

Calorimetría diferencial de barrido y rayos-x del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada

P. Rodríguez, M. E. San Martín y G. González de la Cruz^a

Centro Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del I.P.N.

Legaria 694, Col. Irrigación, 11500 México, D.F.,

^aDepartamento de Física, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del I.P.N.

Apdo. Postal 14-740, 07000 México, D.F.

En los gránulos de los cereales, el almidón se encuentra principalmente en el endospermo, en menor proporción en el germen y pericarpio. El almidón está constituido por dos tipos de polímeros; amilosa y amilopectina en una proporción del 15-30% y del 85-70% respectivamente. El almidón estudiado en este trabajo ha sido obtenido en los laboratorios de CICATA-IPN usando un proceso novedoso y sin producir efluentes denominado nixtamalización fraccionada. El fenómeno de gelatinización del almidón es estudiado experimentalmente usando la técnica de calorimetría diferencial de barrido y explicado en términos de la teoría de Flory. El espectro de rayos X del almidón obtenido por el proceso de nixtamalización fraccionada muestra un espectro del tipo A típico del almidón del maíz reportado en la literatura.

Amylose and amylopectine do not exist free in nature, but as component of discrete, semicrystalline aggregates called starch granules. The starch used in this work has been obtained at CICATA laboratories by means of the fractionated milling process. When purified corn-starch granules are heated in the presence of limited amount of water, two endothermic transitions are observed by differential scanning calorimetry (DSC). The lower temperature endotherm is always observed at fixed temperature, it is the only endotherm observed when excess water is present. The higher temperature endotherm is observed at increasing temperature as the water content is decreased. The shift of the higher temperature endotherm is interpreted as the lowering of the melting point of starch crystallites by solvent water. These phase transitions of starch are explained using the Flory theory. Furthermore, on the basis of X-ray crystallography, detailed structural analysis of amylose, amylopectine and starch are reported. The X-ray spectrum of the starch obtained by the fractionated milling process is similar to that of the spectrum of the starch type A reported in previous experiments.

Keywords: Differential scanning calorimetry; Polymers; X-ray

1. Introducción

En los cereales, el almidón se encuentra almacenado principalmente en el endospermo, en menor proporción en el germen y pericarpio. El gránulo de almidón se compone principalmente de dos polímeros, amilosa y amilopectina.¹ La molécula de amilosa es una cadena lineal con enlaces α -(1,4)-D la cual dentro del gránulo de almidón tiene forma de hélice, mientras que la molécula de amilopectina, además de los enlaces entre las moléculas D-glucopiranosas similares a los de la molécula de la amilosa, presenta también ramificaciones en los enlaces α -(1-6)-D.

Se han realizado diversos estudios analizando la estructura cristalina del gránulo de almidón. Katz y colaboradores fueron los primeros en realizar estudios de difracción por rayos X en ángulo grande (WAXS) para distinguir los dos principales tipos de patrones de la estructura cristalina de los gránulos del almidón.² Actualmente se ha aceptado que los almidones de cereales presentan un patrón tipo A, los almidones de tubérculos presentan un patrón tipo B, y en almidones de ciertas raíces y semillas dan un patrón tipo C, que es una mezcla

intermedia del patrón tipo A y B. Otro tipo de patrón es el V, y que es característico cuando se forma un complejo de inclusión ó clatrato en el interior de la hélice de la amilosa (Fig.1).³ La estructura cristalina del gránulo de almidón ha sido atribuida directamente a la amilopectina.⁴

Análisis de Rayos-X a bajo ángulo muestra que el gránulo del almidón está formado de regiones amorfas y regiones cristalinas.⁵ La parte amorfa del gránulo del almidón está formada esencialmente por la amilosa, mientras que la región cristalina está formada por cúmulos paralelos de cadenas cortas (50-60Å) en la amilopectina, la cual así mismo, presenta regiones amorfas y regiones altamente cristalinas. Las regiones amorfas están asociadas a los puntos ramales de la amilopectina mientras que la región cristalina se debe a los planos formados por los cúmulos y las cadenas lineales de la amilosa en la molécula de la amilopectina.

En los rangos de temperatura en la cual la gran mayoría de los alimentos son sometidos a la acción del calor o procesados, el almidón experimenta cambios físicos y químicos. En general, las diferentes transformaciones que ocurren son dependientes de la cantidad de agua presente,

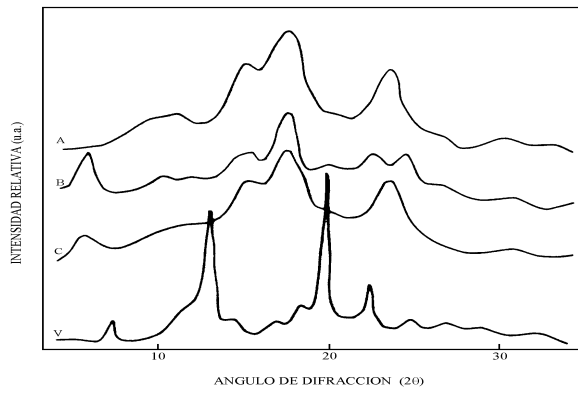


Figura 1. Diffractograma de almidones de diferente fuente botánica. (A) cereales, (B) tubérculos, (C) una mezcla intermedia del patrón tipo A y B, (V) patrón característico que se forma de un complejo de inclusión o clatrato formado en el interior de la hélice de la amilosa.

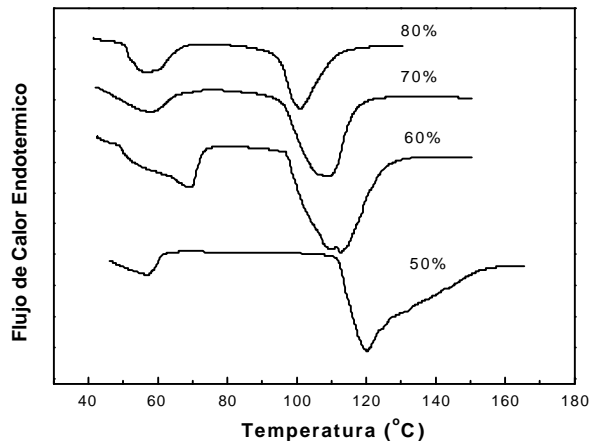


Figura 2. Termograma del endospermo obtenida por DSC en función de la temperatura

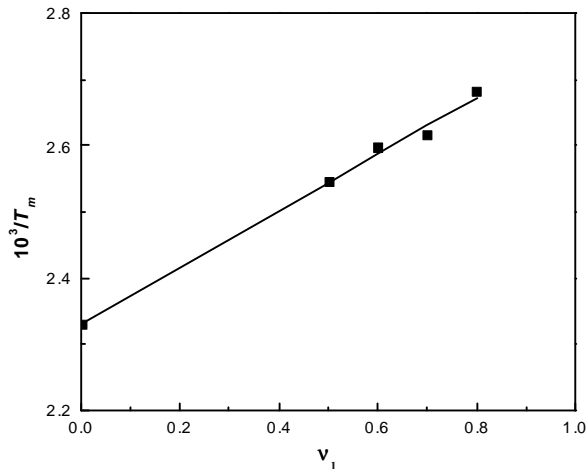


Figura 3. Gráfica de $1/T_m$ como función de la concentración de agua para endospermo.

hidratado y calentado, se observan cambios químicos, de textura y estructurales los cuales influyen de manera considerable en la calidad del producto final cuando éste es incorporado, por ejemplo en la fabricación de pan, tortillas y jugos.

El proceso de gelatinización es la pérdida del orden molecular (colapso molecular) que se manifiesta dentro del gránulo del almidón. 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, aumento en la viscosidad y la solubilidad del gránulo, son solo algunos de los cambios estructurales inducidos por tratamientos térmicos en el almidón.⁶ 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 grano.

Los esfuerzos a realizarse en la búsqueda de nuevas tecnologías para la nixtamalización del maíz deben ser muy grandes, una vez que el consumo de tortillas percapita en México es de alrededor de 130kg anuales y se consumen el 54.3% del total de maíz producido, que alcanza a 16.4 millones de toneladas sin incluir 3.5 millones de toneladas de maíz importado. También genera mas de 130,000 empleos, el 70% de los campesinos se dedican al cultivo del maíz y los productos nixtamalizados aportan el 70% de las calorías y la mitad de las proteínas de la dieta de algunas poblaciones. Por los resultados estadísticos se puede indicar que la cadena productiva del maíz representa uno de los sectores de mayor impacto socio-económico del país. Pero las nuevas tecnologías a generarse bajo la justificación anterior, también tendrán que tener en cuenta aspectos ecológicos, nutricionales y sensoriales, es decir, generar el mínimo de efluentes, bajo consumo de energía, altos rendimientos de proceso, mantener los niveles nutricionales y sensoriales. En la búsqueda de esta tecnología, el Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del IPN (CICATA-IPN), ha desarrollado el método de nixtamalización fraccionada como una alternativa para la obtención de harina instantánea nixtamalizada,⁷ es decir realizar la nixtamalización del pericarpio y del endospermo por separado ya que en este proceso sufren modificaciones diferentes y por lo tanto influyen sustancialmente en la elaboración de las tortillas.

Es de nuestro interés en este trabajo, estudiar las transiciones de fase del proceso de gelatinización del almidón obtenido en la etapa inicial del proceso de nixtamalización fraccionada usando la técnica de calorimetría diferencial de barrido⁸ (DSC por sus siglas en inglés) y obtener las temperaturas de transición de fase del almidón. Los experimentos muestran que la temperatura de gelatinización depende de la concentración de agua y además existe un corrimiento hacia mayores temperaturas conforme la concentración de agua disminuye. Paralelamente el espectro de rayos X que se obtiene del almidón es similar al de los cereales.

la temperatura y la razón del flujo calorífico que se le suministra durante el proceso. Cuando el almidón es

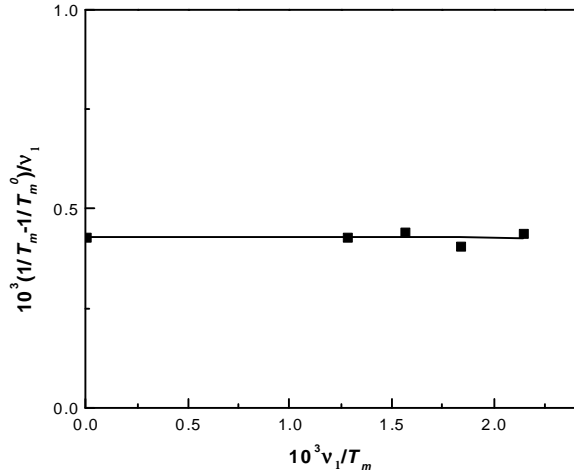


Figura 4. Gráfica de $1/T_m$ de acuerdo a la ecuación (3). La línea recta representa el mejor ajuste

2. Teoría

Calorimetría diferencial de barrido es una técnica termoanalítica que se usa para monitorear los cambios en la energía térmica asociados con las transformaciones físicas y químicas de los materiales como función de la temperatura. Por ejemplo, transiciones de una estructura cristalina a una estructura amorfa en un sólido, reacciones químicas, etc. En ambas transformaciones calor es liberado o absorbido. En tecnología de alimentos existen numerosos ejemplos en los cuales algunas sustancias experimentan cambios físicos y/o químicos cuando se les suministra o extrae calor como: cambios de fase en agua, grasas y lípidos, desnaturalización de proteínas y gelatinización de almidones.

En particular, los termogramas obtenidos de almidón por la técnica de DSC nos permiten identificar las transiciones de fase del sistema, y estos se pueden explicar mediante la teoría de equilibrio de fases en sistemas poliméricos desarrollada por Flory en 1949.⁹ En equilibrio termodinámico entre la fase líquida y el polímero cristalino, el potencial químico del polímero en las dos fases debe ser igual $m_u = m_u^c$. La temperatura a la cual las dos fases en el polímero coexisten se denomina la temperatura de fusión (*melting temperature*) T_m la cual depende de la composición de la fase líquida. Si la solución acuosa no está presente entonces $m_u = m_u^0$ donde m_u^0 es el potencial químico de la fase cristalina pura. A la temperatura de fusión T_m^0 del polímero puro $m_u^0 = m_u^c$. De acuerdo a Flory, la condición de equilibrio entre el polímero cristalino y la solución esta dado por la relación

$$m_u^c - m_u^0 = m_u - m_u^0 \tag{1}$$

usando esta ecuación, la relación termodinámica entre la temperatura de fusión de la fase cristalina en equilibrio y la concentración de la fase líquida, esta dada por

$$\begin{aligned} 1/T_m - 1/T_m^0 = \\ (R/\Delta H_u)(V_u/V_1)(n_1 - c n_1^2) \end{aligned} \tag{2}$$

donde R es la constante de los gases ideales, H_u es el calor o entalpía de fusión por unidad de la cadena del polímero (glucosa en amilosa o amilopectina), V_u/V_1 es la razón del volumen molar de la unidad del polímero (monómero de D-glucosa) entre el volumen molar de la solución acuosa, n_1 es la fracción del solvente y c es un parámetro adimensional que representa la interacción entre el polímero y la solución y es definido como

$$c = \frac{z}{2k_B T} [\epsilon_{pp} + \epsilon_{ss} - 2\epsilon_{ps}]$$

donde ϵ_{pp} es la energía de interacción polímero-polímero, ϵ_{ps} es la interacción polímero solvente y ϵ_{ss} es la interacción solvente- solvente, y z es el número de coordinación.

Nótese que cuando el parámetro de interacción entre el polímero cristalino y la solución es cero, la ecuación (2) da una relación lineal entre $1/T_m$ y la fracción de volumen de la solución acuosa n_1 . La intersección para cuando $n_1=0$, da el valor de la temperatura de fusión T_m^0 del polímero puro. La ecuación (2) también puede escribirse en la siguiente forma equivalente

$$\begin{aligned} (1/T_m - 1/T_m^0)/n_1 = \\ (R/\Delta H_u)(V_u/V_1) \left(1 - \frac{BV_1}{RT_m} n_1 \right) \end{aligned} \tag{3}$$

donde B es definido a través del parámetro de interacción como $c = BV_1 / RT_m$.

Un gráfico de Ec.3 como función de n_1 nos permite conocer el valor de la energía de transformación ΔH_u por extrapolación $n_1=0$ y la pendiente nos proporciona el valor de la energía de interacción B . El valor de B sirve para clasificar la calidad del solvente para un polímero dado. De los termogramas obtenidos del almidón en este trabajo, se muestra que el agua es un solvente pobre.

3. Procedimiento Experimental

Es importante hacer énfasis que el desarrollo tecnológico desempeña un papel determinante en la dinámica que hoy registra la industria de la tortilla en México, y CICATA-IPN esta realizando estudios para desarrollar la nixtamalización fraccionada como una alternativa para la obtención de harina instantánea, es decir, realizar el proceso de nixtamalización del pericarpio y del endospermo por separado.

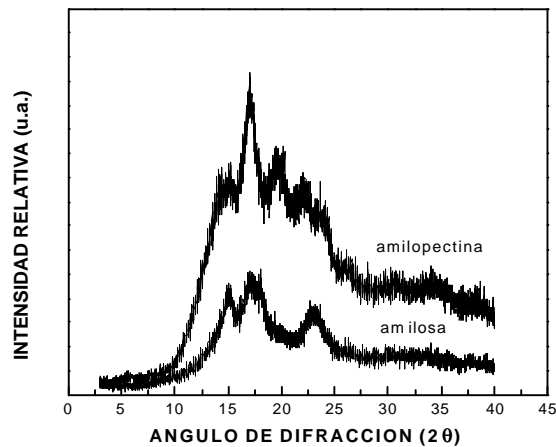


Figura 5. Espectro de rayos X de amilosa y amilopectina.

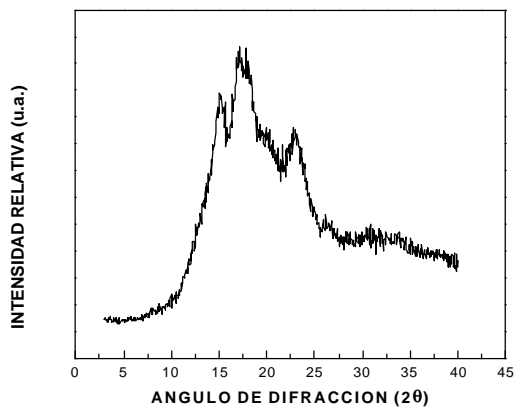


Figura 6. Espectro de rayos X de endospermo.

El proceso de nixtamalización fraccionada consiste de varias etapas: (1) limpieza del grano, (2) separación neumática del pericarpio, germen y endospermo, (3) nixtamalización de pericarpio y germen, (4) nixtamalización de endospermo, (5) mezclado de las dos fracciones nixtamalizadas, (6) molienda, (7) secado y envasado.

La separación neumática consiste de tres etapas: a) Acondicionamiento del grano, en el cual se coloca el grano en agua en una relación de una parte de maíz por 0.8 de agua, en tiempos de 5 a 10 minutos y a una temperatura de 50 °C para facilitar la extracción de pericarpio y endospermo. b) Descascarado con un prototipo diseñado y construido en CICATA-IPN, en el cual el grano acondicionado es descascarado por un sistema abrasivo, manteniendo constante el tiempo de residencia y velocidad de rotación en el descascarador en continuo (según pruebas preliminares). c) Separación neumática realizada con un equipo Raymond 63041, obteniendo endospermo por un lado y pericarpio y germen por otro.

Para las mediciones en el DSC, se utilizó endospermo en polvo obtenido en la etapa de separación neumática del proceso de nixtamalización fraccionada, las muestras de endospermo se prepararon a diferentes concentraciones de

agua (80%, 70%, 60% y 50%). Las muestras se colocaron en cápsulas de aluminio (10 mm de diámetro y 5 mm de altura), se sellaron herméticamente para evitar la evaporación de agua, dejándose en reposo durante 1 hr. Posteriormente se midieron en un equipo de DSC Perkin-Pyris-1 a una razón de calentamiento de 10 °C/min. y los termogramas se corrieron en un rango de 40 – 130°C.

Se utilizaron muestras en polvo de amilosa y amilopectina comercial de Sigma Chemical Co., y el endospermo de maíz en polvo obtenido en la etapa de separación neumática del proceso de nixtamalización fraccionada. Los patrones de difracción de rayos X se obtuvieron usando un equipo Siemens D5000, con una línea de radiación Cu K ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$), con una diferencia de potencial de 30 kV y una densidad de corriente de 20 mA. Las muestras se registraron entre 5 y 40 grados (2θ) con un paso angular de 0.05° y un tiempo de conteo por paso angular de 15 segundos. El material se colocó en un portamuestra de aluminio de área de 30 mm por 30 mm a temperatura ambiente y baja humedad. Desafortunadamente el patrón de difracción de rayos X no se puede realizar en función de la temperatura utilizando este equipo.

4. Discusión y resultados

En la Fig.2 se muestran los termogramas del almidón para diferentes concentraciones de agua obtenidas por el DSC. Como puede apreciarse, aparecen dos transiciones de fase características del almidón. Para el almidón la primera transición de fase ocurre a una temperatura del orden de 60°C. Alrededor de este rango de temperatura el agua actúa como un plastificante. A esta temperatura, los polímeros con bajo peso molecular, particularmente las moléculas de la amilosa, empiezan a separarse del gránulo del almidón. Conforme la temperatura aumenta, los gránulos del almidón comienzan a colapsar hasta que finalmente la parte amorfa (amilosa) queda totalmente solubilizada, mientras que la parte cristalina del almidón se mantiene en la solución acuosa.

La segunda transición de fase ocurre a temperaturas del orden de los 100°C, para la cual se lleva a cabo la fusión de los cristales. Como puede observarse conforme disminuye la concentración de agua la temperatura de fusión de los cristales se corre a mayores temperaturas.

En la Fig. 3 se muestra el gráfico del inverso de la temperatura de fusión como función de la concentración de agua, donde los puntos representan la posición del valor mínimo de los termogramas del almidón a la temperatura de fusión.

La línea recta corresponde al ajuste de los puntos experimentales y por extrapolación es posible calcular la temperatura de fusión de los cristales en ausencia de agua. Para el almidón obtenido por el método desarrollado en CICATA-IPN, se obtuvo $T_m^o = 429^\circ\text{K}$. Una vez, que la temperatura T_m^o ha sido determinada, los valores de los

otros dos parámetros se deducen del gráfico $(1/T_m - 1/T_m^o)/n_1$ como función de n_1 .

De acuerdo a la ecuación (3) la intersección con $n_1=0$ (ver Fig. 4), se obtiene el valor del cambio en la entalpía; para el endospermo $H_u=27.4$ kcal/mol *D*-glucosa. Este valor es del orden de las entalpías obtenidas para el almidón de papa.³ De la derivada de esta línea recta se obtiene la energía de interacción entre los cristales y la solución acuosa; para el endospermo $B= RT/V_1=0.28$ cal/ml. Para estos cálculos se consideró $V_u=85$ ml/mol, $V_u/V_1=6$.

Finalmente, se realizaron medidas de difracción de rayos X en polvo con el fin de comparar con los patrones ya reportados, cabe mencionar que es de nuestro interés mostrar la calidad cristalina de amilosa y amilopectina comercial, con la del endospermo obtenido en la etapa de separación neumática del proceso de nixtamalización fraccionada.

En la Fig.5 se muestran los espectros de difracción de rayos X evidenciando la estructura parcialmente cristalina de los polímeros mencionados anteriormente. El espectro de difracción de rayos X de la amilosa se observa que es similar al patrón normal tipo B del almidón proveniente de tubérculos como se muestra en la Fig.1, esta estructura cristalina que presenta posiblemente sea debido a pequeñas ramificaciones en su estructura. Mientras que el espectro de la amilopectina es similar al patrón de rayos X de los cereales tipo A.

Como se puede apreciar la cristalinidad en el gránulo del almidón se puede atribuir principalmente al polímero de la amilopectina. Dicho resultado está de acuerdo con el modelo del grano del almidón obtenido por rayos X a bajo ángulo. En este modelo el polímero de la amilopectina está embebido en una matriz amorfa (amilosa), y la amilopectina está formada por regiones amorfas y regiones cristalinas alternadas periódicamente. La parte cristalina de la amilopectina es debida a los cúmulos de cadenas cortas de los enlaces glucosídicos (D-1,4).

Por otra parte, el espectro de difracción de rayos X en la Fig.6 corresponde al endospermo obtenido en CICATA-IPN y se puede observar que cristaliza en forma similar al patrón de rayos X tipo A, que proviene de los cereales como se muestra en la Fig.1. Es importante señalar que la técnica de separación neumática utilizada nos proporciona un producto de maíz con un alto contenido de almidón.

5. Conclusiones

En conclusión, en este trabajo hemos obtenido los termogramas del endospermo obtenido en la etapa de separación neumática del proceso de nixtamalización fraccionada para diferentes concentraciones de agua, de los cuales pudimos obtener la temperatura de fusión de los cristales en ausencia de agua, así como la energía necesaria para fundirlos.

Los resultados que se obtuvieron para el endospermo se pueden comparar con los siguientes valores reportados por Donovan para el almidón de papa: $T_m^o = 441^\circ\text{K}$, $H_u=13.5$ kcal/mol *D*-glucosa, y $B=3.5$ cal/ml, por lo tanto, como se puede apreciar el valor de B para el endospermo comparado con el de papa significa que el agua actúa como un solvente pobre con el almidón de maíz.⁶

Adicionalmente se ha observado que la técnica empleada para la separación del endospermo y pericarpio del grano de maíz da como resultado la obtención de almidón con un alto grado de cristalinidad. Así mismo hemos comparado el grado de cristalinidad de la amilosa, el cual es menor que el grado de cristalinidad de la amilopectina. Este resultado está de acuerdo con el modelo del gránulo de almidón propuesto por Jenkins y col.⁵

Finalmente también se puede concluir que el endospermo obtenido por el método de separación antes mencionado, es factible, innovador y permite conservar intactas sus propiedades estructurales y fisicoquímicas del endospermo, además de que facilita el proceso de nixtamalización.

Referencias

- [1] D.J.Manners, *Cereal Foods World*, **30**, 461 (1985).
- [2] C.G. Biliaderis. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **69**, 60 (1991).
- [3] H.F. Zobel. *Starch/starke* **40**, 1 (1988).
- [4] R.E. Cameron and A.M. Donald. *Carbohydrate Research*. **244**, 225 (1993).
- [5] P.J. Jenkins, R.E. Cameron and A.M. Donald, *Starch/starke*. **45**, 417 (1993).
- [6] J.W. Donovan, *Biopolymers* **18** 263 (1979)
- [7] M.E. San Martín, M.J.L. Martínez and F.B. Martínez, *comunicación personal*
- [8] D.B. Lund *Physical Properties of Foods*, Micha Pelag and Edward B. Bagley Eds. AVI Publishing Company, INC (1983) p. 125
- [9] P.J. Flory *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell University Press, Ithaca (1953).