



**Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas,
Químicas y Naturales. Secretaría de Investigación y Postgrado. Maestría
en Tecnología de los Alimentos**

Maestranda
Ing. Valeria Daiana Trela

Obtención y caracterización de almidón acetilado de mandioca

**Tesis de Maestría presentada para obtener el título de “Magíster
en Tecnología de los Alimentos”**

“Este documento es resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto
queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899”.

Director
Dr. Oscar Alfredo Albani
Co-Directora
Dra. Nancy Noelia Lovera

Posadas, Misiones 2018



Esta obra está licenciado bajo Licencia Creative Commons (CC) Atribución-NoComercial-
CompartirIgual 4.0 Internacional. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, QUIMICAS Y NATURALES

Tesis de
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ALMIDÓN ACETILADO DE MANDIOCA

Valeria D. Trela

Director: Dr. Oscar A. Albani

Co-Directora: Dra. Nancy N. Lovera

2018

Nada ocurre por casualidad...

En el fondo, las cosas tienen su plan secreto, aunque nosotros no lo entendamos.

A mi papá

Jurado de Tesis:

Dra. Sonia SGROPPO
Evaluador Externo
Universidad Nacional del Nordeste
Fecha

Mgter. Laura MILDE
Evaluador Interno - FCEQyN
Universidad Nacional de Misiones
Fecha

Mgter. Sandra L. HASE
Evaluador Interno - FCEQyN
Universidad Nacional de Misiones
Fecha

Dr. Albani, Oscar Alfredo
Director de Tesis - FCEQyN
Universidad Nacional de Misiones
Fecha

Dra. Lovera, Nancy Noelia
Co-Director de Tesis - FCEQyN
Universidad Nacional de Misiones
Fecha

CALIFICACION: Elaboración de Tesis.....

CALIFICACION: Defensa de Tesis.....

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por la haberme dado la vida, guiarme y permitir que realizara este trabajo.

A mi familia, por ser mis pilares, acompañarme, guiarme y apoyarme siempre.

A Marito, por el inmenso apoyo de siempre, por alentarme continuamente y por su infinito amor.

Al Dr. Oscar por brindarme la oportunidad de realizar esta tesis, por ayudarme con los lineamientos para el desarrollo de la misma y por su tiempo en la dirección.

A la Dra. Nancy Lovera, por el apoyo, por su esfuerzo y dedicación en la corrección, por las charlas y consejos.

A la Dra. Laura Ramallo, por sus orientaciones, sugerencias y apoyo para la realización de este trabajo.

A la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales por facilitar y brindarme la posibilidad de realizar esta Maestría.

A todos los profesores de la maestría, por las enseñanzas recibidas.

Al Dr. Miguel Schmalko, por incentivar y apoyarme para que realizara este posgrado.

A la Mgter. Patricia Scipioni, por el apoyo de siempre.

A la Cooperativa Agrícola Mixta de Montecarlo Limitada, por permitir que realizara las medidas en el viscoalmilógrafo, en especial el agradecimiento a la Ing. Tania Dumke.

Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI), Universidad Nacional de Salta, en especial a Anibal Slavutsky y Maria Alejandra Bertuzzi, por facilitarme el uso de IR.

A Pauli, Ariel y Pame por compartir el día a día en el laboratorio, por el apoyo, por las charlas, los mates, las vivencias y hacer amena las tareas.

RESUMEN

La industria del almidón y sus derivados representa una regular fuente de ingresos en la explotación agraria de la provincia de Misiones, siendo esta provincia la que presenta la mayor producción de mandioca de la Argentina, por lo que es una materia prima de gran interés regional. El almidón es ampliamente utilizado en la industria alimentaria como agente espesante y gelificante, sin embargo su forma nativa presenta baja resistencia al corte, poca resistencia térmica y alta tendencia a la retrogradación, lo cual limita su uso en algunas aplicaciones. Debido a esto, se realizan modificaciones por medio de métodos físicos y químicos, que tienen como propósito la alteración de las propiedades del almidón nativo para mejorar sus características funcionales, y de esta manera, poder adaptarlo a aplicaciones específicas. La acetilación es uno de los métodos de modificación química del almidón que se utiliza comúnmente para aumentar la resistencia al agua, ya que los grupos hidroxilo (hidrófilo) son sustituidos con grupos acetilo (hidrofóbicos) que reducen la formación de puentes de hidrógeno entre las cadenas del polímero y las moléculas de agua, disminuyendo su solubilidad. Asimismo, esta modificación química del almidón, mejora su plasticidad y su performance cuando es aplicado en los procesos productivos respecto al almidón nativo. En el presente trabajo de tesis se pretende sintetizar almidones modificados químicamente por medio de dos métodos diferentes de acetilación, con la finalidad de obtener una variedad de almidones modificados de mandioca que presenten un amplio rango de grados de sustitución y determinar las características morfológicas, físicas y funcionales de los mismos.

ABSTRACT

The starch industry and its derivatives represent a regular source of income in the agricultural production of the province of Misiones, having this state the highest production of cassava in Argentina, being a raw material of great regional interest. Starch is widely used in the food industry as a thickener and gelling agent, however its native form has properties such as high tendency to retrograde, low mechanical and poor thermal resistance, which limits its use in some applications. Due to this, modifications are made by means of physical and chemical methods, which have as purpose the alteration of the properties of the native starch to improve its functional characteristics, and in this way, to be able to adapt it to specific applications. Acetylation is one of the methods of chemical modification of starch that is commonly used to increase water resistance, since hydroxyl groups (hydrophilic) are substituted with acetyl groups (hydrophobic) that prevent the formation of hydrogen bonds between polymer chain and water molecules, decreasing their solubility. Also, this chemical modification of starch improves its plasticity and its performance with respect to the native starch, when it is applied in productive processes. In this thesis the aim is to synthesize chemically modified starches using two different acetylation methods, in order to obtain a variety of modified cassava starches, with a wide range of substitution degrees and to determine the morphological, physical and functional characteristics of them.

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	V
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT.....	VII
INDICE.....	VIII
LISTA DE TABLAS.....	XI
LISTA DE FIGURAS.....	XII
LISTA DE SIMBOLOS Y ABREVIATURAS.....	XIV
CAPÍTULO I.....	1
I. INTRODUCCIÓN.....	2
I.1 ALCANCES Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	3
I.2 OBJETIVOS.....	5
I.3 JUSTIFICACIÓN.....	6
CAPÍTULO II.....	7
II. ANTECEDENTES.....	8
II.1 El almidón.....	8
II.2 Composición química.....	9
II.2.1 Amilosa.....	9
II.2.2 Amilopectina.....	9
II.3 Estructura granular.....	12
II.4 Propiedades Fisicoquímicas.....	13
II.4.1 Gelatinización.....	13
II.4.2 Retrogradación.....	15
II.5 Modificación química del almidón.....	16
II.5.1.1 Acetilación.....	18
II.6 Requisitos reglamentarios nacionales para almidones modificados de uso alimentario.....	21
II.7 Aplicaciones de los almidones modificados.....	21

II.8	Técnicas para la caracterización de los almidones.....	23
II.8.1	Solubilidad y poder de hinchamiento	24
II.8.2	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)	24
II.8.3	Microscopía electrónica de barrido	27
II.8.4	Perfil de Visco-Amilógrafo Brabender	27
CAPÍTULO III.....		30
III.1	MATERIALES Y MÉTODOS	31
III.1.1	Muestras	31
III.1.2	Almidón acetilado de mandioca	31
III.1.3	Condiciones experimentales	32
III.1.4	Determinación del grado de sustitución	34
III.1.4.1	Almidones acetilados con GS < 0,2.....	34
III.1.4.2	Almidones acetilados con GS entre 0,2 - 1,5.....	35
III.1.5	Caracterización de los almidones	36
III.1.5.1.1	Caracterización en estado sólido.....	36
III.1.5.1.2	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier	36
III.1.5.1.3	Microscopía electrónica de barrido.....	36
III.1.5.1.4	Isotermas de sorción.....	36
III.1.5.1	Caracterización de la dispersión	38
III.1.5.2.1	Determinación del índice de solubilidad en agua y poder de hinchamiento	38
III.1.5.2.2	Claridad de las pastas	40
III.1.5.2.3	Perfiles de Viscosidad Brabender	40
III.1.6	Análisis estadístico	40
III.2	RESULTADOS Y DISCUSION.....	42
III.2.1	Grados de sustitución de los almidones acetilados.....	42
III.2.2	Caracterización de los almidones	47
III.2.2.1	Espectrofotometría Infrarrojo con Transformada de Fourier	47
III.2.2.2	Propiedades morfológicas.....	50
III.2.2.3	Índice de solubilidad en agua (ISA) y poder de hinchamiento (PH)	52

III.2.2.4	Isotermas de sorción	55
III.2.2.5	Claridad de las pastas.....	58
III.2.2.6	Perfil de viscosidad Brabender	59
CONCLUSIONES		62
Capítulo IV		64
TRABAJOS FUTUROS		65
BIBLIOGRAFÍA:		66
ANEXOS.....		73

LISTA DE TABLAS

Tabla II- 1:	Propiedades generales de diferentes almidones (Fennema, 2000)	8
Tabla II-2:	Características de almidones usados en la industria alimentaria.....	11
Tabla II-3:	Propiedades y aplicaciones de almidones modificados. Singh y col., 2007.	22
Tabla III-1:	Condiciones experimentales de las reacciones de acetilación.....	33
Tabla III-2:	Actividades de agua de soluciones saturadas de diferentes sales.....	37
Tabla III-3:	Grado de sustitución y porcentaje de grupos acetilos de almidones de mandioca acetilados obtenidos por el método de Wurzburg (1964) ..	42
Tabla III-4:	Grado de sustitución y porcentaje de grupos acetilos de almidones acetilados obtenidos variando la concentración de catalizador.....	45
Tabla III-5:	Grado de sustitución y porcentaje de grupos acetilos de almidones acetilado variando el tiempo de reacción.	46
Tabla III-6:	Señales características de FTIR de almidones nativos	48
Tabla III-7:	Parámetros de ajuste del modelo de GAB de las isotermas de sorción a 25 °C de almidones de mandioca nativo y acetilados.....	57
Tabla III-8:	Claridad de las pastas de almidones de mandioca nativo y acetilados	59
Tabla III-9:	Propiedades de las pastas de almidones de mandioca nativo y acetilados	60

LISTA DE FIGURAS

Figura II-1:	Estructura de amilosa y amilopectina. Fuente: Tester y Col. (2004) . 10
Figura II-2:	Representación esquemática de una sección de amilopectina que indica el patrón de los enlaces del tipo α -(1→4) de las cadenas y los puntos de ramificación con enlaces del tipo α -(1→6). Fuente: Tester y col. (2004)..... 11
Figura II-3:	Esquema de la estructura lamelar de un gránulo de almidón. (A) Láminas microcristalinas separadas por anillos de crecimiento amorfo. (B) Vista ampliada de las regiones amorfas y cristalinas. (C) Las estructuras helicoidales dobles formadas por cadenas adyacentes de amilopectina que dan lugar a laminillas cristalinas. Los puntos de ramificación constituyen las regiones amorfas. Fuente: Tester y Col. (2004) 12
Figura II-4:	Gelatinización del almidón. Fuente: Badui (2006)..... 14
Figura II-5:	Mecanismo de retrogradación del almidón. Fuente: Badui (2006) 15
Figura II-6:	Clasificación de los métodos de modificación química del almidón. (Masina y col., 2017)..... 16
Figura II-7:	Reacción química de acetilación del almidón (Xu, Miladinov y Hanna, 2004)..... 18
Figura II-8:	Esquema del almidón nativo (3 –OH disponibles) y almidón acetilado totalmente sustituido (GS=3)..... 20
Figura II-9:	Vibraciones de estiramiento y flexión de enlaces en moléculas orgánicas..... 25
Figura II-10:	Diferentes moléculas según el rango de número de onda 26
Figura II-11:	Curva teórica del perfil de viscosidad Brabender..... 28
Figura III- 1:	Diagrama de flujo de los métodos de acetilación (Método 1: Wurzburg, 1964; Método 2: Mark-Mehlretter, 1972)..... 32
Figura III- 2:	Variación del GS en función de la concentración de anhídrido acético 43

Figura III- 3:	Variación del GS respecto a la concentración de NaOH.....	45
Figura III- 4:	Espectro FTIR de almidones de mandioca nativo y acetilados.....	49
Figura III- 5:	Micrografías SEM de almidones de mandioca nativo (AN) y acetilados (AA _{0,41} , AA _{0,89} , AA _{1,28}) con diferentes magnificaciones (a) 229X; (b) 457X y (c) 1140X.	51
Figura III- 6:	Índice de solubilidad en agua a distintas temperaturas para almidones de mandioca nativo y acetilados.....	52
Figura III- 7:	Poder de hinchamiento a distintas temperaturas para almidones de mandioca nativo y acetilados.....	54
Figura III- 8:	Isotermas de adsorción de almidones de mandioca nativo y acetilados.	56

LISTA DE SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

°C	Grados Centígrados
%T	Porcentaje de transmitancia
%GA	Porcentaje de grupos acetilos
Aw	Actividad de agua
CAA	Código Alimentario Argentino
FTIR	Infrarrojo con transformada de Fourier
g	Gramo
GS	Grado de Sustitución
HCl	ácido clorhídrico
ISA	Índice de solubilidad en agua
mL	Mililitro
nm	Nanómetro
NaOH	Hidróxido de sodio
OH	Grupo oxidrilo
pH	Potencial de Hidrogeno
PH	Poder de Hinchamiento
SEM	Microscopía electrónica de barrido
UB	Unidades Brabender
VPC	Viscosidad de la pasta caliente

VPF Viscosidad de la pasta fría

V_{\max} Viscosidad máxima

CAPÍTULO I

I. INTRODUCCIÓN

El almidón es el principal carbohidrato de reserva en las plantas. Se encuentra almacenado en las semillas y tubérculos de diversos cultivos agrícolas como el maíz, trigo, arroz, cebada, papa y mandioca.

El almidón proporciona la principal fuente de energía en la dieta humana (Ellis y col., 1998) y contribuye, en gran medida, con propiedades texturales de muchos alimentos y es ampliamente utilizado como espesante, estabilizador coloidal, gelificante, agente de volumen y agente de retención de agua. Las propiedades físico-químicas y las características funcionales de los sistemas de almidón y su singularidad en diversos productos alimenticios, varían con el origen biológico del almidón (Singh y col., 2007).

Actualmente, el almidón también se utiliza en la producción de materiales de embalajes (Riaz, 1999) y en el desarrollo de plásticos biodegradables, así como en la fabricación de adhesivos, cosméticos, detergentes, papel y textiles, lo que se está convirtiendo en una atractiva alternativa para sustituir a los productos derivados del petróleo (Ellis y col., 1998).

A pesar de todas las propiedades mencionadas anteriormente, el almidón nativo posee características de baja resistencia al corte, baja resistencia térmica y alta tendencia a la retrogradación, lo cual limita su aplicación en ciertas formulaciones o procesos de elaboración de alimentos. La modificación del almidón, que implica la alteración de las características físicas y químicas del almidón nativo, se utiliza para adaptarlo a aplicaciones específicas, ya que mejoran sus características funcionales (Singh y col., 2007).

Numerosas modificaciones químicas pueden ser realizadas al almidón para impartirle propiedades que son útiles para aplicaciones particulares. Una modificación común y ampliamente utilizada es la acetilación, que es la esterificación de los polímeros del almidón con grupos acetil para formar acetatos de almidón (Jarowenko, 1986).

La acetilación es un método para aumentar la resistencia al agua, ya que los grupos hidroxilo (hidrófilos) son sustituidos con grupos acetilo (hidrofóbicos) que

reducen la formación de puentes de hidrógeno entre las cadenas del polímero y las moléculas de agua, disminuyendo la solubilidad, mejorando la plasticidad y procesabilidad del almidón acetilado, respecto al almidón nativo (López, García y Zaritzky, 2008). Además provee características deseadas de estabilidad, resistencia a la retrogradación y textura (Wurzburg, 1964), disminuye la temperatura de transición vítrea (T_g) y la temperatura de gelatinización (Shogren, 1996).

En la reacción de acetilación, el número de grupos acetilo incorporado en la molécula de almidón, y la eficiencia, depende del tipo y concentración de reactivo, pH del medio, presencia de un catalizador, tiempo de reacción, origen botánico del almidón, tamaño y estructuras del gránulo nativo y de la relación amilosa/amilopectina.

El almidón acetilado se clasifica en función de su grado de sustitución (GS). Los almidones con GS bajo ($<0,2$) se utilizan comúnmente en la industria alimentaria, ya que confieren consistencia, textura y estabilidad, a productos horneados, rellenos de pasteles, conservas, salsas, sopas, alimentos infantiles, aderezos para ensaladas, etc. Los almidones con $GS > 1,0$ se utilizan como sustitutos de acetato de celulosa (Xu, Miladinov y Hanna, 2004). Los almidones con alto GS (2-3) se caracterizan por su solubilidad en disolventes tales como acetona o cloroformo y por su termoplasticidad (Eloma y col., 2004). Estos polímeros se han utilizado para aplicaciones no alimentarias, tales como aglutinantes de comprimidos, adhesivos de fusión en caliente, revestimientos, filtros de cigarrillo, plástico biodegradable, absorbentes de iones metálicos (Biswas y col., 2008) y en diversas aplicaciones farmacéuticas (Xu, Dzenis y Hanna, 2005).

I.1 ALCANCES Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) es una planta originaria de América Tropical. Se cultiva en distintas regiones de América, Asia y África, donde es el principal alimento de 300 millones de personas. Se consume principalmente sus

raíces, por su alto contenido en hidratos de carbono, aunque en algunas partes del mundo, como África y Brasil, también las hojas son utilizadas para la alimentación humana, como verdura fresca o deshidratada, además de ser un recurso importante en la alimentación del ganado (INTA, 2008).

El almidón de mandioca es la segunda fuente de almidón en el mundo después del maíz, pero por delante de la papa y el trigo; se usa principalmente sin modificar, es decir como almidón nativo, pero también es usado modificado con diferentes tratamientos para mejorar sus propiedades de consistencia, viscosidad, gelificación, dispersión, estabilidad frente a cambios del pH y temperatura. De esta manera puede usarse en diferentes aplicaciones industriales que requieran propiedades particulares (FAO, 2007).

Según un informe del Ministerio del Agro y Producción de la Provincia de Misiones (Cluster de la Mandioca Misionera, 2017), la superficie cultivada de mandioca en la Argentina es de aproximadamente 80.000 hectáreas, donde Misiones es la principal productora, con 40.000 hectáreas, seguida por Formosa, Corrientes y Chaco. Para nuestra provincia, el cultivo de mandioca representa una de las principales actividades productivas, además de la yerba mate, té y tabaco. La producción anual de raíces de mandioca es de alrededor de 180.000/200.000 toneladas, de las cuales una parte, se destina a abastecer el mercado de la mandioca fresca para la alimentación humana y la otra, corresponde a la actividad industrial para la obtención de harina y fundamentalmente fécula/almidón. La producción anual de fécula es alrededor de 12.500 toneladas.

Las oportunidades del sector se encuentran asociadas con los subproductos de la mandioca obtenidos a través del proceso industrial. Las industrias demandantes de almidón son abastecidas por la producción nacional, pero también en gran medida, por la producción paraguaya y brasilera. Existe una gran demanda de almidones modificados y productos sustitutos. Actualmente el almidón de papa, por ejemplo es importado desde Holanda y de otros países europeos, también se han registrado importaciones de almidón provenientes de Tailandia (Cluster de la Mandioca Misionera, 2017). Con respecto a los almidones modificados, es importante destacar

que existe una demanda insatisfecha y en consecuencia, según el Ministerio del agro de nuestra provincia, existe una necesidad de incrementar la producción para lograr una oferta acorde a las necesidades del mercado. Lo cual, demuestra claramente que existe un mercado interno que no logra ser cubierto en su totalidad, habiendo al mismo tiempo un mercado potencial (por los diferentes usos que puede darse al almidón modificado). Entre las aplicaciones más comunes se encuentran: bebidas con y sin gas, pastillas, gomas de mascar, gomitas, productos lácteos, galletas, mermeladas y conservas, aderezos, premezclas, industria farmacéutica, etc. (Badui, 2006).

En vista a lo mencionado anteriormente, en el presente trabajo de tesis se propone sintetizar almidones modificados de mandioca utilizando procesos de acetilación, con la finalidad de obtener productos de diferentes grados de sustitución. Seguidamente, se realizará su caracterización, por medio de determinaciones de las propiedades morfológicas, físicas y funcionales, con el fin de establecer sus posibles aplicaciones.

I.2 OBJETIVOS

Objetivo general

- Obtener y caracterizar almidones de mandioca modificados de distinto grado de sustitución aplicando dos métodos diferentes de acetilación.

Objetivos específicos

- Obtener almidones acetilados de mandioca de distintos grados de sustitución variando las condiciones de reacción.
- Determinar los grados de sustitución y porcentaje de grupos acetilos de los almidones de mandioca modificados.
- Evaluar el efecto del grado de acetilación en las características morfológicas, físico-químicas y funcionales del almidón de mandioca.

- Comparar las características de los almidones acetilados con el almidón nativo.

I.3 JUSTIFICACIÓN

Dada la importancia de la producción de mandioca en la provincia de Misiones y considerando la necesidad de generar nuevos productos de mayor valor agregado se plantea estudiar los métodos de obtención del almidón acetilado con un amplio rango de grados de sustitución, con la finalidad de determinar las variables que entran en juego en la reacción. Una vez establecidas las condiciones apropiadas de reacción y sintetizado distintos almidones acetilados de mandioca, se determinarán sus características morfológicas, físicas y funcionales.

De esta manera, se pretende aportar mayores conocimientos científico-tecnológicos de los procesos de obtención de almidones acetilados, pudiendo ser de gran utilidad para cooperativas o empresas almidoneras que deseen incorporar la elaboración de un nuevo producto y generar nuevos mercados. Asimismo resultaría útil para el desarrollo de nuevas investigaciones que puedan utilizar el producto como potencial insumo para el desarrollo de envases biodegradables, aditivos alimentarios, etc.

CAPÍTULO II

II. ANTECEDENTES

II.1 El almidón

Después de la celulosa, el almidón es probablemente, el polisacárido más abundante e importante desde el punto de vista comercial. Es el principal material de almacenamiento de carbohidratos en muchas plantas superiores (Liu, 2005). En la planta, el almidón se encuentra en forma de complejas partículas llamadas gránulos, que contienen alrededor de 0,06-0,8% de proteínas; 0,05-0,8% de lípidos; 0,07-1,4% de cenizas y el resto está compuesto por almidón. La forma, el tamaño, la estructura y la composición química de los gránulos son las características que más afectan a las propiedades funcionales del almidón y la variación de estas características, depende de la especie de la que se ha obtenido (Guerra Della Valle, 2007).

Las fuentes más importantes de almidón son los granos de cereales, semillas de leguminosas y tubérculos. La Tabla II.1 muestra el contenido de almidón (% de materia seca) en algunos materiales vegetales para uso alimentario.

Tabla II- 1: Propiedades generales de diferentes almidones (Fennema, 2000)

<i>Cultivo</i>	<i>Viscosidad relativa</i>	<i>Claridad de la pasta</i>	<i>Lípidos (%)</i>	<i>Proteína (%)</i>
Maíz	Media	Opaco	0,8	0,35
Maíz ceroso	Media alta	Muy opaco	0,2	0,25
Maíz de alta amilosa	Muy baja	Opaco	-	0,5
Papa	Muy alta	Claro	0,1	0,1
Mandioca	Alta	Claro	0,1	0,1
Trigo	Baja	Opaco	0,9	0,4

El Código Alimentario Argentino (CAA) diferencia los términos almidón/fécula según el lugar donde se encuentran los gránulos en las plantas. Ver anexo I. De esta manera, se denomina almidón cuando se lo extrae de órganos aéreos de las plantas, y fécula, a los que se encuentran en las partes subterráneas (raíces, tubérculos, rizomas).

En el desarrollo de la presente tesis, se utilizará el término almidón de manera indistinta, haciendo referencia a su denominación química.

II.2 Composición química

El almidón está constituido por unidades de glucosa dispuestas en dos componentes: amilosa y amilopectina. Su proporción varía de un tipo a otro según el origen botánico del almidón. Estas macromoléculas se caracterizan por su grado de polimerización o ramificación, lo cual afecta su comportamiento frente a los procesos de degradación (FAO, 2007) y representan aproximadamente el 98-99% del peso seco. El contenido de humedad de los almidones oscila aproximadamente entre 10-12% (cereales) y entre 14-18% (algunas raíces y tubérculos). Los lípidos y las proteínas tienen el potencial de moderar la funcionalidad del almidón (Tester y col., 2004).

II.2.1 Amilosa

La amilosa es una cadena lineal de unidades de α -D-glucopiranosilo unidas por el 99% de enlaces α -(1 \rightarrow 4), aunque existen también moléculas que poseen unas pocas ramificaciones en posición α -(1 \rightarrow 6) y representan el 0,3-0,5% de los enlaces (Figura II.1). Las moléculas de amilosa tienen pesos moleculares alrededor de 10^5 - 10^6 g/mol (Tester y col., 2004). Adquiere una conformación tridimensional helicoidal, donde cada vuelta de la hélice consta de seis moléculas de glucosa. Los almidones que contienen menor del 15% de amilosa se denominan “cerosos” (céreos), los almidones normales entre 20-35% y los almidones altos en amilosa, mayores a 40%.

II.2.2 Amilopectina

La amilopectina es una molécula más grande y con más ramificaciones que la amilosa. Su peso molecular está comprendido entre 10^7 - 10^8 g/mol. Las ramas están unidas al tronco central (semejante a la amilosa) por enlaces α -D-(1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa (Figura II.1). Los enlaces de ramificación α -(1 \rightarrow 6) constituyen alrededor del 5% de los enlaces, mientras que el 95% corresponde a los enlaces α -(1 \rightarrow 4) (Tester y col., 2004). Las ramas de las moléculas toman la forma de un

racimo y se presentan como dobles hélices. Algunos almidones están formados exclusivamente por amilopectina, y se les conoce como almidones céreos.

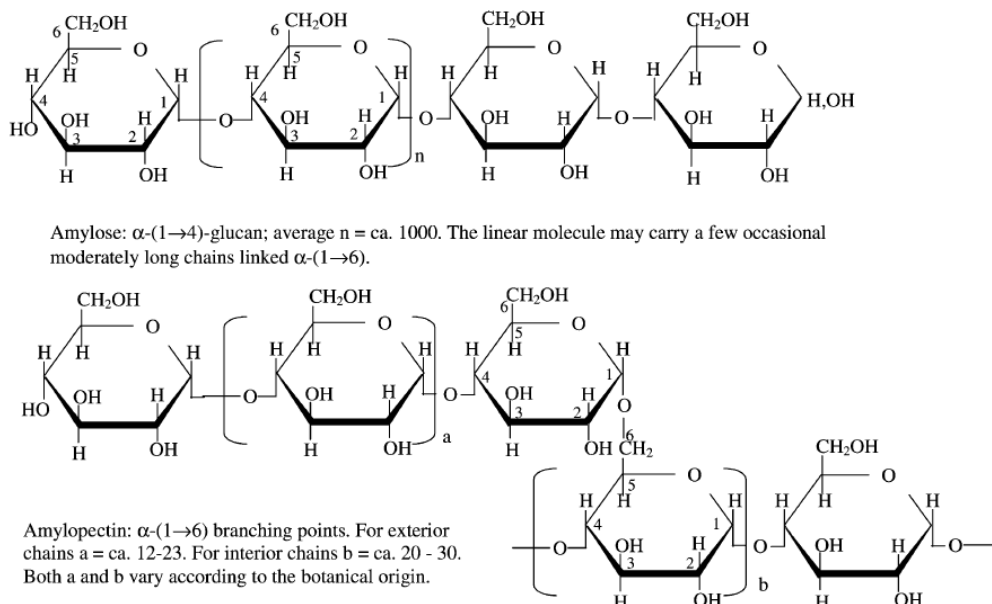


Figura II-1: Estructura de amilosa y amilopectina. Fuente: Tester y Col. (2004)

Las cadenas individuales pueden clasificarse específicamente en términos de su longitud y posición en gránulos de almidón. Las cadenas A y B₁ (Figura II.2) son las hélices dobles exteriores. La longitud de las cadenas A comprende 12-16 unidades, y las B₁ 20-24 unidades. Las cadenas A se unen por enlaces α -(1-6) a las cadenas B, que a su vez pueden estar enlazadas a otras cadenas B (en la Figura II.2 se representa como B₃). Esta última es conocida también como “espinas dorsales” de la molécula de amilopectina que es la única que posee un extremo reductor. Las longitudes de las cadenas típicas para las cadenas A, B₁-B₄ para diferentes almidones (después de la desramificación) son 12-16, 20-24, 42-48, 69-75 y 101-119, respectivamente. La relación de las cadenas A y B depende de la fuente de almidón (Tester y col., 2004).

El gran tamaño y naturaleza ramificada de la amilopectina reduce la movilidad de los polímeros e interfiere su tendencia a orientarse y permitir niveles significativos de enlaces de hidrógeno. Como resultado, las soluciones acuosas de amilopectina se caracterizan por su claridad y estabilidad como medida de la resistencia a gelificarse

durante el almacenamiento. Además, no forman películas tan fuertes y flexibles como la amilosa (Badui, 2006).

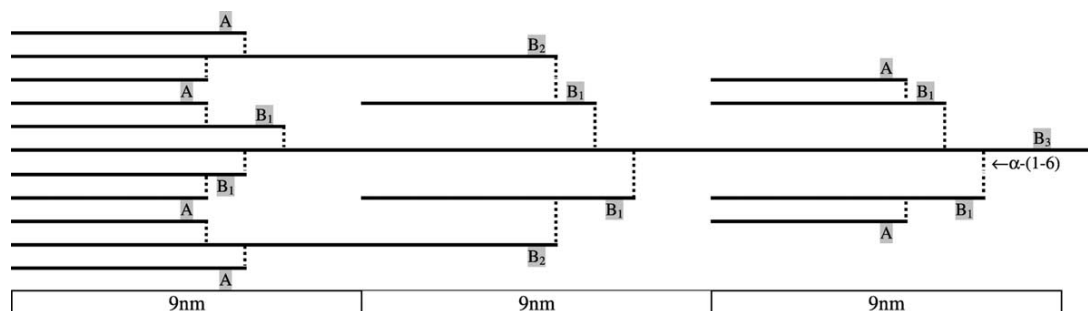


Figura II-2: Representación esquemática de una sección de amilopectina que indica el patrón de los enlaces del tipo α -(1→4) de las cadenas y los puntos de ramificación con enlaces del tipo α -(1→6). Fuente: Tester y col. (2004)

En la Tabla II.2 se presentan los contenidos de amilosa y amilopectina de diferentes fuentes botánicas de almidón, además de la temperatura de gelatinización y tamaño de los gránulos.

Tabla II-2: Características de almidones usados en la industria alimentaria

<i>Tipo</i>	<i>Amilopectina (%)</i>	<i>Amilosa (%)</i>	<i>Temperatura de gelatinización (°C)</i>	<i>Tamaño del gránulo (μm)</i>
Maíz	69-74	26-31	62-72	5-25
Maíz rico en amilosa	20-45	55-80	67-80	5-25
Papa	73-77	18-27	58-67	5-100
Arroz	83	17	62-78	2-5
Mandioca	82	18	51-65	5-35
Maíz céreo	99-100	0-1	63-72	5-25
Trigo	76	24	58-64	11-41

Fuente: Badui, 2006.

II.3 Estructura granular

Los gránulos poseen una estructura rígida y están conformados por capas concéntricas o excéntricas de amilosa y amilopectina, ubicadas radialmente. Además de esos dos componentes mayoritarios, contienen generalmente pequeñas cantidades de proteínas y lípidos. El origen del gránulo se puede determinar por la forma, el tamaño y la posición del hilum (punto de crecimiento original del gránulo). Los gránulos de almidón de tubérculos son voluminosos y de forma ovalada, generalmente con un hilum excéntrico. Los gránulos de almidón de cereales tales como maíz, avena, y arroz, tienen formas poligonales o redondas.

El tamaño de los gránulos varía de 2 a 100 μm , dependiendo del origen botánico. Además, tienen la particularidad que cuando se les irradia con luz polarizada forman la conocida cruz de malta debido a que poseen dos índices de refracción, que se conoce también como birrefringencia, debido a las contribuciones amorfas y cristalinas de la estructura del gránulo. La región cristalina está formada por cadenas de racimos de amilopectina, mientras que la región amorfa por puntos ramificados de la amilopectina y por amilosa (Zobel, 1988) lo que se muestra en la Figura II.3.

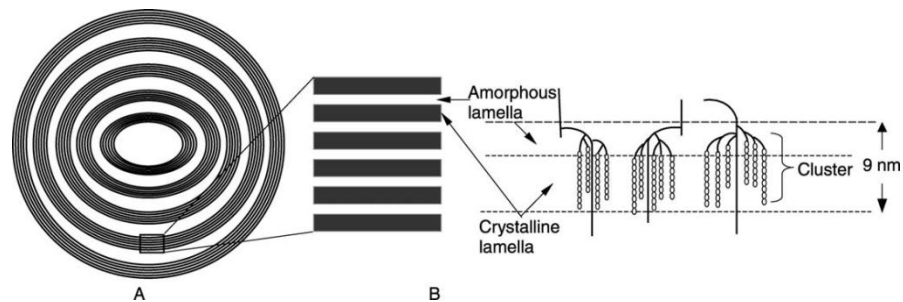


Figura II-3: Esquema de la estructura lamelar de un gránulo de almidón. (A) Láminas microcristalinas separadas por anillos de crecimiento amorfo. (B) Vista ampliada de las regiones amorfas y cristalinas. (C) Las estructuras helicoidales dobles formadas por cadenas adyacentes de amilopectina que dan lugar a laminillas cristalinas. Los puntos de ramificación constituyen las regiones amorfas. Fuente: Tester y Col. (2004)

Los gránulos de almidón, vistos bajo el microscopio óptico, tienen una estructura estratificada característica, debido a los llamados "anillos de crecimiento", que se extienden desde el hilum hacia la superficie de gránulos (como las capas de una

cebolla). La amilosa no parece tener ningún efecto significativo sobre la cristalinidad en almidones normales y cerosos (que pueden estar prácticamente libres de amilosa), los cuales presentan una fuerte birrefringencia. Sin embargo, en los almidones con alto contenido de amilosa, la misma puede contribuir significativamente a la cristalinidad, aunque la naturaleza exacta de los polimorfos cristalinos puede ser diferente. Para almidones ricos en amilopectina, se entiende que el origen de la cristalinidad se debe al entrelazamiento de las cadenas (cadenas exteriores de tipo A y B₁) en forma de doble hélice. Estos se asocian para formar regiones ordenadas o "laminillas cristalinas". Las dobles hélices que forman las láminas cristalinas del anillo de sub-crecimiento representan regiones de 5 nm de espesor intercaladas con regiones de ramificación amorfa de 2 nm de longitud. (Tester y col., 2004). Alrededor del 70% de la masa de un gránulo de almidón se considera amorfa y un 30% como cristalino.

II.4 Propiedades Fisicoquímicas

II.4.1 Gelatinización

Como se mencionó anteriormente, los gránulos de almidón poseen una estructura altamente organizada y de gran estabilidad por las interacciones presentes entre los dos polímeros que lo constituyen, es por eso que tienen la característica de ser insolubles en agua fría, pero a medida que se calientan, empieza un proceso lento de absorción de agua en las zonas intermicelares amorfas, que son las menos organizadas y las más accesibles, ya que los puentes de hidrógeno no son tan numerosos ni rígidos como en las áreas cristalinas. En la fase inicial, al incrementarse la temperatura, los gránulos retienen más agua y comienzan a hincharse aumentando su volumen, pero sin afectar la viscosidad. En principio, se hidrata la parte amorfa del granulo, donde los enlaces son más susceptibles al rompimiento y luego, la parte cristalina.

Al llegar a ciertas temperaturas, cercanas a 65°C, dependiendo de cada tipo de almidón (Tabla II.2), el gránulo alcanza su volumen máximo. Si se administra más calor, el gránulo hinchado, incapacitado para retener el líquido, se rompe parcialmente y

la amilosa y amilopectina, fuertemente hidratadas, se dispersan en el seno de la disolución. En este punto se pierde la estructura original y la birrefringencia del gránulo, provocando un aumento de la viscosidad. A todo este proceso se le llama gelatinización, y es una transición de un estado ordenado (estructura cristalina) a otro desordenado en el que se absorbe calor. En la Figura II.4 se muestra esquemáticamente el aumento de volumen de los gránulos contra el aumento de la viscosidad de la dispersión acuosa. Una vez que los gránulos se rompen, la viscosidad se reduce hasta alcanzar un valor estable en el que se genera un gel cuyas características físicas y químicas son diferentes según el almidón de que se trate (Badui, 2006).

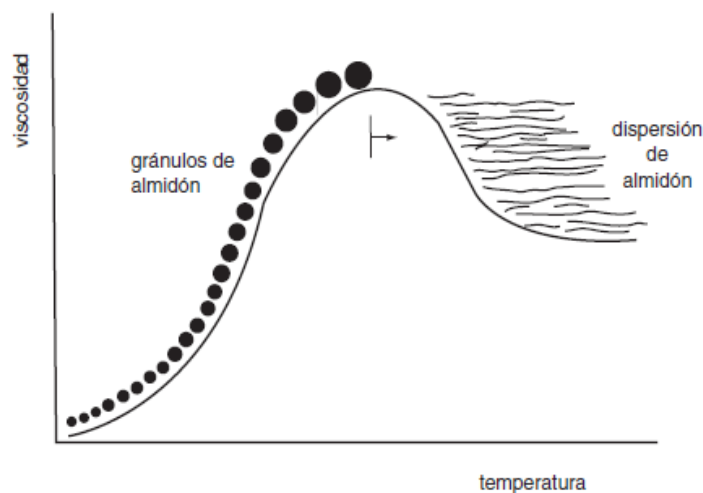


Figura II-4: Gelatinización del almidón. Fuente: Badui (2006)

La temperatura de gelatinización es aquella en la que se alcanza el máximo de viscosidad y se pierden la birrefringencia y el patrón de difracción de rayos X. Esta temperatura es en realidad un intervalo, ya que los gránulos tienen diferente composición y grado de cristalinidad aunque provengan de la misma fuente botánica. Por esta razón se llega a presentar una diferencia de 8 a 12 °C, teniendo como promedio 10°C entre la temperatura de gelatinización de los primeros gránulos y la de los últimos. Este parámetro también se ve muy afectado por la presencia de diversos compuestos químicos que favorecen o inhiben los puentes de hidrógeno (Badui, 2006).

II.4.2 Retrogradación

La retrogradación representa la pérdida de solubilidad del almidón y la precipitación espontánea, que puede darse cuando se enfrían y dejan en reposo las pastas de almidón. En soluciones diluidas, las moléculas de almidón tienden a precipitar, y este material insoluble es cada vez más difícil de redissolver por calentamiento. La retrogradación del almidón cocido incluye a los dos polímeros constituyentes, pero la amilosa sufre este fenómeno mucho más rápido que la amilopectina. Si una solución concentrada de amilosa se calienta y se enfría rápidamente hasta alcanzar la temperatura ambiente, se forma un gel rígido y reversible, pero si las soluciones son diluidas, se vuelven opacas y precipitan cuando se dejan reposar y enfriar lentamente (Figura II.5).

La velocidad de retrogradación depende de diversas variables, entre las que se encuentran: la relación amilosa/amilopectina, las estructuras de las moléculas de amilosa y amilopectina que vienen determinadas por la fuente botánica del almidón, la temperatura, la concentración de almidón y la presencia de otros ingredientes (Fennema, 2000).

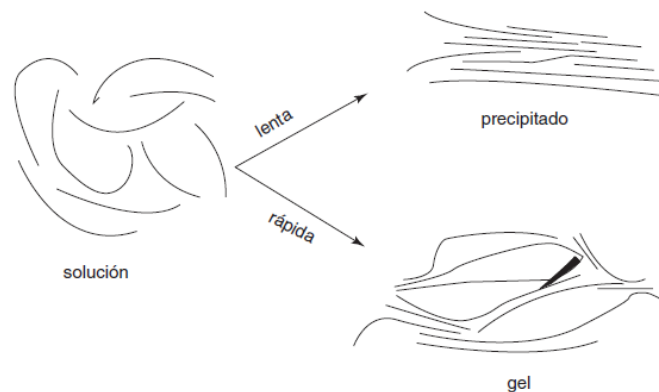


Figura II-5: Mecanismo de retrogradación del almidón. Fuente: Badui (2006)

Cada almidón tiene una tendencia diferente a la retrogradación, lo cual se relaciona con su contenido de amilosa. Es más difícil que la amilopectina desarrolle este proceso, debido a que sus ramificaciones impiden la formación de puentes de hidrógeno

entre moléculas adyacentes; sin embargo, si las soluciones de almidón se congelan y se descongelan continuamente, se produce su insolubilización. Las fracciones de amilosa o las secciones lineales de amilopectina que retrogradan, forman zonas con una organización cristalina muy rígida que, para romperse y permitir la gelatinización del almidón, requiere alta energía (Badui, 2006).

II.5 Modificación química del almidón

Durante las modificaciones químicas se generan reacciones con los grupos hidroxilos del polímero, cambiando su estructura y por consiguiente sus propiedades funcionales. Este tipo de modificaciones normalmente se da en presencia de un reactivo químico bajo condiciones controlada de agitación, temperatura y pH.

Algunos de los tratamientos químicos permitidos para la producción de almidones modificados son: oxidación, eterificación y esterificación. Los hidroxilos del polímero son los principales grupos involucrados en las reacciones y los responsables de las diversas propiedades funcionales al almidón.

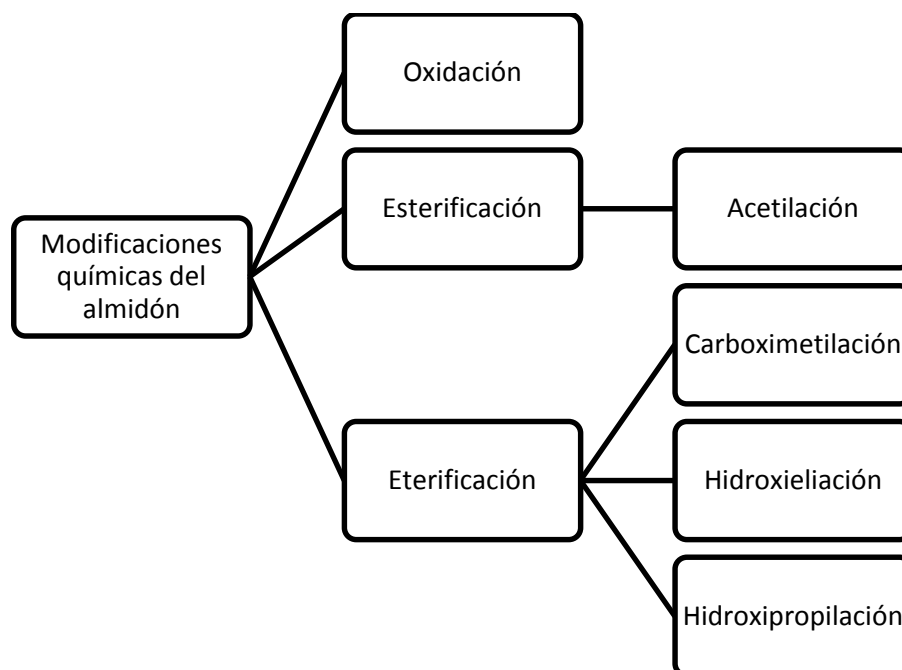


Figura II-6: Clasificación de los métodos de modificación química del almidón. (Masina y col., 2017)

Oxidación: Esta modificación se produce típicamente haciendo reaccionar al almidón con un agente oxidante bajo pH y temperatura controlada. Los tres grupos hidroxilos disponibles se dirigen a la oxidación para producir nuevos derivados de almidón. Las propiedades del almidón oxidado dependen del origen botánico, del método oxidativo y de los reactivos utilizados, lo que da como resultado propiedades fisicoquímicas mejoradas de las partículas de almidón nativo (Masina y col. 2017). Las propiedades fisicoquímicas de los derivados oxidados incluyen generalmente baja viscosidad, alta claridad y baja estabilidad a la temperatura, dando como resultado mayores aplicaciones en la industria alimentaria, biotecnológica y farmacéutica (Singh y col., 2007). Los almidones oxidados tienen propiedades fisicoquímicas mejoradas tales como la formación de película y la adhesividad en algunas formulaciones.

Eterificación: Es un método de modificación por el cual los grupos hidroxilo se sustituyen por grupos carboximetilo, hidroxipropilo y/o hidroxietilo mediante la formación de un enlace éter (R-OR). Aunque la metodología de eterificación puede variar, requieren típicamente un catalizador alcalino para iniciar las sustituciones químicas, siendo comúnmente utilizado el hidróxido de sodio (Masina y col. 2017).

Esta modificación tiene como principal objeto insertar grupos hidrofílicos a las unidades de anhidroglucosa, a fin de estabilizar el almidón en medio acuoso y prevenir el fenómeno de retrogradación en soluciones a bajas temperaturas.

Esterificación: En general, la esterificación de los polisacáridos con ácidos orgánicos y derivados del ácido, es una de las transformaciones más versátiles de estos biopolímeros. La introducción de un grupo éster en el polisacárido constituye un desarrollo importante debido a que permite modificar la naturaleza hidrofílica y produce cambios significativos en las propiedades mecánicas y térmicas. Además, altera las propiedades de retrogradación del almidón. Existen varios métodos dentro de esta categoría, pero la acetilación es la mayormente utilizada en industrias alimentarias, biotecnológicas y textiles.

II.5.1.1 Acetilación

La acetilación es una modificación química por esterificación, en la cual se sustituyen los grupos hidroxilos (OH) por grupos acetilos ($\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$). Las propiedades físicas, químicas y funcionales del almidón modificado son influenciadas por los grupos introducidos, así como el grado de sustitución (GS), que es definido como el número medio de sustitución por unidades de glucosa (UG) o moles sustituidos por mol de UG (Guerra Della Valle, 2007). Cada UG del almidón tienen tres grupos OH disponibles para ser sustituidos en las posiciones C_2 , C_3 y C_6 ; por lo que el GS máximo es tres. Por lo tanto, un derivado de almidón con GS de 0,05 significa cinco sustituciones para 100 UG, como valor medio (Xu, Miladinov y Hanna, 2004).

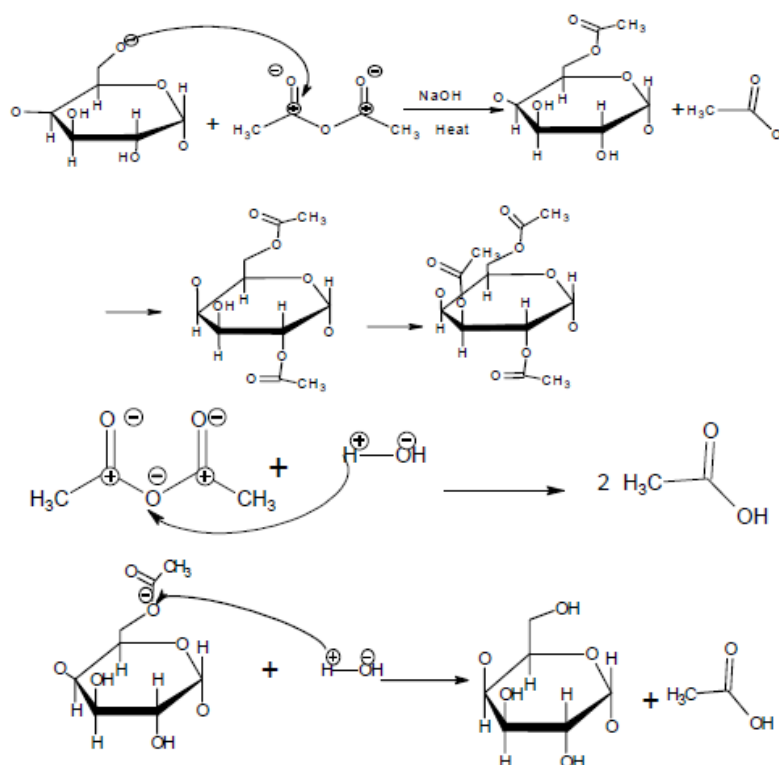


Figura II-7: Reacción química de acetilación del almidón (Xu, Miladinov y Hanna, 2004)

Durante la reacción de acetilación el número de grupos acetilo que son incorporados a la molécula de almidón, así como la velocidad y eficiencia de la reacción, dependen de la concentración y el tipo de reactivo utilizado, del pH, de la presencia de catalizadores, del tiempo de reacción, del origen botánico del almidón, de las características estructurales y del tamaño del gránulo (Mello El Halal y col., 2015).

Xu, Miladinov y Hanna (2004) describieron lo que ocurre durante la acetilación. La reacción principal de acetilación es la primera que se observa en la Figura II.7. La misma, se lleva a cabo con anhídrido acético y un catalizador alcalino. Es una sustitución nucleofílica de un átomo de carbono insaturado del anhídrido acético, por un mecanismo de adición-eliminación. Los tres grupos OH de la molécula de monómero, tienen diferentes reactividades. El OH primario del C₆ es el más reactivo, por lo tanto, es el que se acetila más fácilmente que los secundarios en C₂ y C₃, debido al impedimento estérico. El OH primario, localizado en la superficie de la molécula de almidón, reacciona fácilmente con los grupos acetilo, mientras que los dos secundarios que se encuentran en el interior de la superficie del almidón, forman puente de hidrógeno con la unidad de glucosa vecina. De los dos grupos OH secundarios, el OH del C₂ es más reactivo que el C₃, principalmente porque está más cerca del hemiacetal y es más ácido que el otro. Las reacciones 2 y 3 rara vez ocurren porque no siempre hay agua en el medio de reacción. En la Figura II.8 se observa como todos los grupos OH de las moléculas de glucosa son reemplazados por los grupos (COH₃), formándose en este caso, un almidón acetilado totalmente sustituido con GS igual a 3.

El almidón acetilado se puede clasificar en tres tipos, dependiendo del GS, donde encontramos almidón de GS bajo, medio y alto.

Los de GS bajo (0,01-0,2) son solubles en agua fría, se producen comúnmente utilizando anhídrido acético como reactivo y un catalizador alcalino, generalmente hidróxido de sodio (Masina y Col. 2017). Además, están aprobados por las normas nacionales (CAA) e internacionales (FDA) para ser usados en alimentos como espesantes, estabilizantes y texturizantes (Xu, Miladinov y Hanna, 2004). Se utilizan, por ejemplo, en rellenos de tarta, enlatados, salsas, sopas, alimentos congelados, alimentos infantiles, aderezos para ensaladas, productos horneados. También como

agentes formadores de película, aglutinantes y adhesivos (Colussi y col., 2014). La introducción de grupos aceto reduce la interacción entre las moléculas de almidón y con eso aumenta el poder de hinchamiento y disminuye la tendencia a la retrogradación, mejorando la calidad del gel (Singh y col., 2004). Además, presentan menor temperatura de gelificación (de 6 a 10 °C), y el pico de viscosidad máxima es mayor con respecto al nativo, indicando que los almidones acetilados se dispersan más fácilmente (Loura-Ribeiro, 2011) y producen geles más estables (Guerra Della Valle, 2007).

Annison y col. (2003) sugieren que los almidones acetilados con GS 0,20-0,25 tienen un potencial valor como ingrediente para mejorar los aspectos nutricionales de los alimentos, ya que pudieron demostrar que elevan selectivamente los niveles de ácidos grasos de cadena corta en el intestino grueso. Esto se debe a que la mayor parte del almidón puede ser digerido por las enzimas digestivas del intestino delgado humano, pero una fracción del almidón resistente, pasa al intestino grueso donde es fermentado por la microflora, conduciendo la producción de ácidos grasos de cadena corta. La presencia de estos ácidos ofrece beneficios considerables: modulación de la actividad muscular del colon, estimulación del electrolito y la absorción de fluidos, el aumento del flujo sanguíneo y la prevención del crecimiento excesivo de microorganismos patógenos. Se ha demostrado en aplicaciones clínicas y no clínicas, que el almidón acetilado con GS entre 0,2 y 0,3 son un medio eficaz para conseguir este objetivo (Lopez-Rubio y col., 2009).

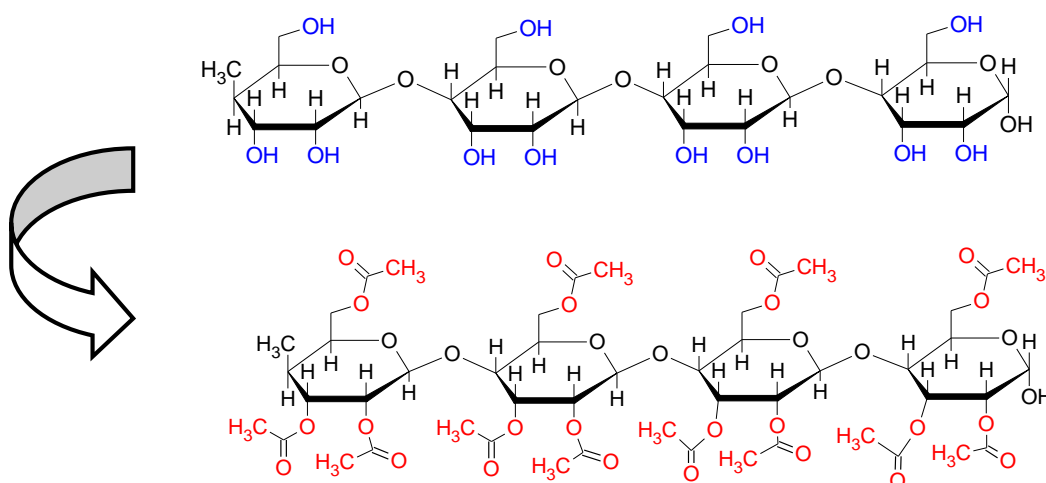


Figura II-8: Esquema del almidón nativo (3 –OH disponibles) y almidón acetilado totalmente sustituido (GS=3)

Los almidones con GS medio, comprendido entre 0,3 y 1, son generalmente solubles en agua pero no en la extensión de los almidones de GS bajos (Masina y col., 2017).

Los almidones de alta GS (2-3) no son solubles en agua ya que se vuelven hidrofóbicos, pero son solubles en disolventes orgánicos, como acetona y cloroformo, y pueden ser gelatinizados a través de elevada presión y temperatura, por lo que se denominan materiales termoplásticos, utilizados en la fabricación de embalajes biodegradables (Shogren, 2003) y también como reemplazante de la celulosa (Diop y col., 2011).

II.6 Requisitos reglamentarios nacionales para almidones modificados de uso alimentario

En Argentina, la normativa vigente que establece la definición y requisitos básicos que debe cumplir el almidón de mandioca, se encuentra en el Código Alimentario Argentino (CAA).

Para los *almidones modificados*, se aplican los requisitos reglamentarios descriptos en el capítulo XVIII del CAA que corresponde a Aditivos Alimentarios (Ver anexo II). En el artículo 1398, punto 23.1 (Res 101, 8.8.75), establece que los almidones modificados “*Se presentarán en forma de polvo, grumos o laminillas friables; de color blanco o casi blanco; sin olor ni sabor; insolubles en alcohol, éter, cloroformo*”.

Los almidones podrán ser modificados por algunos de los tratamientos que se mencionan en dicho artículo. El almidón esterificado con anhídrido acético específicamente, deberá contener, *como máximo 2,5% de grupos acetilo*.

II.7 Aplicaciones de los almidones modificados

El almidón, en su forma granular nativa tiene aplicaciones limitadas, ya que proporciona, en el área de alimentos, pastas de poco cuerpo y de consistencia gomosa cuando son calentadas, y geles no deseables cuando estas pastas se enfrían. Además, en el área de empaque, poseen características de fragilidad y deterioro de las propiedades mecánicas a condiciones ambientales por la exposición con la humedad. Otra desventaja

es su reducida aplicación en procesos tecnológicos debido a su alta viscosidad, así como su incompatibilidad con algunos solventes y polímeros (Peñaranda Contreras y col., 2008).

Tabla II-3: Propiedades y aplicaciones de almidones modificados. Singh y col, 2007.

<i>Tipo</i>	<i>Propiedades</i>	<i>Aplicaciones</i>
Pregelatinización	Soluble en agua fría.	Alimentos instantáneos.
Hidrolisis enzimática	Menor peso molecular, menor viscosidad, incremento de la retrogradación.	En confitería, batidos y revestimiento de alimentos.
Oxidación	Baja viscosidad, reducción en el contenido de azúcar.	Mantequillas, en confitería como aglutinantes y formadores de películas, en productos lácteos como texturizadores y en diversos alimentos como recubrimiento.
Eterificación	Mayor claridad de las pastas, mayor viscosidad, reduce la sinéresis y mejora la estabilidad en la descongelación.	Se utiliza en una gran variedad de alimentos, salsas, pasteles, postres, etc.
Entrecruzamiento	Elevada estabilidad de los gránulos al hinchamiento.	Utilizados como viscosificadores y texturizadores en sopas, salsas, salsas, productos de panadería y lácteos.

En la industria de alimentos se prefieren, en general, almidones con ciertas propiedades que pueden ser obtenidos a través de modificaciones físicas y químicas, denominados “almidones modificados”. La modificación física se realiza mediante calor y humedad (pre-gelatinización), mientras que la modificación química involucra la introducción de grupos funcionales a partir de reacciones de derivatización (eterificación, esterificación, entrecruzamiento, etc.) o de descomposición (hidrólisis ácida, enzimática u oxidación). Tales modificaciones de los almidones nativos altera su comportamiento de gelatinización y retrogradación (Singh y col., 2007).

Los almidones modificados se utilizan ampliamente en la industria de alimentos como aditivos e ingredientes funcionales, como agentes espesantes o estabilizantes para proveer a los productos propiedades tales como textura y apariencia. En la Tabla II.3 se presentan las principales propiedades y aplicaciones de los almidones modificados. Además, se utilizan en industrias de papel, textiles y plásticos (Fennema, 2000) debido a que poseen mejores propiedades mecánicas y químicas, y son más estables (Peñaranda Contreras y col, 2008).

II.8 Técnicas para la caracterización de los almidones

Las propiedades fisicoquímicas y las características funcionales que los almidones imparten a los sistemas acuosos varían según el origen biológico y según si se encuentra como almidón nativo o fue sometido algún tipo de modificación. Esta variación lo hace adaptable para diversas aplicaciones alimentarias.

El almidón contribuye en gran medida a las propiedades de textura de muchos alimentos y tiene muchas aplicaciones industriales como espesante, estabilizador coloidal, agente gelificante, agente de carga, agente de retención de agua y adhesivo. El interés en nuevos productos de valor agregado para la industria ha dado como resultado la realización de estudios sobre las propiedades morfológicas, reológicas, térmicas y texturales de los almidones (Singh y col., 2003).

El almidón muestra un comportamiento de viscosidad único con el cambio de temperatura, concentración y velocidad de cizalladura. El Visco-amilógrafo Brabender, el viscoanalizador rápido (RVA) y los viscosímetros rotacionales se han utilizado ampliamente para medir la viscosidad de la pasta de almidón (Wiesenborn y col., 1994). La microscopía electrónica de barrido (SEM) se ha utilizado para relacionar la morfología de los gránulos del almidón y para relacionar estructuras de pasta con propiedades de pasta (Fannon y BeMiller, 1992). El análisis FTIR permite una interpretación de los enlaces que están presentes en la molécula (Yurkanis Bruise, 2008).

En esta sección se explican las técnicas de caracterización de almidones empleadas en el presente trabajo de tesis.

II.8.1 Solubilidad y poder de hinchamiento

El poder de hinchamiento y la solubilidad proporcionan evidencia de la magnitud de la interacción entre las cadenas de almidón. El alcance de esta interacción está influenciado por la relación amilosa/amilopectina, y por las características de amilosa y amilopectina en términos de peso molecular, distribución, grado y longitud de ramificación. Las diferencias entre los poderes de hinchamiento y las solubilidades de almidones también pueden ser debidas a diferencias en la estructura morfológica de los gránulos de almidón (Singh y col., 2003).

Cuando las moléculas de almidón se calientan en exceso de agua, se rompe la estructura cristalina y las moléculas de agua se unen por enlaces de hidrógeno a los grupos hidroxilo expuestos de amilosa y amilopectina, lo que provoca un aumento en el hinchamiento y la solubilidad de los gránulos.

II.8.2 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) es una técnica que se fundamenta en la irradiación de un haz monocromático a materiales

orgánicos, que en función de la naturaleza de los enlaces y cargas electrostáticas existentes entre sus átomos y moléculas, absorben una determinada cantidad de energía. Este valor puede expresarse por señales en términos de reflectancia, obteniendo un espectro característico de cada material, y de esta manera se puede determinar su composición química de una sustancia, que en el caso de esta tesis, se desea corroborar la inserción de los grupos acetilos en la molécula de almidón. La cantidad de energía absorbida se halla escaneando el espectro con un rayo monocromático, el cual cambia de longitud de onda a través del tiempo, o usando una transformada de Fourier para medir todas las longitudes de onda a la vez. A partir de esto, se puede trazar un espectro de transmitancia o absorbancia, el cual presenta las longitudes de onda en las que la muestra absorbe el infrarrojo, y permite una interpretación de los enlaces que están presentes (Yurkanis Bruise, 2008).

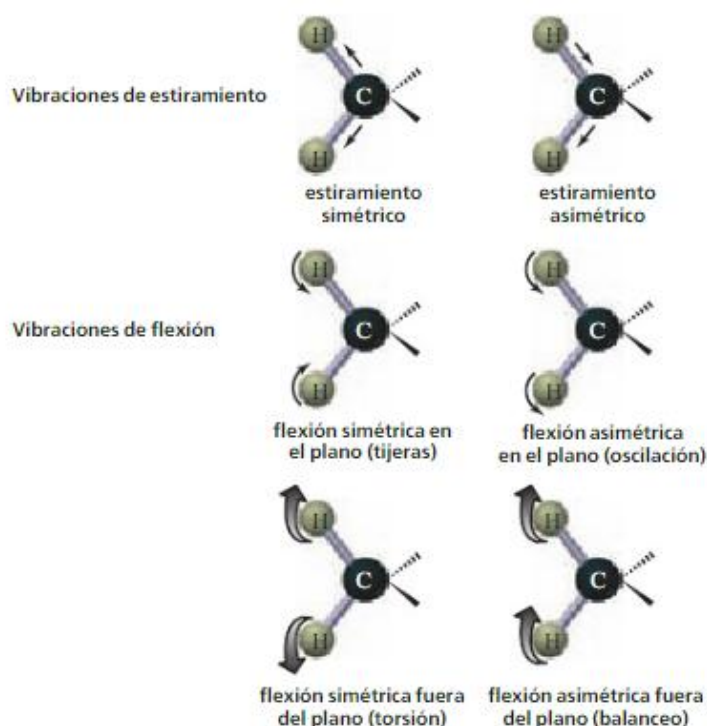


Figura II-9: Vibraciones de estiramiento y flexión de enlaces en moléculas orgánicas.

La longitud indicada para un enlace entre dos átomos es una longitud promedio ya que un enlace se comporta como si fuera un resorte en vibración. Un enlace vibra al experimentar movimientos de estiramiento y de flexión (Figura II.9). Un *estiramiento* es una vibración que sucede a lo largo de la línea del enlace y que cambia su longitud. Una *flexión* es una vibración que no sucede a lo largo de la línea del enlace; sino que cambian los ángulos del enlace.

Las moléculas que tienen tres o más átomos pueden experimentar estiramientos y/o flexiones simétricas y asimétricas, y sus vibraciones de flexión pueden ocurrir en un plano o fuera de éste. Cada vibración de flexión y de estiramiento de determinado enlace sucede con una frecuencia característica. La radiación infrarroja presenta justamente las frecuencias que corresponden a las de las vibraciones de estiramiento y de flexión en las moléculas orgánicas. Los límites de número de ondas para la radiación infrarroja son de 4000 a 600 cm^{-1} (Yurkanis Bruise, 2008). En la Figura II.10 se presentan las moléculas que aparecen en los diferentes números de onda.

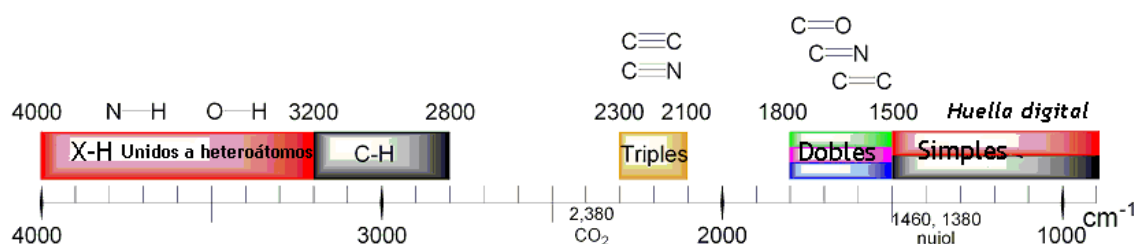


Figura II-10: Diferentes moléculas según el rango de número de onda

Cuando una molécula es irradiada con una frecuencia que coincide exactamente con la de uno de sus modos de vibración, la molécula absorbe energía; ello permite que los enlaces se estiren y se flexionen un poco más. Si se determinan en forma experimental los números de onda de la energía que absorbe determinado compuesto, se puede indicar qué clase de enlaces tiene (Yurkanis Bruise, 2008).

Las frecuencias resonantes pueden estar en una primera aproximación relacionadas con la fuerza del enlace, y la masa de los átomos a cada lado del mismo.

Así, la frecuencia de las vibraciones puede ser asociada con un tipo particular de enlace. Las moléculas diatómicas simples tienen solamente un enlace, el cual se puede estirar. Moléculas más complejas pueden tener muchos enlaces, y las vibraciones pueden ser conjugadas, llevando a absorciones en el infrarrojo a frecuencias características que pueden relacionarse a grupos químicos.

II.8.3 Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido (SEM), proporciona una muy buena información topográfica de las muestras, lo cual permite observar claramente la morfología de los gránulos de almidón.

Las características morfológicas de los almidones de diferentes fuentes vegetales varían según el genotipo y las prácticas de cultivo. La variación en el tamaño y la forma de los gránulos de almidón se atribuye al origen biológico (Svegmark y Hermansson, 1993). Las estructuras granulares de los almidones de papa, maíz, arroz y trigo muestran variaciones significativas en el tamaño y la forma cuando se observan por SEM.

II.8.4 Perfil de Visco-Amilógrafo Brabender

El almidón muestra un comportamiento de viscosidad único con el cambio de temperatura, concentración y velocidad de cizalladura. Esto se puede medir con las curvas de un Visco-Amilógrafo Brabender, que es un instrumento utilizado para determinar la temperatura de gelatinización y las propiedades de una suspensión de almidón a una concentración determinada bajo calentamiento y enfriamiento en un tiempo determinado. El viscoamilograma registra la viscosidad en función del tiempo y temperatura de una suspensión de almidón bajo una velocidad constante de cizallamiento. El incremento en la viscosidad es medida por un torque sobre una aguja, con un sistema de control automático y en una curva son reproducidos los perfiles de gelatinización y de empastamiento del almidón analizado.

La altura del pico a una concentración dada refleja la capacidad de los gránulos para hincharse libremente antes de su ruptura física. Los almidones que son capaces de hincharse en un alto grado también son menos resistentes a la descomposición en la cocción y, por lo tanto, exhiben una disminución significativa de la viscosidad después de alcanzar el valor máximo (Singh y col., 2003).

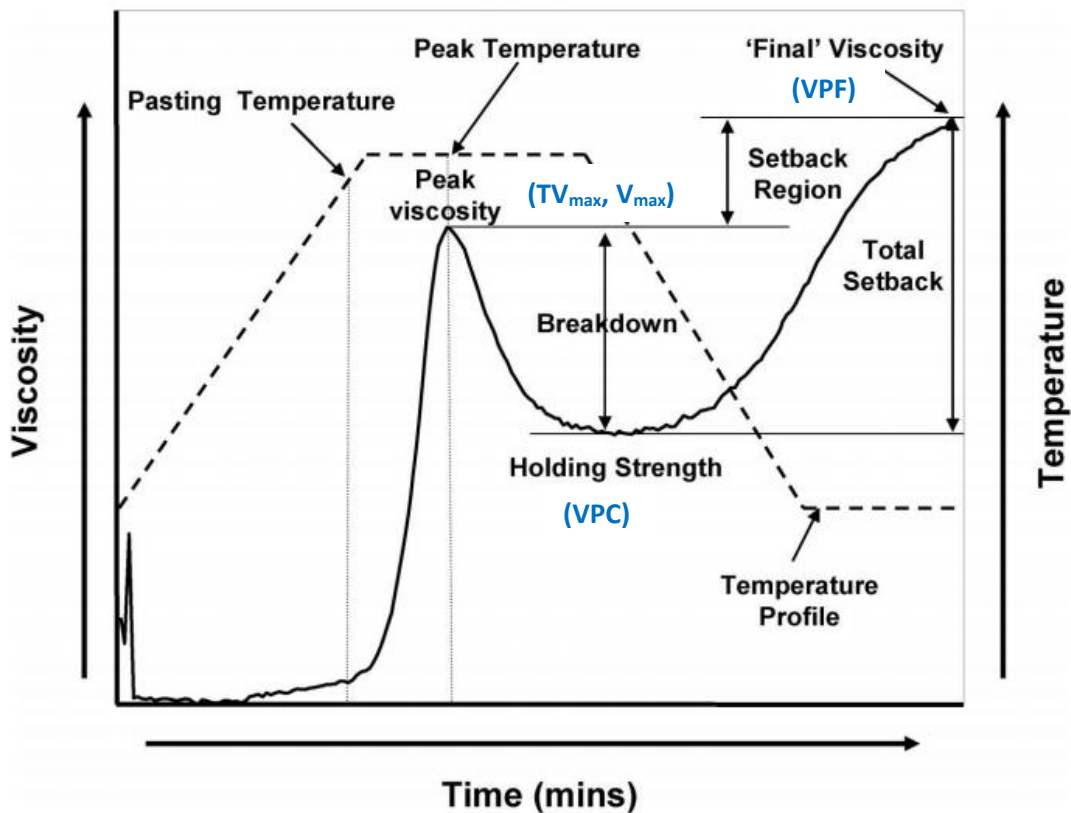


Figura II-11: Curva teórica del perfil de viscosidad Brabender

Cada tipo de almidón presenta curvas características de viscosidad Brabender.

En la Figura II.11 se observa un perfil de viscosidad típico de un amilógrafo Brabender.

En la misma puede apreciarse que al inicio, no se perciben efectos de viscosidad y la suspensión del almidón se calienta, hasta alcanzar la temperatura de gelatinización, que se denomina temperatura de viscosidad máxima (TV_{max}), luego los gránulos comienzan a hincharse, hasta alcanzar la mayor viscosidad (V_{max}).

Otras variables analizadas en estas curvas son la viscosidad de la pasta caliente (VPC) medida luego de mantener la suspensión durante 30 minutos a 95 °C; la viscosidad de la pasta fría (VPF) que se mide al final del periodo de enfriamiento; la inestabilidad del gel, conocido como “breakdown” y se calcula como la diferencia entre V_{\max} y VPC y la reorganización del gel o “setback” como la diferencia entre VPF y V_{\max} .

La VPF es un factor importante al momento de seleccionar un material para conservar viscosidades adecuadas en cada proceso productivo; el incremento en la viscosidad de la pasta, durante el enfriamiento se asocia con el fenómeno de retrogradación y con el contenido de amilosa en los almidones.

La inestabilidad de la pasta (breakdown) está relacionado con la fragmentación mecánica, así, a mayor inestabilidad mayor será la exposición al rompimiento del gel por causas mecánicas, debido a la fragilidad de destrucción de los gránulos que se manifiesta con la pérdida de viscosidad en el sistema, lo que depende del tamaño del gránulo. A mayor tamaño se destruyen más fácilmente, ya que son más susceptibles a la ruptura por las fuerzas térmicas o mecánicas aplicadas (Hoyos-Leyva y col., 2012).

Y la reorganización de la pasta (setback) se manifiesta con el incremento de la viscosidad durante el período de enfriamiento debido a que se restablecen los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de amilosa y amilopectina, lo que da lugar a la consistencia tipo gel, debida a la pérdida de calor en el sistema y al proceso de retrogradación que se genera (Hoyos-Leyva y col., 2012).

CAPÍTULO III

III.1 MATERIALES Y MÉTODOS

III.1.1 Muestras

Un lote de 5 kg de almidón de mandioca fue adquirido al azar del mercado local entre los meses de febrero-marzo de 2016. El almidón (ALDEMA®) es proveniente de una planta industrial ubicada en la ciudad de Puerto Rico, provincia de Misiones.

III.1.2 Almidón acetilado de mandioca

La acetilación del almidón de mandioca se llevó a cabo mediante dos métodos. En la figura III.1 se presentan las etapas y condiciones de métodos de acetilación empleados.

Método 1: Acetilación de bajo Grado de Sustitución (GS). Para la obtención de almidones acetilados de $GS < 0,2$; se aplicó el método desarrollado por Wurzburg (1964). Se pesó 50 g de almidón de mandioca, se añadió 112,5 mL de agua destilada y se mezcló utilizando un agitador magnético para mantener una suspensión homogénea. El pH se ajustó con una solución de NaOH al 3% manteniendo un pH inicial entre 8,0 – 8,5. Luego se agregó el anhídrido acético gota a gota, ajustando simultáneamente el pH de la suspensión entre 8,0 – 8,5 con NaOH hasta agregar todo el anhídrido requerido para obtener los diferentes grados de sustitución. En todo momento se mantuvo una vigorosa agitación y la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente (25 °C). La reacción se mantuvo durante 30 minutos. Seguidamente, se agregó HCl 0,5 N para bajar el pH a 4,5 y detener la reacción. Con la finalidad de eliminar el anhídrido acético remanente se enjuagó una vez con etanol y luego 3 veces con agua destilada. Por último, se filtró y se secó en estufa a 40 °C durante 48 hs.

Método 2: Acetilación de valores medios de Grado de Sustitución. Para la obtención de almidones de valores medios de grado de sustitución ($0,2 < GS < 1,5$) se aplicó el método de Mark-Mehlretter (1972) con algunas modificaciones. 40 g de almidón se depositaron en un vaso precipitado adicionando anhídrido acético. La suspensión se agitó durante 5 minutos y luego se incorporó gota a gota solución acuosa de NaOH al 50%. Inmediatamente se incrementó la temperatura a 123 °C en 15 minutos

aproximadamente y se mantuvo la reacción durante un tiempo determinado con vigorosa agitación mediante un agitador magnético con placa calefactora. Se agregó agua fría en exceso para finalizar la reacción. Se dejó sedimentar y se enjuagó 3 veces con agua destilada. Finalmente se filtró y se secó en estufa a 40 °C durante 48 horas.

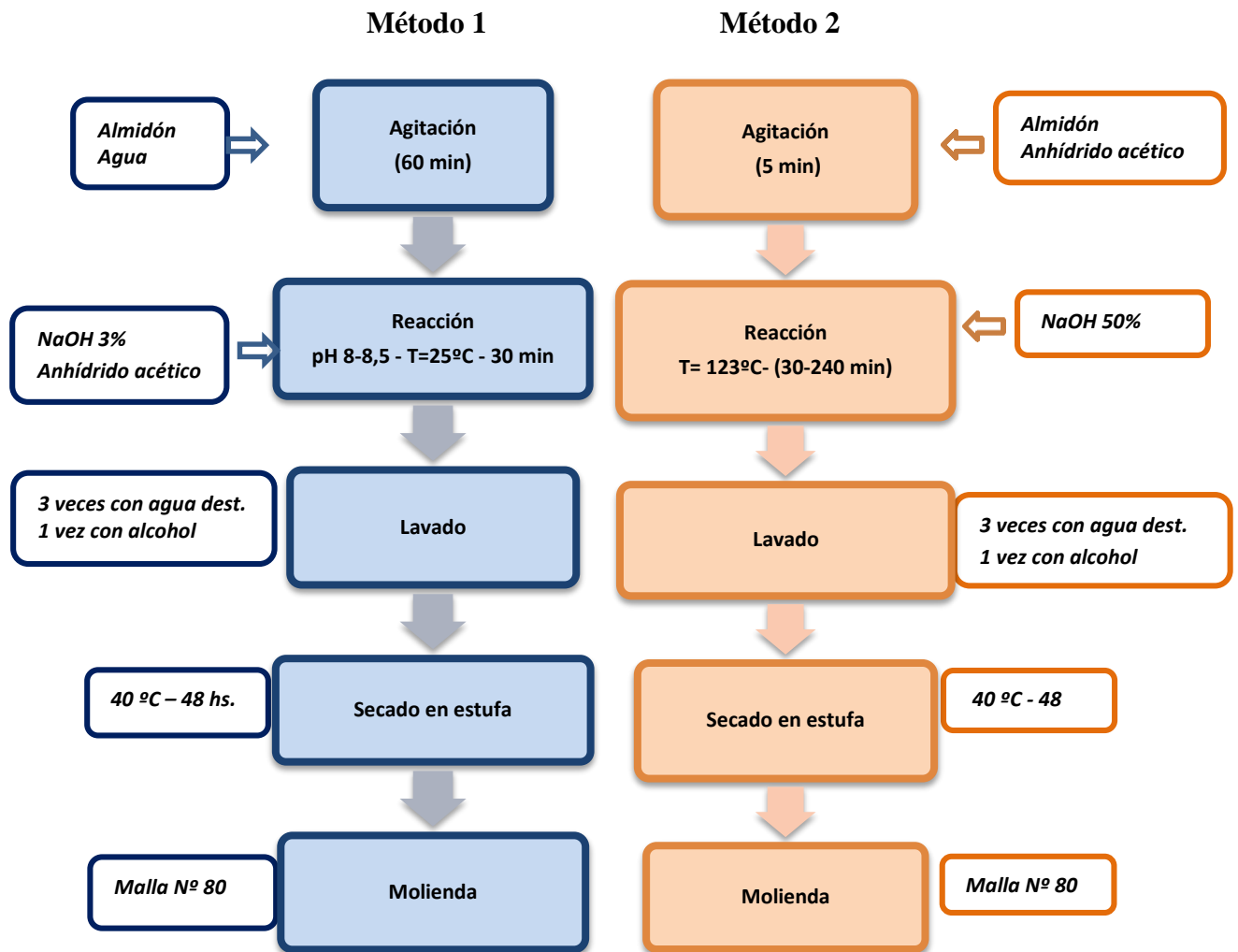


Figura III- 1: Diagrama de flujo de los métodos de acetilación (Método 1: Wurzburg, 1964; Método 2: Mark-Mehlretter, 1972).

III.1.3 Condiciones experimentales

En el presente trabajo se obtuvieron almidones modificados de mandioca utilizando los métodos descritos en la sección anterior, con el fin de obtener almidones acetilados que cubran un amplio rango de grados de sustitución (0-1,5). En

la tabla III.1 se pueden ver las condiciones de los ensayos, donde en una primera serie de experiencias se utilizó el método 1, variando la concentración del anhídrido acético entre 2 y 20% (g/g de almidón), manteniendo la reacción durante 30 minutos.

Tabla III-1: Condiciones experimentales de las reacciones de acetilación

<i>Método 1</i>			
Ensayo	almidón/agua	g anhídrido acético/ 100 g almidón	Tiempo de reacción (min)
1	1: 2,25	2	30
2	1: 2,25	4	30
3	1: 2,25	6	30
4	1: 2,25	8	30
5	1: 2,25	10	30
6	1: 2,25	12	30
7	1: 2,25	14	30
8	1: 2,25	20	30
<i>Método 2</i>			
Ensayo	almidón/ agua	g NaOH 50%/100 g almidón	Tiempo de reacción (min)
9	1: 3	10	30
10	1: 3	10	60
11	1: 3	10	105
12	1: 3	10	240
13	1: 2	05	30
14	1: 2	10	30
15	1: 2	20	30

En una segunda serie de ensayos se utilizó el método 2, variando el tiempo de reacción entre 30 y 240 minutos, manteniendo constantes las relaciones almidón/anhídrido acético y NaOH/almidón. En una tercera serie de experiencias, se

aplicó el método 2 de acetilación variando la relación de NaOH respecto a la masa de almidón entre 0,05 y 0,2 (p/p). En este caso se mantuvieron constantes la relación almidón/anhídrido acético y el tiempo de reacción (30 minutos).

III.1.4 Determinación del grado de sustitución

III.1.4.1 Almidones acetilados con GS < 0,2

El grado de sustitución se determinó mediante la técnica desarrollada por Ogawa y col. (1999). Se pesaron 5 g de cada muestra de almidón modificado se dispersaron con 50 mL de agua destilada en un erlenmeyer. Se adicionaron unas gotas de fenolftaleína y se ajustó el pH con NaOH 0,1 M hasta observar un cambio de color en la solución. Luego se agregaron 25 mL de NaOH 0,45 M y la mezcla se agitó durante 30 min, con el erlenmeyer tapado para evitar la evaporación del acetato de sodio formado durante la reacción de saponificación. Finalmente, el exceso de álcali en la muestra se tituló con una solución valorada de HCl 0,2 M. Se realizó un ensayo en blanco (sin almidón) siguiendo el mismo procedimiento. El porcentaje de sustitución, o bien, porcentaje de grupos acetilos (GA%) corresponde a los gramos del sustituyente en 100 g de almidón seco modificado (Wurzburg, 1986) y se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$GA\% = \frac{(A - B) \times N_{HCl} \times 43 \times 100}{M}$$

donde

A: Volumen gastado de HCl para titular la muestra (mL)

B: Volumen gastado de HCl para titular el blanco (mL)

N_{HCl} : Normalidad de la solución de HCl

43: Peso molecular del grupo acetilo (CH_3CO^-) (mg/mmol)

M: Masa de la muestra de almidón (mg)

El grado de sustitución de los almidones modificados se define como el número promedio de grupos hidroxilos (OH) que fueron reemplazados por grupos acetilos ($CH_3-C=O$) por unidad estructural de anhidroglucosa del polímero de almidón

(Wurzberg, 1964). El GS de los almidones acetilado se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$GS = \frac{162 \times \left(\frac{GA\%}{43}\right)}{100 - \left(\frac{42}{43} \times GA\%\right)}$$

donde

162: Peso molecular de la unidad anhidroglucosa (C₆H₁₀O₅), (mg/mmol).

43: Peso molecular del grupo acetilo (CH₃CO-), (mg/mmol).

42: Peso molecular del sustituyente monomérico (-CH₂CO-), (mg/mmol).

III.1.4.2 Almidones acetilados con GS entre 0,2 - 1,5

Para la determinación del grado de sustitución de los almidones acetilados con valores medio de GS se utilizó el método desarrollado por Xu, Miladinov y Hanna (2004). Se pesaron 0,5 g de almidón acetilado y se transfirieron a un erlenmeyer, en el que se añadió 50 mL de agua destilada, 25 mL de NaOH 0,5 N y se mantuvo a 50 °C durante 30 minutos en un baño termostatzado (VICKING, Dubnoff 5002, Serie N° 24581, Industria Argentina) hasta obtener una solución transparente. Se dejó reposar para completar la saponificación durante 72 horas con eventual agitación. Finalmente el exceso de NaOH se tituló con HCl 0,5N. Las determinaciones se efectuaron por triplicado. El GS se calculó de la siguiente manera:

$$GS = \frac{162 * (N_{NaOH} * V_{NaOH} - N_{HCl} * V_{HCl})}{(1000 * W) - [42 * (N_{NaOH} * V_{NaOH} - N_{HCl} * V_{HCl})]}$$

Donde:

N_{NaOH}: normalidad del NaOH

V_{NaOH}: volumen de NaOH (mL)

N_{HCl}: normalidad del HCl

V_{HCl}: es el volumen de HCl (mL)

W: peso de la muestra (g)

III.1.5 Caracterización de los almidones

III.1.5.1.1 Caracterización en estado sólido

Los almidones obtenidos con la metodología descrita anteriormente, fueron caracterizados mediante los métodos que se describen a continuación.

III.1.5.1.2 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier

Las muestras de almidón nativo y sintetizado en el presente trabajo fueron analizadas en un espectrofotómetro FT-IR (Perkin Elmer, GX, USA). El barrido se realizó dentro de un rango de números de onda desde 4000 hasta 550 cm^{-1} . Para la preparación de las muestras, tanto de almidón acetilado como nativo, el polvo se mezcló en un mortero con KBr en una relación 10:1 aproximadamente, hasta obtener partículas finas y homogéneas. Luego se formó por prensado una pastilla translúcida que se colocó en el equipo para hacer incidir la radiación IR y proceder a la lectura del correspondiente espectro.

III.1.5.1.3 Microscopía electrónica de barrido

Las muestras de almidón acetilados fueron observadas mediante un microscopio electrónico de barrido (Zeiss-Sigma, Germany), equipado con un detector secundario de electrones y un voltaje de aceleración de 15 KV. Las muestras se montaron en porta muestras de bronce con una cinta bifaz y se recubrieron con una capa de oro (40-50 nm), permitiendo así la visualización de las superficies.

III.1.5.1.4 Isotermas de sorción

Las isotermas de sorción de muestras de almidón nativo y acetilados se determinaron pesando aproximadamente 2 g de muestra, secadas previamente en estufa (O.R.L.®, Argentina), se colocaron en recipientes herméticos que contenían soluciones saturadas de diferentes sales cuyas actividades acuosas variaron entre 0,113 y 0,936 (Tabla III.2) y se almacenaron a 25 °C hasta que alcanzaron el equilibrio (aproximadamente 20 días). La humedad final de las muestras se determinó por el método gravimétrico secando en estufa a 105°C hasta peso constante. Las isotermas de sorción de los almidones se determinaron por triplicado.

Se han desarrollado numerosas expresiones matemáticas para ajustar los datos experimentales, teniendo como base los mecanismos fisicoquímicos y termodinámicos. Los modelos matemáticos usados con mayor frecuencia son los propuestos por Brunauer, Emmett y Teller (BET) y por Guggenheim, Anderson y De Boer (GAB), siendo este último el que describe el fenómeno en todo el espectro de las isothermas de sorción. Ambos se basan en los principios de la monocapa.

El modelo de BET ajusta las isothermas dentro de un intervalo limitado de valores de a_w , no obstante, el concepto del valor de monocapa de BET, se acepta como punto de referencia del contenido de humedad de mayor estabilidad para los alimentos secos. El intervalo de a_w al que aplica este modelo es de 0 a 0,55. Las limitaciones del modelo de BET a altos niveles de a_w , produjeron el desarrollo de otros modelos, como el de GAB, para la región de multicapas.

Tabla III-2: Actividades de agua de soluciones saturadas de diferentes sales

<i>Solución saturada</i>	<i>Actividad acuosa</i>
Cloruro de Litio	0,113
Cloruro de Magnesio	0,328
Nitrato de Magnesio	0,529
Bromuro de Sodio	0,576
Cloruro de Cobalto	0,649
Nitrato de Sodio	0,742
Cloruro de Sodio	0,753
Cloruro de Potasio	0,843

El modelo de GAB representa adecuadamente los datos experimentales en un intervalo de a_w de 0 a 0,95 para la mayoría de los alimentos, de interés práctico. Ambas ecuaciones, BET y GAB, están basadas en los mismos principios de la monocapa, sin embargo el modelo de GAB introduce un grado de libertad adicional (la constante k) que le otorga gran versatilidad, ya que en el modelo de BET asume que la adsorción física se localiza en las multicapas sin interacciones laterales. Con la incorporación del parámetro k , el modelo de GAB asume que las moléculas en multicapas, tienen

interacciones con el adsorbente en valores energéticos similares a los que tienen las moléculas de la monocapa (Ramírez-Miranda y col., 2014).

Los datos experimentales obtenidos se modelaron matemáticamente con el modelo de GAB utilizando regresión no lineal. El modelo de GAB se representa por la siguiente ecuación.

$$X = \frac{X_m \cdot c \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w) \cdot (1 + (C - 1) \cdot k \cdot a_w)}$$

Las constantes del modelo de GAB, representan:

X: Humedad de equilibrio (g agua/g sólido seco).

X_m : contenido de humedad de equilibrio de la monocapa (g agua/g sólido seco).

a_w : actividad acuosa

c: es la constante de Guggenheim, característica del producto y relacionada con el calor de adsorción de la monocapa.

k: es un factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa.

Se estimaron los valores de los parámetros y la bondad de ajuste de los mismos a través del coeficiente de correlación (R^2) y el error medio porcentual.

El error medio porcentual (EMP) se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$EMP = \frac{100\%}{n} \sum_{t=0}^n \frac{a_t - f_t}{a_t}$$

Donde a_t es el valor observado, f_t es el valor estimado con el modelo y n es el número de observaciones de la experiencia.

III.1.5.1 Caracterización de la dispersión

III.1.5.2.1 Determinación del índice de solubilidad en agua y poder de hinchamiento

Para la determinación del índice de solubilidad en agua (ISA) y el poder de hinchamiento (PH) se utilizó la técnica desarrollada por Leach, McCowen y Schoch

(1959), con algunas modificaciones (Colussi y col., 2014). Se pesó 1 g de muestra y de dispersó en 50 mL de agua destilada en un tubo de centrifuga, los tubos se agitaron y se llevaron a un baño termostatzado (Vicking, Dubnoff, Argentina) manteniendo la temperatura durante 30 minutos en escalones de 10 °C desde 50 a 90 °C. Luego, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se centrifugaron a 5000 rpm durante 30 minutos en una centrífuga (Rolco, Argentina).

Para el cálculo del índice de solubilidad en agua, se colocó el sobrenadante en una cápsula, previamente secada y pesada, y se llevó a estufa a 103 ± 1 °C hasta peso constante.

$$ISA(\%) = \frac{W_{so} - W_c}{W_m} \times 100$$

Siendo:

W_{so} : peso de la cápsula con el sobrenadante seco (g)

W_c : peso de la capsula (g)

W_m : peso de la muestra en base seca (g)

La solubilidad se expresó como porcentaje de peso del sólido seco respecto al peso de almidón seco.

Para el cálculo del poder de hinchamiento se consideró el sedimento resultante de la centrifugación (almidón hidratado) y el peso inicial del almidón seco (restando la fracción soluble).

$$PH (g/g) = \frac{W_{se} - W_t}{W_m - ISA}$$

Siendo:

W_{se} : peso del sedimento húmedo (g)

W_t : peso del tubo vacío (g)

W_m , peso de la muestra en base seca (g)

ISA: fracción soluble

El resultado se expresó como los gramos del sedimento del gel por gramo de almidón. Las determinaciones se efectuaron por duplicado.

III.1.5.2.2 Claridad de las pastas

La claridad indica el grado de transparencia de las pastas y está directamente relacionada con el estado de dispersión de los solutos y con la tendencia a la retrogradación de los almidones. La capacidad para transmitir la luz cuando son sometidos al paso de un haz radiante mide su claridad. Se empleó la técnica propuesta por Piyachomkwan y col. (2002). Suspensiones acuosas de muestras de almidón al 4 % p/v se gelatinizaron durante 20 minutos en un baño de agua a 90°C y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Mediante un espectrofotómetro UV/Vis (SHIMADZU, UV: 2550, Japón) se midió el porcentaje de transmitancia de las suspensiones, a 650 nm y usando agua destilada como referencia. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

III.1.5.2.3 Perfiles de Viscosidad Brabender

Para determinar la temperatura de gelatinización de las muestras de almidón y las viscosidades en Unidades Brabender (UB), se consideró la norma ISI 19, 2000. Se preparó 500 mL de una suspensión acuosa de cada muestra de almidón al 5% en base seca, se ajustó el pH 5,5 y se analizó en un viscoamilógrafo Brabender (Micro-Visco-Amylo-Graph, 803201, Germany). El equipo trabajó con una rampa incremental de temperatura con una pendiente positiva de 3°C/minuto, elevando la temperatura inicial de 50°C a 95°C, la cual se mantuvo durante 30 minutos. Por último, se disminuyó la temperatura hasta 50°C con una rampa decreciente de temperatura con una pendiente negativa de 3°C/minuto, se mantuvo esta temperatura durante 5 minutos. A partir de los amilogramas resultantes se determinaron los valores de viscosidad máxima, fragilidad (breakdown), asentamiento (setback), expresadas en UB, y la temperatura de gelatinización (°C). Las medidas se realizaron por triplicado sobre cada muestra de almidón.

III.1.6 Análisis estadístico

El análisis estadístico y las regresiones de los datos experimentales se realizaron utilizando el software Statgraphics Centurión XVI (Statpoint Technologies, Inc,

EEUU). Los valores medios de las propiedades medidas experimentalmente se compararon mediante un análisis de varianza (ANOVA) teniendo en cuenta el tipo de almidón modificado, el grado de modificación y el efecto de las diferentes condiciones experimentales ensayadas.

III.2 RESULTADOS Y DISCUSION

III.2.1 Grados de sustitución de los almidones acetilados

- **Método 1: Acetilación de bajo grado de sustitución.**

Los resultados de grado sustitución del almidón de mandioca químicamente sustituido obtenidos por el método de Wurzburg (1964), se muestran en la Tabla III.3.

Tabla III-3: Grado de sustitución y porcentaje de grupos acetilos de almidones de mandioca acetilados obtenidos por el método de Wurzburg (1964)

<i>Ensayo</i>	<i>Denominación*</i>	<i>g anhídrido acético/ 100 g almidón</i>	<i>GS</i>	<i>GA%</i>
1	AA _{0,04}	2	0,040±0,002	1,054±0,060
2	AA _{0,06}	4	0,061±0,001	1,583±0,031
3	AA _{0,08}	6	0,078±0,002	2,030±0,056
4	AA _{0,07}	8	0,069±0,002	1,789±0,049
5	AA _{0,10}	10	0,096±0,001	2,498±0,019
6	AA _{0,12}	12	0,118±0,001	3,044±0,037
7	AA _{0,14}	14	0,144±0,001	3,693±0,012
8	AA _{0,17}	20	0,173±0,002	4,405±0,064

En la Figura III.2 se muestran los valores obtenidos del grado de sustitución de los almidones acetilados respecto al porcentaje de reactivo empleado. El grado de sustitución aumentó a medida que se incrementa la concentración de anhídrido acético, lográndose un GS máximo de 0,17 que corresponde a una concentración del 20% de anhídrido acético. Los resultados ajustaron a una relación lineal con un R^2 igual a 0,96, dentro del rango estudiado. Además, se pudo comprobar, en el caso de almidón de mandioca, utilizando concentraciones mayores que 20% de anhídrido acético, la reacción de acetilación no era factible, ya que se gelatinizaba el almidón y se formaba

una pasta viscosa, lo cual dificultaba la continuidad de la reacción. Con este método de acetilación, se pudo llegar a un valor de GS máximo igual a 0,173.

Estos resultados concuerdan con los que obtuvieron Xu, Miladinov y Hanna (2004), quienes estudiaron almidón de maíz y encontraron que el GS es directamente proporcional a la concentración del reactivo (anhídrido acético).

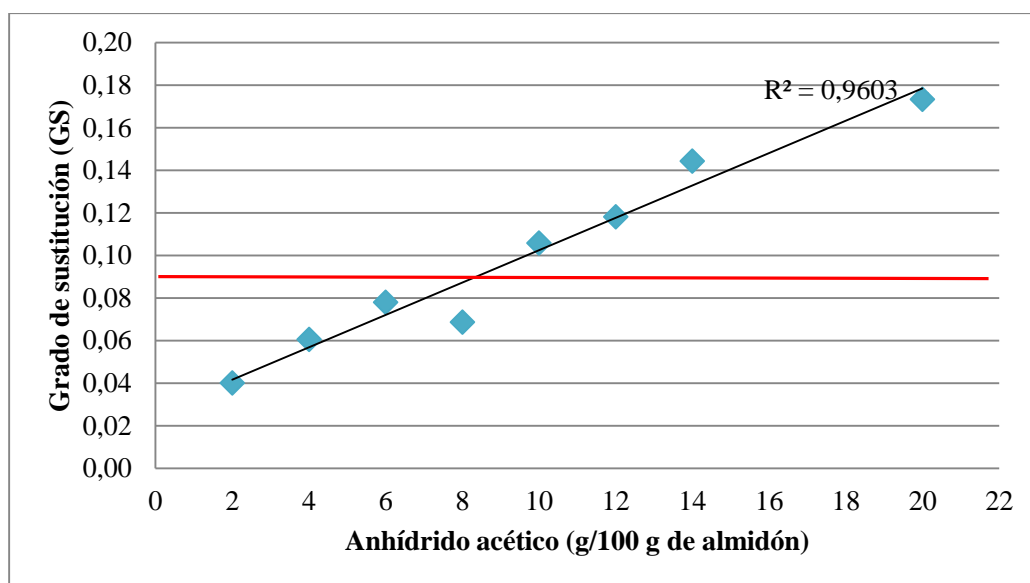


Figura III- 2: Variación del GS en función de la concentración de anhídrido acético

Las muestras que se obtuvieron al reaccionar con 2, 4, 6, 8 y 10 g anhídrido acético/100 g almidón, permitieron obtener GS entre 0,04 y 0,096, equivalente a 1,054 y 2,498 GA%. Estos almidones, cumplen con las reglamentaciones vigentes para el uso como aditivos alimentarios, ya que el CAA considera que los almidones acetilados puede utilizarse con el máximo permiso de grupos acetilos 2,5%. En la Figura III.5 se indica con una línea roja el nivel máximo de GS permitido por la reglamentación. De esta manera, utilizando el método 1 de acetilación, se obtuvieron derivados de almidón de mandioca que pueden ser utilizados como aditivos alimentarios.

Resultados similares fueron obtenidos por Osundahunsi, Seidu y Mueller (2014), quienes utilizaron diferentes concentraciones de anhídrido acético y obtuvieron almidón

acetilado de mandioca (*Manihot esculentum Crantz*) con GS comprendido entre 0,034 y 0,213. Estos autores, estudiaron además, dos cultivares distintos de mandioca y comprobaron que el tipo de cultivo tuvo un significativo efecto sobre el grado de acetilación.

Mbougoung y col., (2012) estudiaron el efecto de la acetilación en almidón de papa y mandioca utilizando el método que se emplea en el presente trabajo de tesis, donde agregaron 6 g de anhídrido acético/ 100 g de almidón, manteniendo la reacción durante 10 y 20 minutos. Los autores encontraron que no hubo diferencia en el GS después de 10 min de reacción entre los almidones de mandioca y papa, mientras que a los 20 min si se observaron diferencias significativas, con valores más altos para el almidón de papa. Esta diferencia en GS de los distintos almidones fue atribuida, principalmente, a la diferencia de tamaño y fragilidad de los gránulos.

Sodhi y Singh (2005) acetilaron almidón de arroz de 5 cultivares distintos en condiciones similares de reacción, agregando 6 g de anhídrido acético. Estos autores obtuvieron GA% comprendidos entre 2,26 y 3,68, equivalente a GS entre 0,087 y 0,144, y atribuyeron estas diferencias a la variabilidad debida a los distintos cultivares, en el contenido de amilosa, estructura granular, disposición de las cadenas de amilosa y amilopectina y la forma en que la cadena de amilosa se empaqueta en las regiones amorfas.

- **Método 2: Acetilación de valores medios de grado de sustitución.**

Con este método se obtuvieron almidones acetilados con mayores GS que con el método anterior, resultados esperados ya que en este método se emplea mayor cantidad de anhídrido acético, además de mayor concentración de catalizador y mayor temperatura. Los resultados de GS y GA% se muestran en las Tablas III.4 y III.5, que corresponden a las reacciones que se llevaron a cabo utilizando como variables, la concentración del catalizador y el tiempo de reacción.

Tabla III-4: Grado de sustitución y porcentaje de grupos acetilos de almidones acetilados obtenidos variando la concentración de catalizador.

<i>Ensayo</i>	<i>Denominación</i>	<i>g NaOH 50%/100 g almidón</i>	<i>GS</i>	<i>GA%</i>
9	AA_{0,41}	5	0,41±0,02	9,94±0,46
10	AA_{0,90}	9	0,90±0,02	19,19±0,38
11	AA_{1,03}	10	1,03±0,01	21,58±0,23
12	AA_{1,28}	20	1,28±0,06	25,51±0,85

En la Figura III.3 se observa los valores obtenidos de GS respecto a la concentración del catalizador. La mayor variación del GS se obtuvo cuando se utilizaron las menores concentraciones del catalizador. Sin embargo, al aumentar la concentración del NaOH, la variación del GS fue menor. La curva que representa la variación del grado de sustitución en función de la concentración del catalizador no presentó un buen ajuste lineal en el rango estudiado ($R^2=0,75$).

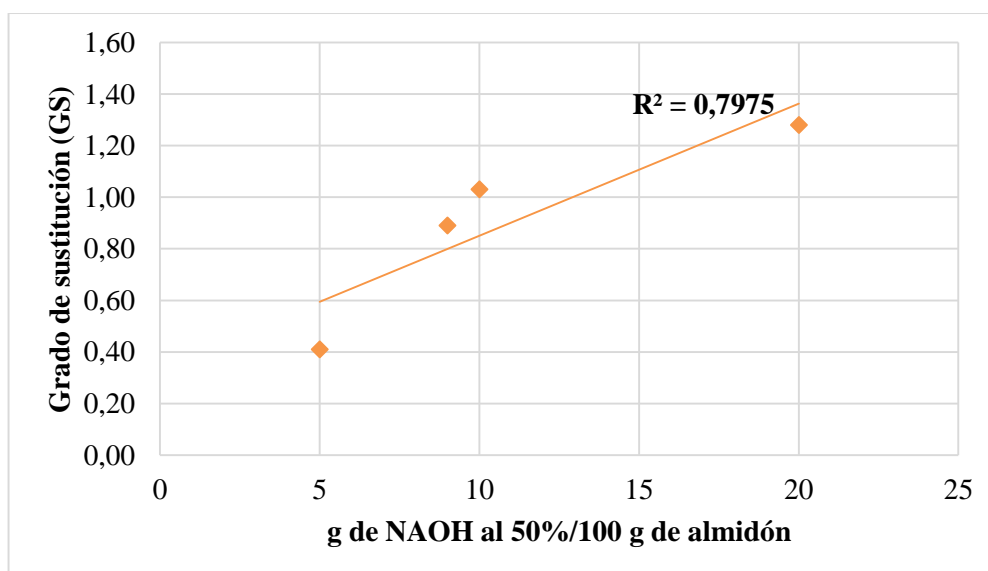


Figura III- 3: Variación del GS respecto a la concentración de NaOH

Xu, Miladinov y Hanna (2004), acetilaron almidón de maíz de alta amilosa (70%) en condiciones de reacción similares a las estudiadas en el presente trabajo, variando entre 15 y 34% la cantidad de NaOH y observaron un aumento del GS en función de NaOH desde 1,65 hasta 2,59; obteniendo además, una variación aproximadamente lineal.

Mello El Halal y col., (2015) acetilaron almidón de cebada en condiciones similares con diferentes concentraciones de catalizador 11, 17 y 23 g de NaOH al 50% por 100 g de almidón, y obtuvieron GS igual a 0,08, 0,22 y 0,31 respectivamente.

Tabla III-5: Grado de sustitución y porcentaje de grupos acetilos de almidones acetilado variando el tiempo de reacción.

<i>Ensayo</i>	<i>Denominación</i>	<i>Tiempo de reacción (min)</i>	<i>GS</i>	<i>Ga%</i>
13	AA_{0,72}	30	0,72±0,03	16,20±0,66
14	AA_{0,75}	60	0,75±0,04	16,66±0,79
15	AA_{1,04}	105	1,04±0,04	21,74±0,69
16	AA_{1,36}	240	1,36±0,06	26,75±0,92

En los ensayos de acetilación donde se varió el tiempo de reacción, manteniendo constante las concentraciones de reactivos y catalizador, se observó que el GS aumentó en menor medida a tiempos cortos de reacción (Tabla III-5). Con estos resultados se analizó la cinética de reacción y se obtuvo el mejor ajuste ($R^2=0,96$) con una ecuación de orden cero y una constante de velocidad (k) igual a $0,15 \text{ h}^{-1}$. Guerra Della Valle (2007) acetiló almidón de plátano y maíz en condiciones similares de reacción y obtuvo, a las 6 horas de reacción, grados de sustitución igual a 2,6 y 3, respectivamente. Además, la constante de velocidad de reacción (k) fue $0,67$ y $0,23 \text{ h}^{-1}$ para los almidones de plátano y maíz, respectivamente. Las diferencias en las constantes de la

reacción pudieron deberse al contenido de amilosa, ya que el almidón de plátano contiene 37% y el maíz un 30% y a la presencia de diversos compuestos (polifenoles) en el almidón de plátano que dificulta la reacción de acetilación. Colussi y col., (2014) estudiaron la acetilación al almidón de arroz de alta, media y baja amilosa con diferentes tiempos de reacción, y encontraron que el almidón de baja amilosa presentó mayor facilidad para la inserción de los grupos acetilos en comparación con los almidones de media y alta amilosa.

Xu, Miladinov y Hanna (2004) acetilaron almidón de maíz de alta amilosa y obtuvieron resultados similares a los de la presente tesis, observando un aumento del grado de sustitución a medida que aumentó el tiempo de reacción, donde ese incremento no fue lineal, presentando una mayor velocidad a cortos tiempos y una reacción más lenta a tiempos más largos de acetilación.

III.2.2 Caracterización de los almidones

En base a los resultados anteriores, se seleccionaron condiciones experimentales expuestas en la Tabla III-1 con la finalidad de obtener muestras de almidones acetilados que abarquen un amplio rango de GS. Luego, se procedió a la caracterización de los almidones acetilados y se comparó sus propiedades con las del almidón nativo. Se evaluaron propiedades moleculares a través de espectrofotometría infrarroja, propiedades morfológicas mediante microscopia electrónica de barrido, propiedades funcionales, como solubilidad, hinchamiento, viscosidad y además la humedad de equilibrio mediante isotermas de sorción.

III.2.2.1 Espectrofotometría Infrarrojo con Transformada de Fourier

En la Tabla III.6 se presenta las señales típicas que aparecen en el espectro de un almidón nativo. En la Figura III.7, se presentan de manera comparativa los resultados de la caracterización por FTIR de los almidones nativo (AN) y sintetizados (AA_{0,10}; AA_{0,17}; AA_{0,72}; AA_{0,89} y AA_{1,28}) estudiados en el presente trabajo de tesis. Las señales observadas entre 1000 y 1200 cm⁻¹ se le atribuyen al estiramiento del enlace C-O. Otros

picos de absorción que pueden observarse son: alrededor de 1641 cm^{-1} que corresponderían al agua ligada, alrededor de 2960 cm^{-1} que podría atribuirse a la vibración C-H y una banda ancha alrededor de 3450 cm^{-1} , que resultaría de la vibración del grupo hidroxilo (Diop y Col, 2011).

Tabla III-6: Señales características de FTIR de almidones nativos

<i>Nº de onda (cm^{-1})</i>	<i>Asignación</i>
3900 - 3300	Estiramientos O-H
2920	Estiramientos C-H
1640	Agua ligada $\delta(\text{O-H})$
1462	CH_2
1445-1325	Flexiones y ligamientos C-H
1243	Ligamientos O-H
1250 - 900	Estiramientos C- O

Fuente: Mano y col., (2003)

Si comparamos la curva de AN con las curvas de los almidones modificados podemos observar que después de la reacción de acetilación aparecen bandas de absorción que no estaban presentes, por ejemplo la banda a 1250 cm^{-1} , que correspondería específicamente al estiramiento del C-O del carbonilo, la señal cercana a 1400 cm^{-1} que indicaría la vibración de CH_3 asimétrica y un pico a 1760 cm^{-1} , que podría atribuirse al carbonilo (C=O). En estudios realizados en almidones acetilados de diferentes fuentes botánicas (papa, maíz y cebada) también se observaron estas bandas de absorción características (Xu, Dzenis y Hanna, 2005; Xu, Miladinov y Hanna, 2004; Bello – Perez y col., 2010). Estas nuevas bandas de absorción sugieren que los grupos éster carbonílico se formaron durante el proceso de esterificación del almidón, obteniendo como producto almidón acetilado (Chi y col., 2008). Como se observa en la Figura III.7, la altura y el área de estos picos tienen relación directa con el grado de sustitución. De esta manera, se pudo verificar la presencia de los grupos acetilos en el almidón de mandioca modificado, y como era de esperar, se observó una correlación

directa de la altura del pico a 1760 cm^{-1} con los valores obtenidos previamente por métodos químicos de GS.

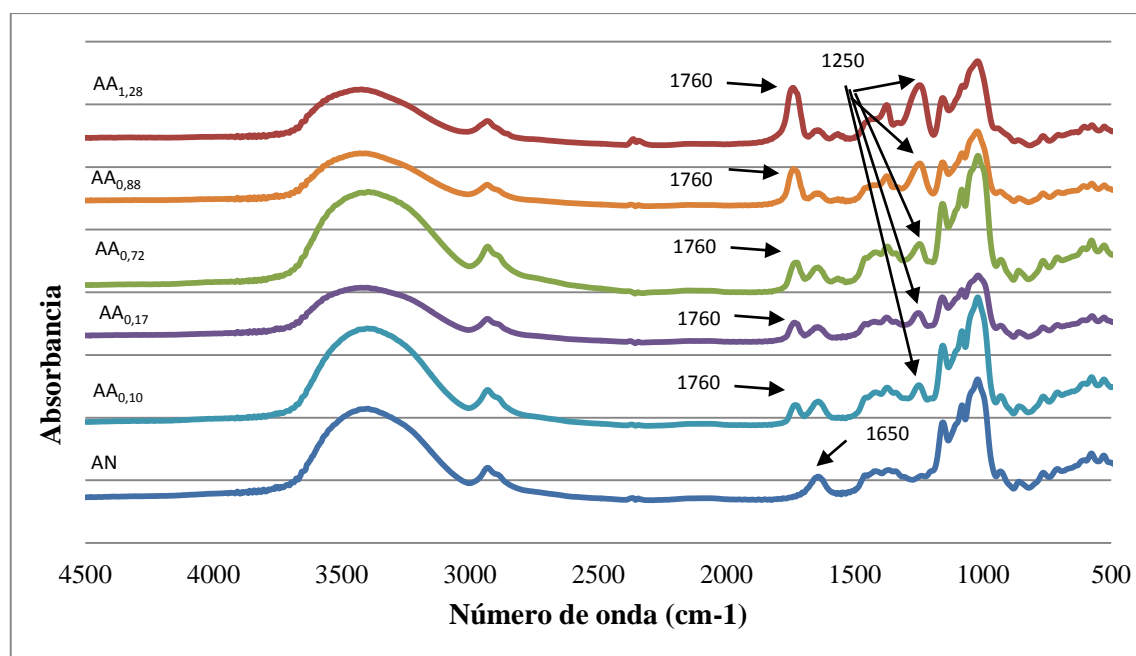


Figura III- 4: Espectro FTIR de almidones de mandioca nativo y acetilados.

Diferentes autores encontraron, en concordancia con los resultados experimentales de la presente tesis, picos atribuidos al grupo carbonilo en curvas de FTIR en un rango comprendido entre $1724 - 1735\text{ cm}^{-1}$ en almidones acetilados de distintas fuentes, entre ellos: maíz, papa, avena, mandioca y arroz (Xu, Miladinov y Hanna, 2004, 2005; Mbougoung y col., 2012; Sing y col., 2004; Sodhi y Singh, 2005; Zhao y col., 2018).

En la Figura III-4 se observa además una disminución en las señales correspondiente a la vibración de estiramiento ($3000-3900\text{ cm}^{-1}$) y a la vibración de flexión (1650 cm^{-1}) del grupo O-H, lo que podría atribuirse a una menor afinidad con el agua debido a la sustitución de los grupos OH por los grupos $\text{CH}_3\text{-C=O}$ (Colussi y col., 2014). Resultados similares a los del presente trabajo de tesis fueron publicados por Bello – Perez y col., (2010), quienes registraron un incremento en la señal cercana a

1740 cm^{-1} en almidones acetilados de cebada, tanto de bajo como alto grado de sustitución, y una disminución en las absorciones correspondiente a la vibración de estiramiento y a la vibración de flexión del grupo OH.

III.2.2.2 Propiedades morfológicas

En la Figura III.5 se muestran las micrografías SEM de los almidones de mandioca nativo (AN) y acetilados ($AA_{0,41}$; $AA_{0,89}$ y $AA_{1,28}$), donde se observa que los gránulos de almidón nativo presentan formas esféricas, con superficies lisas, algunos tienen forma de esferas truncadas y otros se parecen a hojuelas. En algunas zonas de la micrografía, se puede observar que los gránulos se agrupan formando racimos. Observaciones similares de los gránulos de almidón de mandioca han sido reportadas por Mbougoung y col., (2012).

Los gránulos de almidón acetilado ($AA_{0,41}$) no presentan diferencias morfológicas con respecto al almidón nativo. En la muestra de almidón acetilado ($AA_{0,89}$), en cambio, se observó la formación de conglomerados y en la muestra acetilada a $DS=1,28$ se observó, además de la formación de conglomerados, pérdida de estructura de los gránulos y aparición de rugosidad en la superficie. Esto último puede deberse a que la reacción de acetilación se lleva a cabo en condiciones más drásticas, con mayor concentración de reactivo y tiempo de reacción. Resultados similares fueron reportados por Xu, Miladinov y Hanna, (2004) y Sodhi y Singh (2005).

La deformación de los gránulos podría deberse a la incorporación de grupos éster que aumentan el volumen interno de la molécula y reduce la tensión intermolecular provocada por los enlaces hidrógeno causando la apertura de la estructura del gránulo. Estas transformaciones morfológicas podrían ser causa de la disrupción de los gránulos durante el proceso de calentamiento y de la formación de agregados (Diop y col., 2011).

Cambios morfológicos en los gránulos también fue observado en otros tipos de almidón a medida que aumenta el GS. Bello-Perez y col., 2010 encontraron cambios en

el tamaño y la forma de los gránulos en almidón de cebada con GS 0,9. Singh y col. 2004, también observaron fusión entre los gránulos de almidón acetilado de papa y maíz con bajos GS, a partir de 0,22 y 0,149, respectivamente.

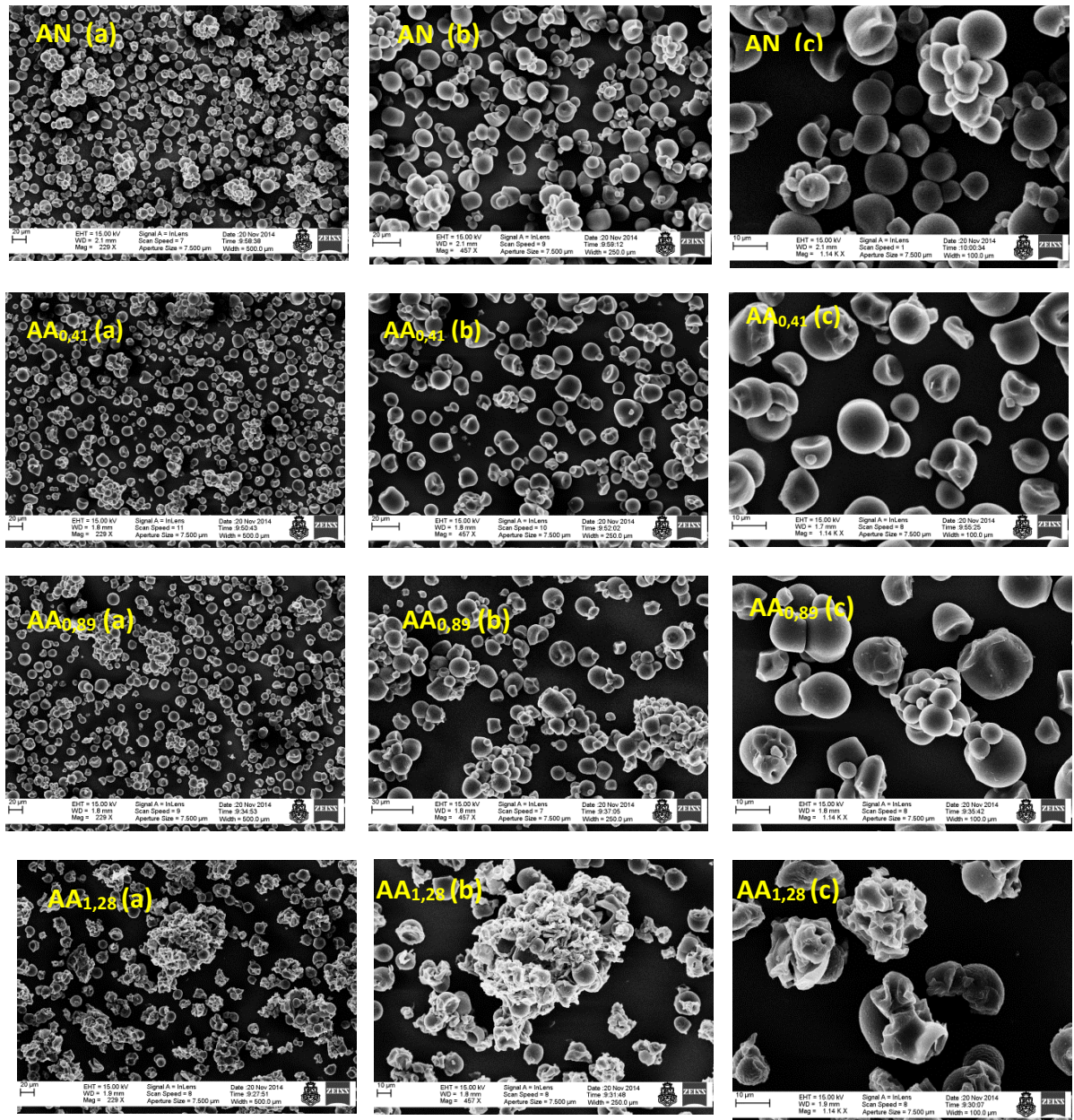


Figura III- 5: Micrografías SEM de almidones de mandioca nativo (AN) y acetilados (AA_{0,41}, AA_{0,89}, AA_{1,28}) con diferentes magnificaciones (a) 229X; (b) 457X y (c) 1140X.

III.2.2.3 Índice de solubilidad en agua (ISA) y poder de hinchamiento (PH)

Los resultados de las medidas de solubilidad del almidón nativo y acetilados se presentan en la Figura III.6. La totalidad de los valores obtenidos de cada muestra se pueden ver en el Anexo III.

El ISA indica la cantidad de carbohidrato soluble que permanece en la fase acuosa. A medida que aumenta el GS se observó un aumento en el ISA alcanzando un valor máximo, para un grado de sustitución igual a 0,72, para mayores GS la solubilidad disminuyó. Este pico de solubilidad se observó a todas las temperaturas.

La baja solubilidad del almidón nativo puede explicarse por su estructura interna semicristalina y/o su capacidad para formar un complejo lipídico (Singh y col., 2004).

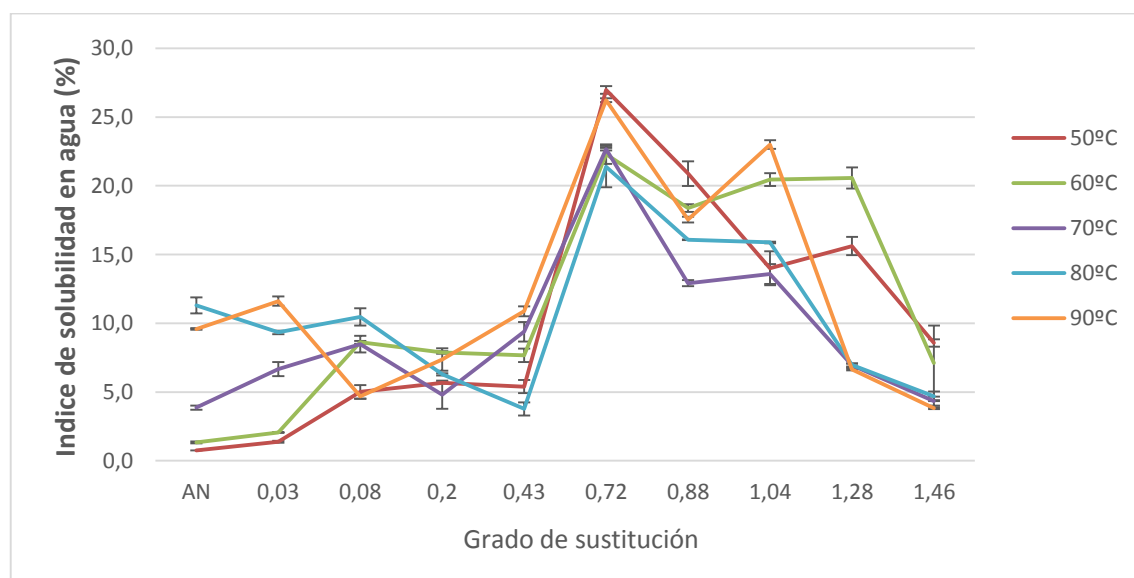


Figura III- 6: Índice de solubilidad en agua a distintas temperaturas para almidones de mandioca nativo y acetilados.

Un aumento del ISA para almidones de bajo GS podría deberse a que se produce una reorganización estructural debido a la incorporación de grupos acetilos generando una apertura del gránulo por el efecto estérico (Singh y col., 2004). La

introducción de grupos acetilo voluminosos en la molécula de almidón impide la asociación entre cadenas en el acetato de almidón y aumenta el acceso de agua a la zona amorfa, provocando un incremento en la hidratación del gránulo de almidón (Xu, Dzenis y Hanna, 2005; Lawal, 2004). Por otra parte, en los almidones acetilados con $GS > 0,72$ se observó una disminución del ISA, es decir, que los almidones se volvieron más hidrófobos. Esto último podría deberse a la disminución de los grupos hidroxilos (hidrófilos) y al menor movimiento de moléculas de agua dentro de las moléculas de almidón (Diop y col, 2011).

Con respecto al poder de hinchamiento de los almidones, en la Figura III.7 se presenta la variación de este parámetro en función de los grados de sustitución a las distintas temperaturas ensayadas. La totalidad de los valores obtenidos de cada muestra se encuentran en el Anexo IV. Los resultados muestran que a bajas temperaturas (50 y 60 °C) el AN presentó menor grado de hinchamiento que los almidones acetilados; estos resultados se relacionan con las menores temperaturas de inicio de gelatinización de los almidones acetilados (Sección III.2.2.6).

Asimismo, se observó un significativo aumento del PH a medida que aumenta la temperatura en el almidón nativo y en los acetilados de bajo GS (hasta 0,2), en concordancia con lo encontrado por otros autores (Colussi y col., 2015; Osundahunsi, Seidu y Mueller, 2014; Shah y col., 2017), quienes obtuvieron almidón acetilado de dos cultivos distintos de mandioca (GS entre 0,03 y 0,213) y observaron que el poder de hinchamiento aumentó sustancialmente desde el intervalo de temperatura de 65 °C a 95 °C para almidones nativos y acetilados. De esta manera mostraron que hinchamiento de los gránulos era función de la temperatura (variable independiente) y lo atribuyeron a que el grupo acetilo introducido produce una disminución de asociación de las cadenas del almidón.

Para los almidones con bajo GS, el aumento del PH con la temperatura es mayor que en el AN. Osundahunsi, Seidu y Mueller (2014), han explicado que este comportamiento se debe al reemplazo de grupos OH del almidón por los grupos acetilos que previenen la interacción OH-H del polímero.

En el rango de GS entre 0,08 y 0,2 se observaron los máximos valores de hinchamiento en todas las temperaturas estudiadas. Este comportamiento fue similar para el ISA.

A medida que se incorporan más grupos acetilos, específicamente a partir de GS 0,2 el PH disminuyó y a partir de 0,43 volvió prácticamente independiente de la temperatura. Esto podría explicarse, ya que al aumentar el número de grupos acetilos se reduce la interacción con moléculas de agua, y consecuentemente se reduce el poder de hinchamiento y solubilidad. En consecuencia, los acetatos de almidón se vuelven más hidrófobos. Resultados similares fueron observados por Diop y Col. (2011), para valores de GS mayores a 1,80.

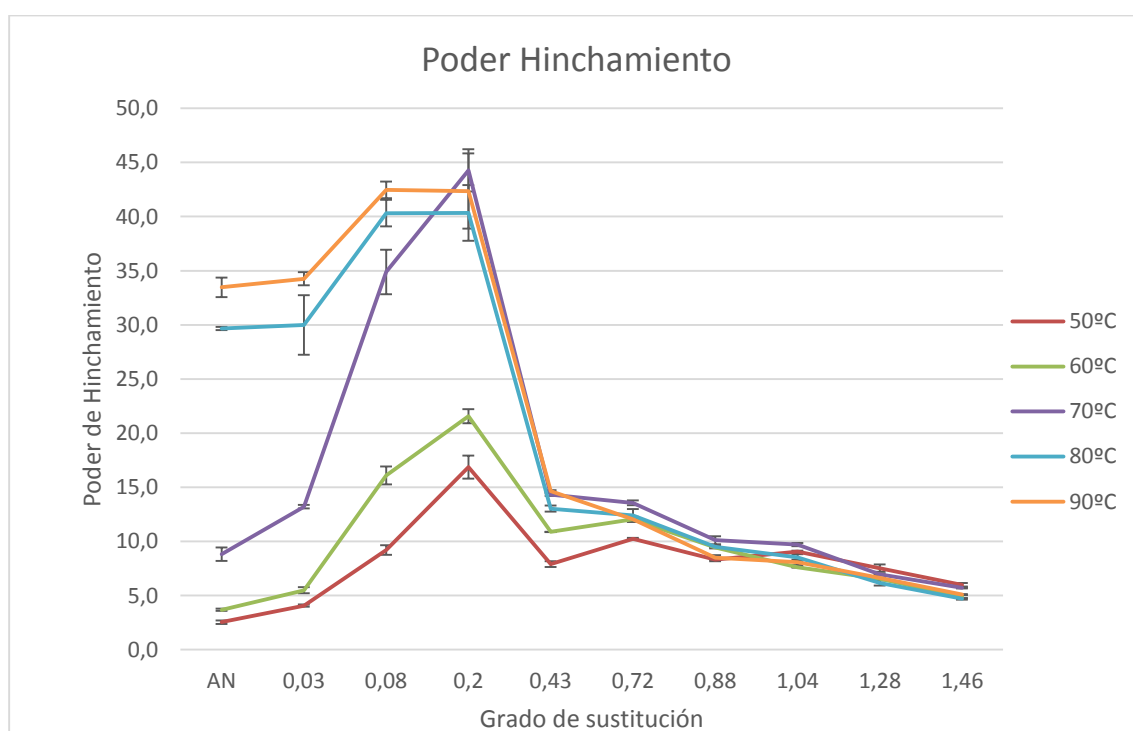


Figura III- 7: Poder de hinchamiento a distintas temperaturas para almidones de mandioca nativo y acetilados.

El poder de hinchamiento depende el GS y también de la naturaleza del almidón, es decir, de la proporción amilosa y amilopectina (Sjöqvist y Gatenholm, 2005; Colussi

2014); esto explica las fluctuaciones en los valores observados de hinchamiento y solubilidad entre diferentes trabajos publicados.

Según los resultados obtenidos en este trabajo, el grado de acetilación influyó tanto en la solubilidad de agua como en el hinchamiento de los gránulos de almidón, estando en concordancia con los resultados que obtuvieron Xu, Dzenis y Hanna, (2005). A medida que aumenta el GS en el almidón acetilado de mandioca se produce un aumento del hinchamiento y la solubilidad de agua hasta un cierto grado de sustitución, donde se llega a un valor máximo, observando luego una disminución al aumentar aún más la incorporación de los grupos acetilos en la molécula del polisacárido en estudio.

No existen antecedentes de investigación que determinen el ISA y PH en un amplio rango de GS (0,03 y 1,46). Se encontraron trabajos donde se determinaron dichos parámetros de diversas fuentes de almidón en rango de bajo GS y otros en zonas de altos GS, dependiente del método de acetilación utilizado. Es por eso, que los resultados obtenidos en este trabajo de tesis resultan de interés, ya que se logra observar el comportamiento de estos parámetros en las dos zonas.

III.2.2.4 Isotermas de sorción

En la Figura III.8 se observan las curvas experimentales de isotermas de adsorción y el ajuste de GAB para las muestras de almidones nativo y acetilados.

En los últimos años el modelo de GAB se ha convertido en uno de los más utilizados en la tecnología de alimentos. Las características generales de este modelo es que describe el comportamiento de sorción en un amplio rango de a_w (0,1 y 0,9), y sus parámetros tienen significado físico. El ajuste que presenta este modelo con los datos experimentales fue apropiado para las muestras analizadas ya que el error promedio porcentual fue menor 5% con un R^2 mayor a 96%.

Los resultados experimentales señalan que a una humedad de equilibrio del 90%, el AN absorbería alrededor de 20 g de agua/g sólido, en tanto que AA_{1,28}, absorbería 16,8 g de agua/ g sólido.

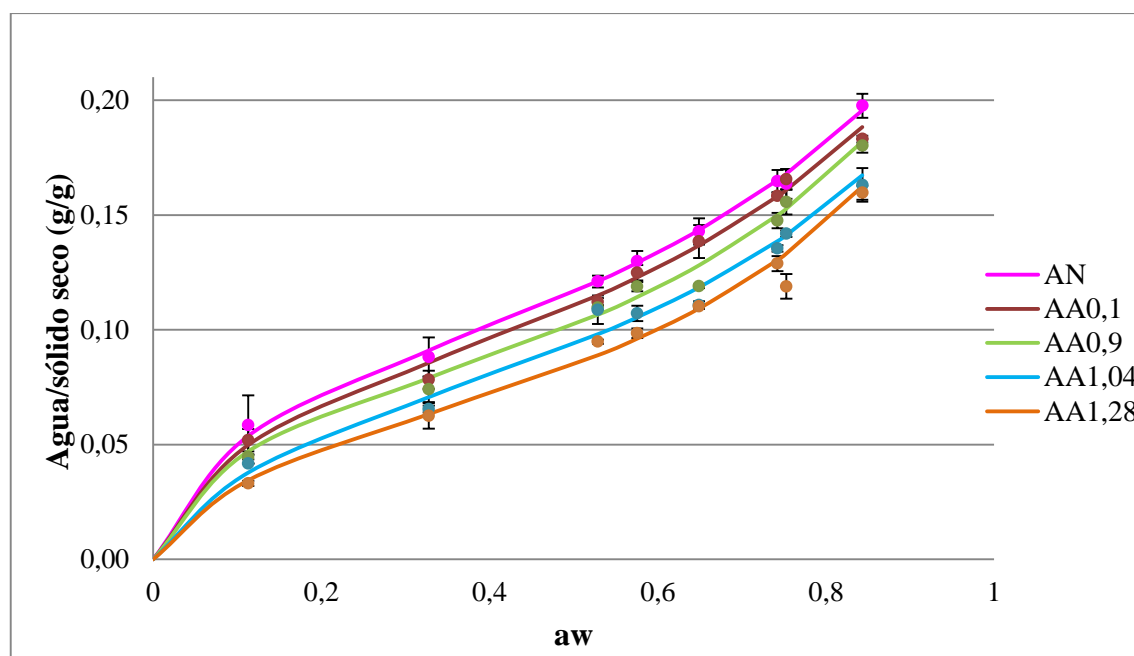


Figura III- 81: Isotermas de adsorción de almidones de mandioca nativo y acetilados.

En la Tabla III.7 se muestran los valores de las constantes del modelo, X_m (humedad de la monocapa), c y k , para cada muestra de almidón evaluada en este trabajo, donde se observa que el agua adsorbida a nivel de la monocapa tiende a reducirse con el incremento del GS. Cuanto más bajos son los valores de monocapa de un producto, mayor es la estabilidad de almacenamiento (Osundahunsi, Seidu y Mueller, 2014).

Asimismo se observa que no hay diferencia significativa en los valores de X_m , entre la muestra de almidón nativo (AN) y acetilado con menor GS (AA_{0,10}). En los almidones acetilados con mayor GS (AA_{0,90}; AA_{1,04}; AA_{1,28}), se observa una disminución en el valor de humedad de monocapa respecto del almidón nativo, encontrándose diferencias significativas entre ellos.

Se observó que en todo el rango estudiado de a_w , el contenido de agua de los almidones fue menor a medida que se incorporaban más grupos acetilos.

Tabla III-7: Parámetros de ajuste del modelo de GAB de las isothermas de sorción a 25 °C de almidones de mandioca nativo y acetilados.

<i>Muestras</i>	X_m (g/g <i>solido seco</i>)	<i>c</i>	<i>k</i>	R^2	<i>EMP</i>
AN	0,085±0,004 ^d	16,56±0,34 ^c	0,69±0,04 ^a	99,85	2,02
AS _{0,1}	0,081±0,002 ^d	14,29±0,97 ^b	0,70±0,09 ^a	98,78	3,64
AS _{0,9}	0,071±0,005 ^c	12,90±0,90 ^{a,b}	0,74±0,03 ^a	98,95	3,82
AS _{1,04}	0,069±0,004 ^b	11,24±1,54 ^a	0,72±0,02 ^a	98,21	4,10
AS _{1,28}	0,059±0,005 ^a	11,94±0,02 ^a	0,77±0,04 ^a	96,69	4,56

Los valores representan las medias de determinaciones por triplicado ± desviación estándar. Los valores con superíndices diferentes en las columnas indican que son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Se observa que el parámetro c mostró una tendencia a disminuir, con el aumento del GS. Presentando todos los almidones acetilados diferencias significativas respecto al almidón nativo. Este parámetro representa el calor de sorción total en la primera capa y está relacionado con el efecto físico de la temperatura (Rocha y col., 2014). En otros términos, es una medida de la fuerza de unión de agua a los sitios de unión primaria, cuanto mayor es su valor, más fuerte es el agua en la monocapa y mayor es la diferencia en entalpía entre las moléculas monocapa y las moléculas multicapa (Quirijns y col., 2005). Esto indica que como los almidones nativos tienen más grupos oxidrilos disponibles generan una mayor fuerza de unión con las moléculas de agua del medio, observándose un mayor valor de la constante c .

En cuanto al parámetro k , se observó un aumento con el incremento del GS. Los valores fueron inferiores a 1,0 (uno), variando entre 0,69 y 0,77. Este parámetro

representa el factor de corrección de la propiedad de las moléculas en la multicapa, en relación con el volumen líquido (Rocha y col., 2014),

III.2.2.5 Claridad de las pastas

En la Tabla III.8 se presenta el porcentaje de transmitancia (%T) de las pastas de almidón nativo y acetilados. En la misma, se observa que los almidones acetilados con bajos GS (AA_{0,04}; AA_{0,08} y AA_{0,17}), obtenidos por el método 1 (Wurzbug, 1964), presentan mayores %T que el AN, indicando que las mismas formaron pastas más claras. Los valores de %T de las muestras acetiladas disminuyeron con el aumento (Zhao y col., 2018). Mbougueng y col., (2012) también observaron un aumento significativo en la claridad de las pastas en almidones acetilados de mandioca y papa con GS bajos (menor a 0,3).

En cambio, las pastas de los almidones acetilados con GS más elevados, obtenidas en el presente trabajo por el método 2 (Mark-Mehlretter, 1972), presentaron valores de %T menores al almidón nativo (Tabla III.8). Craig y col., (1989) obtuvieron resultados similares a los hallados en el presente trabajo, con la salvedad que este autor analizó suspensiones más diluidas de almidón acetilado de trigo.

La claridad de las pastas de almidón es un valor práctico y útil en muchas aplicaciones industriales. Una menor claridad de pasta puede relacionarse con la presencia de moléculas de almidón menos susceptibles a la retrogradación.

Después de la gelatinización del almidón acetilado, las cadenas poliméricas resultantes de la destrucción del gránulo tendrían una asociación menor que las del almidón nativo, debido a la sustitución de los oxidrilos por grupos acetilo que causa una mayor repulsión entre las cadenas adyacentes. Si además, hay una menor cantidad de granos restantes, las pastas obtenidas serían más transparentes.

Tabla III-8: Claridad de las pastas de almidones de mandioca nativo y acetilados

<i>Muestras</i>	<i>Claridad de las pastas (%T)</i>
AN	9,46 ± 0,20 ^d
<i>Método 1</i>	
AA _{0,04}	19,07 ± 0,28 ^g
AA _{0,08}	14,09 ± 0,08 ^f
AA _{0,17}	12,29 ± 0,19 ^e
<i>Método 2</i>	
AA _{0,43}	0,89 ± 0,01 ^c
AA _{0,72}	0,72 ± 0,07 ^b
AA _{0,90}	0,51 ± 0,01 ^a
AA _{1,04}	0,40 ± 0,03 ^a
AA _{1,28}	0,52 ± 0,02 ^a
AA _{1,36}	0,72 ± 0,01 ^b

Los valores representan las medias de determinaciones por triplicado ± desviación estándar. Los valores con superíndices diferentes indican que son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

En almidones acetilados con mayor GS, la sustitución de OH por grupos hidrófobos comienza a jugar un papel más importante, causando una menor solubilidad en agua y, en consecuencia, menores valores de porcentaje de transmitancia.

III.2.2.6 Perfil de viscosidad Brabender

En la Tabla III.9 se muestran las propiedades del almidón nativo y acetilado con bajos GS, analizado con un viscoamilógrafo Brabender. La temperatura de viscosidad máxima de la pasta mostró un valor más bajo en almidones acetilados que en almidón nativo, y disminuyó a medida que aumentó el GS. Hubo diferencia significativa entre

las muestras AA_{0,08} y AA_{0,2} respecto al AN, donde la temperatura disminuyó 3,5 y 6,3 °C respectivamente.

La reducción de la temperatura de viscosidad máxima de la pasta del almidón acetilado puede atribuirse a la incorporación de grupos funcionales a la estructura del almidón, causando una disminución de las fuerzas de atracción en la región amorfa y un debilitamiento de los enlaces de hidrógeno intramoleculares en el gránulo. En consecuencia, la formación de pasta requirió temperaturas más bajas (Mello El Halal y col., 2015). Esta característica es una de las ventajas de la acetilación, ya que gelatiniza a temperaturas más bajas, reduciendo los costos energéticos durante la elaboración de productos en los que se utilizan estos almidones.

Los resultados muestran que los valores máximos de viscosidad se obtuvieron para un grado de acetilación igual a 0,08, tanto para el valor de viscosidad máxima, como para la viscosidad de pasta caliente y la viscosidad de la pasta fría. Siendo estos valores mayores que los medidos para el AN. En cambio, para los almidones acetilados con GS igual a 0,04 las viscosidades fueron menores que el AN.

Tabla III-9: Propiedades de las pastas de almidones de mandioca nativo y acetilados

<i>Parámetros</i>	<i>AN</i>	<i>AA_{0,04}</i>	<i>AA_{0,08}</i>	<i>AA_{0,20}</i>
Temperatura de viscosidad máxima. (TV _{max})	60,3±0,1 ^d	59,9±0,5 ^{c,d}	56,8±0,2 ^b	54,2±0,5 ^a
Viscosidad maxima (V _{max})	384,0±14,1 ^a	338,7±32,3 ^a	456,5±0,7 ^b	385±6,5 ^a
Viscosidad de la pasta caliente (VPC)	152,5±2,1 ^b	133,7±4,9 ^a	192,0±1,4 ^c	157±3,3 ^b
Viscosidad de la pasta fría (VPF)	277,5±2,1 ^b	240,0±3,6 ^a	330,5±4,9 ^c	244±3,4 ^a
Breakdown* (V _{max} -VPC)	106,5±12,0 ^a	98,7±35,7 ^{a,b,c}	126,0±4,2 ^b	141,0±7,5 ^c
Setback (VPF-V _{max})	125,0±1,4 ^c	106,3±1,5 ^b	138,5±6,4 ^d	87,0±5,2 ^a

Temperatura (°C), Viscosidades (UB), Breakdown (UB) y Setback (UB).

Todos los valores representan las medias ± desviación estándar de determinaciones por triplicado. Los promedios dentro de la línea con letras diferentes indican que son significativamente diferentes (p <0,05).

La variación de la viscosidad de la pasta con el GS podría ser atribuido a tres posibles mecanismos por los cuales la acetilación puede influir en las interacciones entre las cadenas de almidón (Sodhi y Sing 2005); (A) impedimento estérico que evita el acercamiento de las cadenas disminuyendo la formación de enlaces de hidrógeno, (B) alteración de la hidrofiliidad del almidón (menor OH) y, por tanto, unión efectiva con moléculas de agua, o (C) la participación de los grupos acetilos en enlaces de hidrógeno mejorados con otros enlaces de hidrógeno en las cadenas de almidón. Los mayores valores de viscosidad de los almidones acetilados de la muestra AA_{0,08} podrían explicarse también por el aumento del poder de hinchamiento.

El setback (reorganización del gel) muestra un comportamiento similar a la V_{max} , mientras que el Breakdown (inestabilidad del gel) aumenta sistemáticamente con el GS.

CONCLUSIONES

A partir de almidón de mandioca nativo, se sintetizaron almidones acetilados con grados de sustitución bajo y medio, comprendidos entre 0,03 y 1,36. Con el método de Wurzburg, se obtuvieron GS hasta 0,2. Para valores superiores se utilizó el método de Mark & Mehlretter llegando hasta GS 1,36, debido a que a partir de 0,17; la alta viscosidad de la suspensión del almidón de mandioca dificultaba el desarrollo experimental del primer método.

La incorporación de grupos acetilos en el almidón de mandioca fue cuantificada químicamente y confirmada con el análisis FTIR, donde se observó un aumento en el pico a 1740 cm^{-1} correspondiente al grupo acetilo, a medida que se incrementó el GS de las muestras.

Al analizar los valores de poder de hinchamiento de los almidones acetilados obtenidos, se observó un aumento con el GS en las muestras con bajo grados de sustitución, obteniéndose un máximo valor de hinchamiento para GS igual a 0,2 a todas las temperaturas, mientras que a partir de GS de 0,43 el poder de hinchamiento disminuyó y se tornó independiente de la temperatura.

Con respecto al índice de solubilidad en agua, se observó que a medida que aumenta el GS también aumenta la solubilidad llegando a un valor máximo de 26% para GS=0,72, a todas las temperaturas estudiadas.

Respecto a los resultados de isotermas de adsorción, los valores experimentales ajustaron al modelo matemático de GAB y se observó que el contenido de humedad en el equilibrio fue menor en los almidones acetilados respecto al nativo (en un rango de a_w entre 0.11 y 0.90).

Las micrográficas SEM mostraron que a medida que se incorporaron grupos acetilos, en principio los gránulos de almidón de mandioca sufrieron cambios superficiales, pero luego, a valores más altos de GS, perdieron su estructura original.

Los almidones acetilados de bajo GS formaron pastas más claras que el almidón nativo y los almidones de mayor GS presentaron pastas menos claras. Esta propiedad es de interés cuando se utiliza almidones en formulaciones alimentarias.

La claridad de las pastas de almidón acetilado disminuyó con el aumento del GS.

La temperatura de gelatinización de los almidones acetilados de bajo GS fue menor que la del nativo.

De este trabajo de tesis se concluye que es viable sintetizar almidones acetilados de mandioca con distintos grados de sustitución con características apropiadas para distintas aplicaciones tanto alimentarias como no alimentarias. Estos resultados podrían ser de utilidad para expandir su uso reemplazando a aquellos almidones que son más tradicionales, como almidón de maíz, papa y trigo.

Capítulo IV

TRABAJOS FUTUROS

En este trabajo de tesis se obtuvieron almidones acetilados con un amplio rango de grado de sustitución mediante el empleo de dos métodos de acetilación por los que se plantea en trabajos futuros la utilización de éstos en aplicaciones específicas.

Como se comentó en la tesis, los almidones con GS menor a 0,1 están permitidos por el CAA como aditivos alimentarios, por lo que se propone para trabajos futuros, la utilización en diversas matrices alimentarias, observando su comportamiento como espesantes, gelificantes, aglutinantes, etc.

Se recomienda, además, utilizar los almidones acetilados con mayores GS en el desarrollo de películas y/o recubrimientos biodegradables, evaluando propiedades mecánicas, solubilidad, de barrera al vapor de agua, CO₂ y O₂, interacción alimento/recubrimiento.

Extender las investigaciones a almidones con otras modificaciones, como por ejemplo utilizar otros sustituyentes, reacciones de oxidación, entrecruzamiento, entre otras, para otorgar propiedades particulares a los almidones para ampliar sus aplicaciones.

BIBLIOGRAFÍA:

- AACC method 56-20, 1983. Hydration capacity of pregelatinized cereal products. In American Association of Cereal Chemists Approved Methods, eighth ed. The Association St. Paul, MN.
- ANMAT. Código Alimentario Argentino, 2017. Disponible en http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp. (Consultado 13-09-2017).
- AOAC. Official methods of analysis.13thed. Washington. DC:AOAC (1990)
- Annison, G., Illman, R. J., Topping, D. L. (2003). Acetylated, propionylated or butyrylated starches raise large bowel short-chain fatty acids preferentially when fed to rats. *Journal of Nutrition*, 133, 3523–3528.
- Badui Dergal, Salvador (2006). *Química de los alimentos*. Cuarta edición. Editorial Pearson Educación, México.
- Bello-Pérez, L.A., Agama-Acevedo E., Zamudio-Flores P.B., Mendez-Montevalvo G., Rodriguez-Ambriz, S.L. (2010). Effect of low and high acetylation degree in the morphological, physicochemical and structural characteristics of barley starch. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 1434-1440.
- Biswas A., Shogren R.L., Selling G., Salch J., Willett J.L., Buchanan C. M. (2008). Rapid and environmentally friendly preparation of starch esters. *Carbohydrate Polymers*, 74, 137–141.
- Colussi R., Pinto V.Z., Mello El Halal S.L., Vaniera N.L., Villanova F.A., da Rosa Zavareze E., Guerra Dias A. R. (2014). Structural, morphological, and physicochemical properties of acetylated high, medium, and low amylose rice starches. *Carbohydrate Polymers*, 103, 405–413.

- Chi H., Xu K., Wu X., Chen Q., Xue D., Song C., Zhang W., Wang P. (2008). Effect of acetylation on the properties of corn starch. *Food Chemistry*, 106, 923-928.
- Craig S. A., Maningat C. C., Seib P. A. and Hosney R. C. (1989). Starch Paste Clarity. *Cereal Chemistry*, 66, 173-182.
- Diop C.I.K., Li H.L., Xie B.J., Shi J. (2011). Effects of acetic acid/acetic anhydride ratios on the properties of corn starch acetates. *Food Chemistry*, 126, 1662-1669.
- Ellis R. P., Cochrane M. P., Dale M. F. B., Duffus C. M., Lynn A., Morrison I. M., Prentice R. D. M., Swanston J. S., Tiller S. A. (1998). Starch production and industrial use. *J. Sci. Food Agric.*, 77, 289-311.
- Eloma M., Asplund T., Soininen P., Laatikainen R., Peltonen S., Hyvärinen S., (2004). Determination of the degree of substitution of acetylated starch by hydrolysis, ¹H-NMR and TGA/IR. *Carbohydrate Polymers*, 57, 261–267.
- Fannon J. E., BeMiller J. N. (1992). Structure of corn starch paste and granule remnants revealed by low temperature scanning electron microscopy after cryopreparation. *Cereal Chemistry*, 69, 456–460.
- FAO (2007). Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca. ISBN 978-92-5-305677-4
- Fennema, Owen R. (2000). *Química de los alimentos*. Editorial Acribia.
- Guerra Della Valle, D. (2007). Efecto del nivel de acetilación en las características morfológicas y moleculares del almidón de plátano (*Musa paradisiaca* L.). Tesis de Maestría. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del Instituto Politécnico Nacional. Yautepec, Morelos, México.

- Hoyos-Leyva J. D., Jaramillo-Jiménez P. A., Giraldo-Toro A., Dufour D., Sánchez T., Lucas-Aguirre J. C. (2012). Physical, morphological characterization and evaluation of pasting curves of *Musa* spp. *Acta Agron.*, Vol. 61, Número 3, p. 214-229. ISSN electrónico 2323-0118. ISSN impreso 0120-2812.
- ISI. 2000. International Starch Institute. International starch: starch raw material composition & starch usage worldwide. Aarhus, Denmark: International starch institute. Disponible en: <http://www.starch.dk/isi/methods/index.asp>
- Jarowenko, W. (1986). Acetylated starch and miscellaneous organic esters. In O. B. Wurzburg (Ed.), *Modified starches: Properties and uses* (pp. 55–77). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Lawal O.S. (2004). Composition, physicochemical properties and retrogradation characteristics of native, oxidised, acetylated and acid-thinned new cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) starch. *Food Chemistry*, 87, 205–218.
- Leach, H.W.; McCowen, L.D. y Schoch, T.J. (1959). Structure of starch granule. I swelling and solubility patterns of various starches. *Cereal Chemistry*, 36, n. 6, 534-544.
- Liu Qiang (2005). *Food Carbohydrates. Chemistry, Physical Properties, and Applications*. Taylor & Francis Group, LLC, 7, 309-355.
- López, O. V.; García, M. A. y Zaritzky, N. E. (2008) Film forming capacity of chemically modified corn starches, *Carbohydrate Polymers* 73 573–581.
- Lopez-Rubio A., Clarke J. M., Scherer B., Topping D. L., Gilbert E. P. (2009). Structural modifications of granular starch upon acylation with short-chain fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 23, 1940-1946.

- Loura Ribeiro, Ana Paula (2011). Estudo dos amidos de mandioca nativo, modificados e modificados combinados por via química para utilização na indústriaalimentícia. Tesis Doctoral. Centro de Tecnologia. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa - Brasil.
- Mano J. F., Koniarova D. y Reis R. L. (2003). Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blends with potential biomedical applicability. *Journal of Materials Science Science* 14, 127-135.
- Mark A. M., Mehlretter C. L. (1972). Facile preparation of starch triacetates *Die Stärke*, 3, 73-76.
- Masina N., Choonara Y. E., Kumar P., du Toit L.C., Govender M., Indermun S., Pillay V. (2017). A review of the chemical modification techniques of starch. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1226–1236.
- Mello El Halal S.L., Colussi R., Zanella Pinto V., Bartz J., Radunz M., Villarreal Carreño N.L., Guerra Dias A.R., da Rosa Zavareze E. (2015). Structure, morphology and functionality of acetylated and oxidised barley starches. *Food Chemistry*, 168, 247-256.
- Mbougung P.D., Tenin D., Scher J., Tchiégang C. (2012). Influence of acetylation on physicochemical, functional and thermal properties of potato and cassava starches. *Journal of Food Engineering*, 108, 320–326.
- Ogawa, K.; Hirai, I.; Shimasaki, C.; Yoshimura, T.; Ono, S. y Rengakuji, S. (1999). Simple determination of degree of substitution for starch acetate. *Bulletin of the Chemistry Society of Japan*, 72, 2785-2790.
- Osundahunsi O. F., Seidu K. T., Mueller R. (2014). Effect of presence of sulphurdioxide on acetylation and sorption isotherm of acetylated starches from cultivars of cassava. *Food Chemistry*, 151, 168-174.

- Peñaranda Contreras O. I., Perilla J. E., Algecira Enciso N.A. (2008). Revisión de la modificación química del almidón con ácidos orgánicos. *INGENIERÍA E INVESTIGACIÓN VOL. 28, 3, 47-52.*
- Piyachomkwan K., Chotineeranat S., Kijkhunasatian C., Tonwitawat R., Prammanee S., Oates C.G., Sriroth K. (2002). Edible canna (*Canna edulis*) as a complementary starch source to cassava for the starch industry. *Industrial Crops and Products*, 16, 11–21.
- Producción de Mandioca y sus usos (2008). INTA- EEA Montecarlo, Secretaria de Desarrollo Económico-Municipalidad de Montecarlo, Misiones.
- Quirijns E.J., van Boxtel A.J.B, van Loon W.K.P., van Straten G. (2005). Sorption isotherms, GAB parameters and isosteric heat of sorption. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85,1805–1814.
- Ramírez-Miranda M., Cruz y Victoria M.T., Vizcarra-Mendoza M.G., Anaya-Sosa I. (2014). Determinación de las isotermas de sorción y las propiedades termodinámicas de harina de maíz nixtamalizada. *Revista Mexicana de IngenieríaQuímica*. Vol. 13, No. 1, 165-178.
- Riaz, M.N. (1999). Processing biodegradable packaging material from starches using extrusion technology, *Cereal Foods Word*, 44, 705–709.
- Rocha E.M., Rodrigues S., Rodrigues M., Afonso A., Correia da Costa J.M. (2014). Mathematical Modeling for Isotherms of Mango Pulp Powder, Obtained by Atomization. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, 4, 8-14.
- Shah A., Masoodi F.A., Gani A., Ashwar B. A. (2017). Physicochemical, rheological and structural characterization of acetylated oat starches. *LWT - Food Science and Technology*, 80, 19-26.

- Shogren, R. L. (1996). Preparation, thermal properties and extrusion of high-amylose starch acetates. *Carbohydrate Polymers*, 29, 57–62.
- Shogren R.L. (2003). Rapid preparation of starch esters by high temperature/pressure reaction. *Carbohydrate Polymers*, 52, 319–326.
- Singh J., Kaur L., McCarthy O.J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications (review). *Food Hydrocolloids* 21, 1–22.
- Singh N., Chawla D., Singh J. (2004). Influence of acetic anhydride on physicochemical, morphological and thermal properties of corn and potato starch. *Food Chemistry* 86, 601-608.
- Singh N., Singh J., Kaur L., Singh Sodhi N., Singh Gill B. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, 81, 219–231.
- Sjöqvist Mia, Gatenholm Paul (2005). The Effect of Starch Composition on Structure of Foams Prepared by Microwave Treatment. *Journal of Polymers and the Environment*, Vol. 13, No. 1.
- Sodhi N. y Singh N. (2005). Characteristics of acetylated starches prepared using starches separated from different rice cultivars. *Journal of Food Engineering* 70, 117–127.
- Svegmak, K., Hermansson, A. M. (1993). Microstructure and rheological properties of composites of potato starch granules and amylose: a comparison of observed and predicted structure. *Food Structure*, 12, 181–193.
- Tester R. F., Karkalas J. y Qi X. (2004). Starch: composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39: 151-165.

- Wiesenborn D. P., Orr P. H., Casper H. H., Tacke, B. K. (1994). Potato starch paste behaviour as related to some physical/chemical properties. *Journal of Food Science*, 59, 644–648.
- Wurzburg O. B. (1964). Starch derivatives and modification, in *Methods in Carbohydrate Chemistry*, 4th ed. (Ed. R. L. Whistler) Academic Press, New York. pp. 286-288.
- Xu Y., Miladinov V. y Hanna M. A. (2004). Synthesis and characterization of starch acetates whit high substitution. *Cereal Chemistry*, 81: 735-740.
- Xu Y.X., Dzenis Y., Hanna M.A. (2005). Water solubility, thermal characteristics and biodegradability of extruded starch acetate foams. *Industrial crops and products*, 21, 361-368.
- Yurkanis Bruice, Paula (2008). *Fundamentos de química Orgánica*. Quinta edición.
- Zhao K., Li B., Xu M., Jing L., Gou M., Yu Z., Zheng J., Li W. (2018). Microwave pretreated esterification improved the substitution degree, structural and physicochemical properties of potato starch esters. *LWT - Food Science and Technology*, 90, 116–123.
- Zobel, H. (1988). Molecules to granule: a comprehensive starch review. *Starch/Starke*. 40, 44 - 50.

ANEXOS

Anexo I: Capítulo IX- CAA - Almidón**Artículo 674 - (Dec. 112, 12.1.76)**

"Con la denominación de Almidón o Fécula (según corresponda), se entiende la materia orgánica que en forma de gránulos se encuentran en los corpúsculos especiales incluidos en el protoplasma de células vegetales en la etapa de la maduración. La denominación de Almidón corresponderá a los gránulos que se encuentran en los órganos aéreos de las plantas, y la de Fécula, a los que se encuentran en las partes subterráneas (raíces, tubérculos, rizomas). El almidón y la fécula deberán cumplimentar las siguientes condiciones:

- a) Por hidrólisis total o enzimática deberán producir dextrosa como único glúcido.
- b) La morfología de los gránulos será variable de acuerdo al vegetal de origen y al examen microscópico con luz polarizada; presentarán la birrefringencia típica.
- c) Se presentarán en forma de polvo fino o grumos friables.
- d) Humedad a 100°-105°C, Máx: 15% e) Cenizas a 500°-550°C, Máx: 0,5%
- f) Nitrógeno total (en N), Máx: 0,15%
- g) Grasas, Máx: 0,15%
- h) Celulosa, Máx: 0,30%
- i) Acidez (en ml.sol. 0,1 N), Máx: 5,00%
- j) Anhídrido sulfuroso total, Máx: 80 mg/kg (80 ppm) Arsénico (como As), Máx: 3 mg/kg (3 ppm) Plomo (como Pb), Máx: 5 mg/kg (5 ppm) Metales pesados, como Pb, Máx: 40 mg/kg (40 ppm) Como excepción queda permitido para las féculas un contenido de humedad de hasta el 18,0%. En un mismo envase no se admitirán almidones o féculas de distintos vegetales. Este producto se rotulará: Almidón o Fécula (según corresponda), pudiendo indicarse el vegetal de origen. La fécula de papa podrá rotularse: Chuño.

Anexo II: Capítulo XVIII- CAA – Almidones modificados**23.1 ALMIDONES MODIFICADOS (Res 101, 8.8.75)**

Se presentarán en forma de polvo, grumos o laminillas friables; de color blanco o casi blanco; sin olor ni sabor; insolubles en alcohol, éter, cloroformo. Las formas no gelificadas son prácticamente insolubles en agua, pero las demás la absorben cuando se encuentran en suspensión acuosa fría y gelifican cuando se calientan entre 45° y 80°C. Cumplimentarán las siguientes condiciones:

a) Humedad a 100-105°C: almidones, máx: 15,0%; féculas, máx: 21,0%

b) cenizas a 500-550°C , máx: 2,0%

c) N total x 6,25, máx 0,5%

d) Grasas (extrac. CCl4) máx 0,15%

e) Anhídrido sulfuroso total, máx 80 mg/kg

f) Residuos de los agentes de tratamiento en las cantidades que se establecen en cada caso. Los almidones podrán ser modificados por algunos de los tratamientos siguientes:

1. Por medio del HCl y/o H₂SO₄

2. Blanqueado por uno o más de los siguientes:

a) 0,45% máx de oxígeno activo procedente de peróxido de hidrógeno o ácido peracético

b) Persulfato de amonio, máx 0,075% y bióxido de azufre, máx 0,05%

c) Cloro como hipoclorito de sodio, máx 0,819% sobre almidón seco

d) Permanganato de potasio, máx 0,2%

e) Clorito de sodio, máx 0,5%. Residuos de manganeso, como Mn), máx 50 ppm

3. Oxidado por:

a) Cloro como hipoclorito de sodio, máx: 5,5% sobre almidón seco

4. Esterificado por:

a) Anhídrido acético. Residuo en el almidón modificado, máx: 2,5% de grupos acetilo

b) Anhídrido adípico, máx: 0,12% y anhídrido acético. Residuo en el almidón modificado, máx: 2,5% de grupos acetilo

c) O-fosfato monosódico. Residuo en el almidón modificado, máx: 0,4% de fosfatos como P

d) Anhídrido octenil-succínico, máx: 3%

e) Anhídrido octenil-succínico, máx: 2% y sulfato de aluminio, máx: 2%

f) Oxiclорuro de fósforo, máx: 0,1%, trimetafosfato de sodio. Residuo en el almidón modificado, máx: 0,04% de fosfatos como P

g) Tripolifosfato de sodio y trimetafosfato de sodio. Residuo en el almidón modificado, máx: 0,4% de fosfatos como P.

5. Eterificado por:

a) Acroleína, máx: 0,6%

b) Epiclorhidrina, máx: 0,3%

c) Epiclorhidrina, máx: 0,1% y óxido de propileno, máx: 10%. Residuo en el almidón modificado, máx: 5 mg por mil de clorhidrinpropileno

d) Oxido de propileno, máx: 25%. Residuo en el almidón modificado, máx: 5 mg por mil.

6. Eterificado y esterificado por:

a) Acroleína, máx: 0,6% y acetato de vinilo, máx: 7,5%. Residuo en el almidón modificado: 2,5% de grupos acetilo

b) Epiclorhidrina, máx: 0,3% y anhídrido acético. Residuo en el almidón modificado, máx: 2,5 de grupos de acetilo

c) Epiclorhidrina, máx: 0,3% y anhídrido succínico, máx: 4%

d) Oxiclорuro de fósforo, máx: 0,1% y óxido de propileno, máx: 10%. Residuo en el almidón modificado: 5 mg por mil de clorhidrinpropileno

7. Eterificado y oxidado por: Cloro como hipoclorito de sodio, máx: 5,5% sobre almidón seco; oxígeno activo obtenido de peróxido de hidrógeno, máx: 0,45%; óxido de propileno, máx: 25%. Residuo en el almidón modificado, máx: 5 mg por mil de clorhidrinpropileno.

8. Gelatinizado por:

a) Hidróxido de sodio, máx: 1%.

Espesante, Estabilizante - FAO/OMS/FCC

Anexo III: Valores de las determinaciones solubilidad del almidón nativo y acetilados con diferentes grados de sustitución obtenidos a distintas temperaturas

Temp Muestras	50°C	60°C	70°C	80°C	90°C
AN	0,758	1,380	3,971	10,900	9,542
	0,749	1,280	3,762	11,722	9,629
AA _{0,03}	1,326	2,086	7,032	9,243	11,853
	1,429	2,051	6,307	9,429	11,377
AA _{0,08}	5,352	8,691	8,050	10,903	4,807
	4,657	8,542	8,922	10,017	4,584
AA _{0,20}	5,702	7,948	4,079	6,343	6,798
	5,633	7,821	5,537	6,233	7,949
AA _{0,43}	5,070	7,314	8,886	4,115	11,132
	5,730	8,005	9,881	3,444	10,616
AA _{0,72}	27,165	22,804	22,735	22,454	26,138
	26,771	21,801	22,596	20,332	26,336
AA _{0,88}	21,518	18,583	10,899	16,099	17,402
	20,258	18,185	12,755	16,053	17,690
AA _{1,04}	14,872	20,127	13,073	15,831	22,779
	13,122	20,790	14,089	15,926	23,216
AA _{1,28}	16,083	21,112	6,839	7,038	6,687
	15,147	20,023	7,048	6,889	6,600
AA _{1,36}	8,765	9,034	4,569	4,930	3,875
	8,379	5,209	4,114	4,448	3,783

Anexo IV: Valores de las determinaciones del grado de hinchamiento del almidón nativo y acetilados con diferentes grados de sustitución obtenidos a distintas temperaturas

Temp Muestras	50°C	60°C	70°C	80°C	90°C
AN	2,424	3,617	8,387	29,768	34,103
	2,666	3,762	9,273	29,564	32,824
AA _{0,03}	4,003	5,291	13,319	28,038	34,678
	4,140	5,701	13,103	31,928	33,824
AA _{0,08}	9,530	15,521	36,330	39,458	43,020
	8,894	16,679	33,438	41,178	41,921
AA _{0,20}	17,612	22,020	42,888	42,154	44,810
	16,112	21,109	45,641	38,506	39,912
AA _{0,43}	7,715	10,895	14,405	13,222	14,711
	8,088	10,878	14,237	12,823	14,589
AA _{0,72}	10,195	12,215	13,715	12,815	12,078
	10,299	11,876	13,418	11,987	12,029
AA _{0,88}	8,203	9,460	9,857	9,393	8,352
	8,420	9,438	10,360	9,609	8,665
AA _{1,04}	8,972	7,620	9,611	8,741	7,896
	9,129	7,582	9,815	8,302	8,255
AA _{1,28}	7,783	6,622	6,991	5,983	6,617
	7,287	6,494	6,918	6,322	6,642
AA _{1,36}	5,877	4,987	5,673	4,763	5,072
	6,120	4,796	5,767	4,656	5,112