ácido clorhídrico), N.DP (almidón nativo C.A.E), C.DP (almidón hidrolizado con ácido cítrico C.A.E), F.DP (almidón hidrolizado con ácido fosfórico C.A.E), HCl.DP (almidón hidrolizado con ácido clorhídrico C.A.E). C.A.E (ciclos de autoclave e enfriamiento), letras diferentes por tratamiento son significativamente ( $p < 0.05$ ).

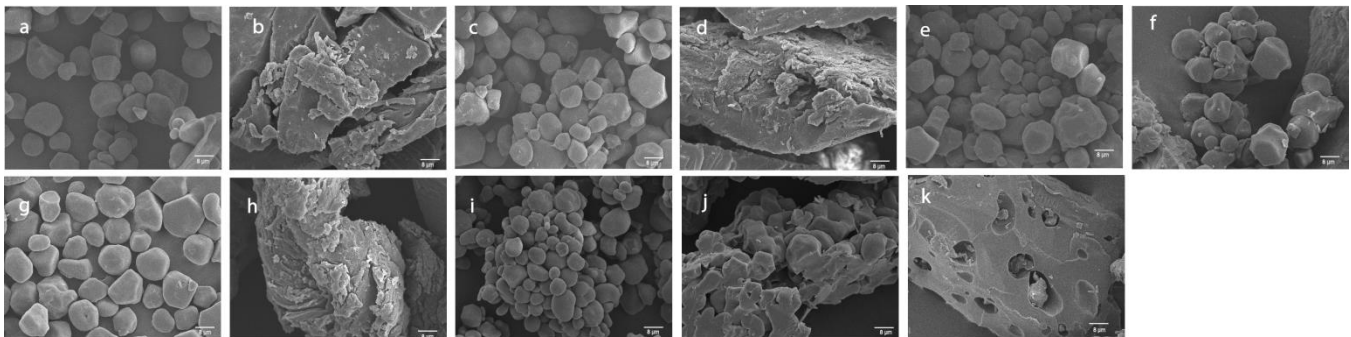


Figura 3. Micrográficas de métodos de obtención de AR. a (almidón nativo), b (almidón nativo mas autoclave), c (almidón hidrolizado con ácido fosfórico), d (almidón hidrolizado con ácido fosfórico mas autoclave), e (almidón hidrolizado con ácido clorhídrico), f (almidón hidrolizado con ácido clorhídrico mas autoclave), g (almidón hidrolizado con ácido cítrico), h (almidón hidrolizado con ácido cítrico mas autoclave), i (estándar de AR), j (estándar de AR mas autoclave), K (almidón nativo extruido).

La figura 3k se aprecia la pérdida de la estructura granular del almidón nativo por proceso de extrusión, como consecuencia de las altas temperaturas, esfuerzos mecánicos y alta presión, produciendo gelatinización y destrucción de la estructura, formando estructuras amorfas con poros en su estructura, debido a la evaporación de agua a la salida del extrusor (Vasanthan et al., 2002 y Faraj et al., 2004). Las figuras 3b, 3d, 3h se muestra el almidón hidrolizado y sometido a diferentes ciclos de autoclave y enfriamiento, donde el AR se observa como una estructura tipo esponja sobre las estructuras de almidón gelatinizado (Reddy et al., 2014).

## CONCLUSIONES

El mejor proceso de formación de almidón resistente fue por ciclos de autoclave e enfriamiento produciendo niveles máximos de 13160 mg AR/100g de muestra para el almidón hidrolizado con ácido clorhídrico, con semejanzas microestructuralmente con el control comercial de AR.

## BIBLIOGRAFÍA

Dundara, A , Gocmen D. 2013. Effects of autoclaving temperature and storing time on resistant starch formation and its functional and physicochemical properties. Carbohydrate Polymers 97:764-771

- Englyst, H. N., Kingman, S. M., Cummings, J. H. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46, S30S50.
- Fannon J, Hauber R, and Bemiller J. 1992. Surface pores of starch granules. *Cereal Chemistry* 69:284-288
- Faraj A, Vasanthan T, Hoover R. 2004. The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours. *Food Research International* 37: 517-525.
- González R.H, Sánchez, L, Solorza, J, Núñez, J, Flores, E, Bello, L. A. 2006 Resistant Starch Production from Non-conventional Starch Sources by Extrusion. *Food Science and Technology International* 12(1): 5-11
- Hagenimana A, Ding X, Fang T. 2006. Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. *Journal of Cereal Science* 43: 38–46.
- Kim J, Tanhehco E, Ng P. 2006. Effect of extrusion conditions on resistant starch formation from pastry wheat flour. *Food Chemistry* 99: 718-723.
- Lehmann U, Jacobasch G, Schmiedl D. 2002. Characterization of Resistant Starch Type III from Banana (*Musa acuminata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 5236-5240.
- Thompson D. 2000. Strategies for the manufacture of resistant starch. *Trends in Food Science and Technology* 11; 245-253.
- Moad G. 2011. Chemical modification of starch by reactive extrusion. *Progress in Polymer Science* 36: 218-237.
- Ozturk S, Koksel H, Ng P K.W. 2011. Production of resistant starch from acid-modified amylopectin starches with enhanced functional properties. *Journal of Food Engineering* 103: 56–164
- Nasrin T, Anal A. 2014. Resistant starch III from culled banana and its functional properties in fish oil emulsion. *Food Hydrocolloids* 35: 403-409
- Perera A, Meda V, Tyler R. 2010. Resistant starch: A review of analytical protocols for determining resistant starch and of factors affecting the resistant starch content of foods. *Food Research International* 43: 1959-1974.
- Reddy C, Haripriya S, Mohamed A, Suriya M. 2014 Preparation and characterization of resistant starch III from elephant foot yam (*Amorphophallus paeonifolius*) starch. *Food Chemistry* 155: 38–44
- Stojceska V, Ainsworth P, Plunkett A, Ibanoglu S. 2010 The advantage of using extrusion processing for increasing dietary fibre level in gluten-free products. *Food Chemistry* 12; 156-164
- Vasanthan, T, Jiang, G, Yeung, J, Li, J. 2002 Dietary fiber profile of barley flour as affected by extrusion cooking. *Food Chemistry* 77, 35–40