



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Agrarias
Escuela Ingeniería en Alimentos

Comparación de la Cinética de Gelatinización de Almidón de Papa Mediante: DSC y Microscopía de Luz Polarizada

Memoria presentada como parte de
los requisitos para optar al Título de
Ingeniero en Alimentos

Paulina Wilhelm Lagos

Valdivia – Chile

2016

PROFESOR PATROCINANTE:



Javier Parada Silva

Ingeniero en Alimentos

Doctor en Ciencias de la Ingeniería

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

PROFESORES INFORMANTES



Kong Shun Ah-Hen

Ingeniero en Alimentos, Dipl.-Ing., Dr.-Ing.

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Facultad de Ciencias Agrarias



Bernardo Carrillo López

Ingeniero Agrónomo

Master en Ciencia e Ingeniería en Alimentos

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

ÍNDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
	RESUMEN	1
	SUMMARY	2
1	INTRODUCCIÓN	3
1.1	Almidón	3
1.1.1	Gránulo, forma y tamaño	5
1.1.2	Amilopectina	6
1.1.3	Amilosa	7
1.1.4	Gelatinización	8
1.2	Calorimetría Diferencial de Barrido	10
1.3	Microscopía de luz polarizada	10
1.4	Birrefringencia	11
2	MATERIAL Y MÉTODO	13
2.1	Ubicación	13
2.2	Material biológico	13
2.3	Método	13
2.3.1	Obtención de micrografías mediante MLP	13
2.3.2	Preparación de muestras para DSC	14
2.4	Análisis de fotografías (ImageJ)	15
2.5	Análisis estadístico	16
3	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	16
3.1	Propiedades térmicas	16
3.2	Cinética de gelatinización obtenida por microscopía de luz polarizada (MLP)	18

3.3	Cinética de gelatinización obtenida por calorimetría diferencial de barrido	20
3.4	Comparación de calorimetría diferencial de barrido y microscopía de luz polarizada	21
4	CONCLUSIONES	23
5	BIBLIOGRAFIA	24
6	ANEXOS	27

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Temperatura de gelatinización de algunos almidones (°C)	8
2	Propiedades térmicas de gelatinización para DSC a distintas tasas de calentamiento.	16
3	Propiedades térmicas de gelatinización para MLP a distintas tasas de calentamiento.	17

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura molecular de la amilopectina	6
2	Estructura molecular de la amilosa	7
3	Eventos que ocurren antes, durante y después la gelatinización	9
4	Esquema que muestra el mecanismo de acción de la luz polarizada	11
5	DG(%) de almidón de papa a distintas tasas de calentamiento obtenido mediante MLP.	18
6	DG(%) del almidón de papa a distintas tasas de calentamiento obtenido mediante calorimetría diferencial de barrido	20
7	Comparación del grado de gelatinización entre DSC y MLP a una tasa fija de calentamiento de 2°C/min	21

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen		Página
1	Gránulos de almidón de: (A) maíz, (B) yuca, (C) papa	5
2	Micrografías de gránulos de almidón de papa, obtenidas bajo luz polarizada: (A) lente óptico de 10X y (B) lente óptico de 20X	12
3	Micrografías a diferentes tasas de calentamiento (2, 15 y 25°C/min) durante el proceso de gelatinización bajo luz polarizada y su DG(%) correspondiente.	19

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Ejemplo de termograma de gelatinización en muestras analizadas a 10°C/min	28
2	Ejemplo de termograma de gelatinización en muestras analizadas a 25°C/min	29
3	Micrografía de gránulos de almidón de papa obtenida desde un microscopio de luz polarizada	30

RESUMEN

En el siguiente trabajo se determinó si mediante el análisis de dos características relacionadas con la gelatinización del almidón se obtienen resultados similares a una misma temperatura utilizando dos métodos. Dichos métodos fueron microscopía de luz polarizada y calorimetría diferencial de barrido (DSC). Esto se llevó a cabo mediante el análisis del comportamiento térmico del almidón de papa cruda, utilizando almidón *in situ* (tejido vegetal) para DSC y almidón aislado para microscopía de luz polarizada, en donde las muestras fueron sometidas a seis tasas de calentamiento (2, 5, 10, 15, 20 y 25°C/min).

La cinética de gelatinización del almidón se estudió mediante DSC, determinando las temperaturas inicial, pico y final (T_i , T_p y T_f , respectivamente). Estos resultados fueron comparados con los datos obtenidos en microscopía de luz polarizada, mediante la cuantificación de la pérdida de birrefringencia en los gránulos de almidón en 0, 50 y 100% para lo cual se calculó el DG(%) en cada microfotografía. Para esto se utilizó el programa ImageJ.

Los resultados arrojaron que ambos métodos no son comparables entre sí, a pesar de que ambos son utilizados para el análisis de la gelatinización, no lo hacen en base al estudio del mismo fenómeno, por lo tanto sus resultados no son totalmente equivalentes.

Palabras clave: Almidón, Gelatinización, Birrefringencia.

SUMMARY

The next work was determined by analyzing whether two features related to starch gelatinization similar results are obtained at the same temperature using two methods. Such methods are polarized light microscopy and differential scanning calorimetry (DSC). This was done by analyzing the thermal behavior of starch from raw potato, using starch in situ (plant tissue) for DSC and isolated for polarized light microscopy starch, where the samples were subjected to six heating rates (2, 5, 10, 15, 20 and 25C°/min).

The kinetics of starch gelatinization was studied by DSC, the initial determining peak and final temperatures (T_i , T_p and T_f respectively). These results were compared with data obtained in polarized light microscopy, by quantifying the loss of birefringence in starch granules at 0, 50 and 100% for which the %DG was calculated in each photomicrograph. ImageJ program was used to this.

The results showed that both methods are not comparable, even though both are used for analyzing the gelatinization do not based on the study of the same phenomenon, therefore its results are not fully equivalent.

1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día es tendencia el autocuidado en el ámbito de la alimentación. El consumo de alimentos nutritivos, naturales y con un alto grado de innovación es de mucha importancia para las nuevas generaciones de consumidores. Es por esto que la investigación en el área alimenticia debe ser mucho mayor. Uno de los alimentos más consumidos en el día a día por la mayoría de la población es la papa (*Solanum tuberosum*, spp. *Tuberosum* L.), donde su componente principal y más importante es el almidón. Es por ello que las investigaciones con respecto al mecanismo de acción del almidón, han cobrado mucha importancia en los productos alimenticios que lo contienen.

1.1 Almidón

Es la sustancia de reserva alimenticia predominante en las plantas y proporciona el 70-80% de las calorías consumidas por los humanos de todo el mundo. Tanto el almidón como los productos de la hidrólisis del mismo, constituyen la mayor parte de los carbohidratos digeribles de la dieta habitual.

Del mismo modo, la cantidad de almidón utilizado en productos alimenticios, sin contar el que se encuentra de forma natural en los granos que se transforman en cereales de desayuno, o los que se consumen en las frutas y hortalizas, exceden con mucho al consumo conjunto de todos los demás hidrocoloides de los alimentos. (FENNEMA, 2000)

Según PEÑA *et al.* (2004), el almidón es el polisacárido de mayor importancia en la alimentación de los animales, por el hecho de ser el más abundante componente aprovechable de la dieta; se le encuentra en los cereales, las leguminosas, las raíces feculentas, etc. En los materiales vegetales aparece en forma de gránulo microscópico, que están formados esencialmente por dos tipos de compuestos semejantes pero no iguales; la amilosa y la amilopectina. Desde el punto de vista de su composición química, ambas se encuentran formadas por moléculas de glucosa unidas entre sí por enlaces glucosídicos.

El almidón modifica la textura de los alimentos por lo que industrialmente se usa como espesante, estabilizador coloidal y adhesivo. Hay varios métodos para caracterizar el almidón y así seleccionar variedades o genotipos que presenten propiedades específicas. El tamaño del gránulo afecta la composición, propiedades reológicas y transiciones de fase producidas al calentar una dispersión de almidón. Además, la pérdida del orden de los componentes del almidón, amilosa y amilopectina puede estar relacionada con cambios irreversibles en sus propiedades, como hinchamiento, formación de pasta y disolución (MENDEZ, 2012).

El almidón es materia prima para la fabricación de numerosos productos como dextrosa, alcohol, sorbitol, glucósidos metílico, etílico y ácido láctico, por lo mismo puede proporcionar a la economía, una fuente de abastecimiento casi ilimitado en la elaboración de sustancias orgánicas, en la industria alimenticia, textil, en la industria del papel y en la de los polímeros.

La facilidad del almidón para interactuar, no sólo está determinada por la fuente botánica de la que procede, sino también de la relación de este compuesto con respecto a cada sustancia que lo rodee. Las modificaciones que sufre un almidón en su temperatura y velocidad de gelatinización cuando está presente en un alimento, son reflejo de la influencia de los diferentes constituyentes del medio en que se encuentra (BARRERA *et al.*, 2004).

La utilización del almidón como componente alimentario se basa en sus propiedades de interacción con el agua, que favorece el espesamiento como la gelificación (BELLO, 2000).

En los rangos de temperatura en la cual la gran mayoría de los alimentos son sometidos a la acción del calor o procesados, el almidón experimenta cambios físicos y químicos. En general, las diferentes transformaciones que ocurren son dependientes de la cantidad de agua presente, la temperatura y la razón del flujo calorífico que se le suministra durante el proceso. Cuando el almidón es hidratado y calentado, se observan cambios químicos, de textura y estructurales los cuales influyen de manera considerable en la calidad del producto final cuando éste es incorporado, por ejemplo en la fabricación de pan, tortillas y jugos (RODRIGUEZ *et al.*, 2001).

1.1.1 Gránulos, forma y tamaño. El tamaño, la forma y la estructura de los gránulos difieren substancialmente entre fuentes botánicas, los diámetros varían en un rango de 1 μm a 200 μm ; las formas pueden ser elípticas, esféricas angulares; simples o compuestos. Existe amplia diversidad en la estructura y las características del gránulo de almidón nativo, incluyendo variación significativa entre gránulos de una misma especie (SANDOVAL *et al.*, 2004).

La disposición radial y ordenada de las moléculas de almidón en un gránulo resulta evidente al observar la cruz de polarización (cruz blanca sobre un fondo negro) en un microscopio de polarización. El centro de la cruz se corresponde con el hilum, el centro de crecimiento del gránulo. Los gránulos de almidón son relativamente densos e insolubles, y se hidratan muy mal en agua fría. La capacidad de formar soluciones viscosas (capacidad espesante) es alcanzada sólo cuando la suspensión de los gránulos es sometida a la acción del calor (FENNEMA, 2000).

Algunas propiedades fundamentales de los almidones, como su mayor índice de absorción de agua e índice de solubilidad en agua, están relacionadas con el mayor tamaño de sus gránulos. La forma de los almidones, se determina mediante observaciones en un microscopio Nikon HFX-DX, con magnificación 4x, 10x y 20x (BARRERA *et al.*, 2004).

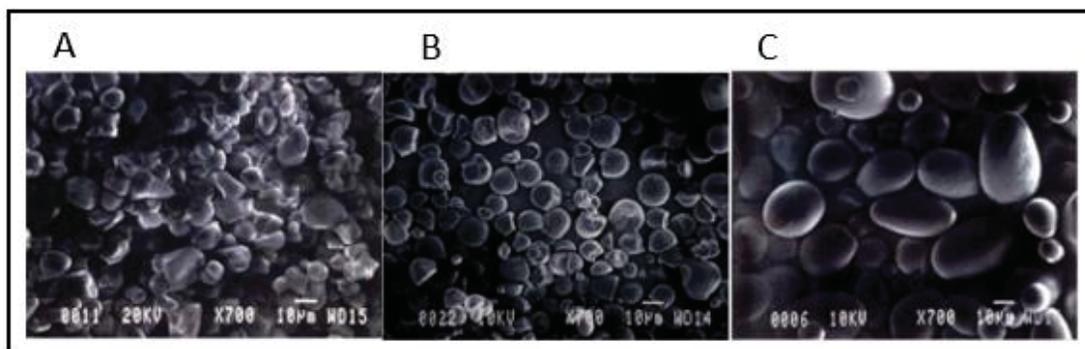


Imagen 1. Gránulos de almidón de: (A) maíz, (B) yuca, (C) papa

Fuente: OSPINA y CEBALLOS (2002)

1.1.2 Amilopectina. Es la molécula predominante en el almidón. Es un polisacárido pseudocristalino ramificado con más de 100.000 unidades de glucosa, compuesta por segmentos unidos por enlaces α (1,6).

La amilopectina es la responsable de la estructura del gránulo de almidón, el cual consiste de áreas cristalinas (cristales, micelas) y no cristalinas (amorfos, fase gel), arregladas en capas concéntricas. Las capas cristalinas están conformadas por dobles hélices de las ramificaciones de la amilopectina, mientras que los puntos de ramificación están en las zonas amorfas.

Durante la cocción la amilopectina absorbe mucha agua y es en gran parte, responsable de la hinchazón de los gránulos de almidón (BARRERA, 2004).

Las soluciones de amilopectina, al enfriarse, se hacen muy viscosas, pero no gelifican. Estas propiedades tienen interés en la industria de alimentos (PRIMO, 1995).

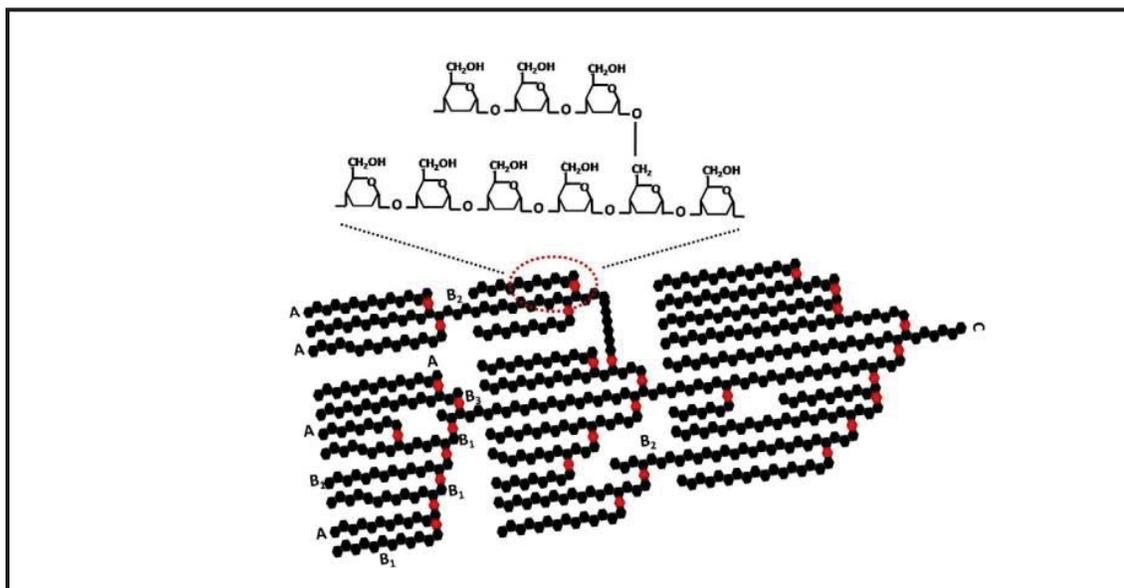


Figura 1. Estructura molecular de la amilopectina

Fuente: DOMINGUEZ (2008)

1.1.3 Amilosa. MELO y CUAMATZI (2007), señalan que es un polímero lineal que tiene exclusivamente enlaces α (1,4) entre los residuos de glucosa adyacentes. La estructura primaria sencilla y regular de la amilosa permite una estructura secundaria regular de esta molécula.

El contenido de amilosa en los almidones está relacionado muy fuertemente con algunas de sus propiedades. Por ejemplo, es conocido que el maíz ceroso, el cual es 100% libre de amilosa, es altamente estable y resistente a la retrodegradación (reorganización de las moléculas de amilosa y amilopectina en una estructura cristalina cuando las pastas de los almidones son enfriados). En contraste, los almidones con alto contenido de amilosa presentan una retrogradación muy rápida (OSPINA y CEBALLOS, 2002).

La amilosa se dispersa en agua caliente, dando largas micelas hidratadas y, al enfriarse, gelifica porque las moléculas se entrecruzan, formando una malla intermolecular que retiene el agua (PRIMO, 1995).

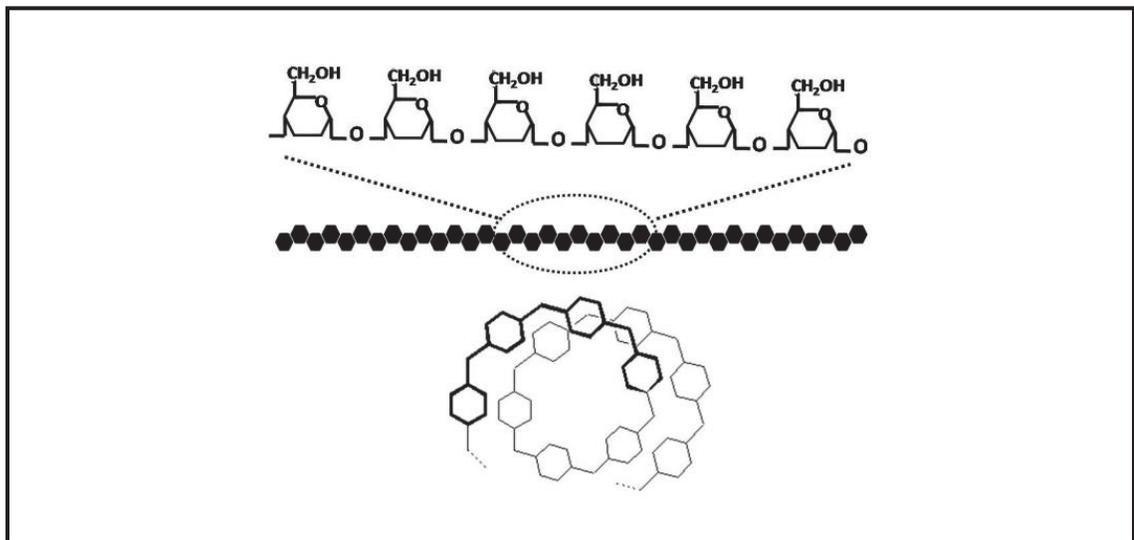


Figura 2. Estructura molecular de la amilosa

Fuente: DOMINGUEZ (2008)

1.1.4 Gelatinización. SCHIRMER *et al.* (2014), señalan que la gelatinización se puede definir como la desintegración de la estructura del gránulo nativo.

Es el proceso donde los gránulos de almidón que son insolubles en agua fría debido a que su estructura es altamente organizada, se calientan (60-70°C) y comienzan un proceso lento de absorción de agua en las zonas intermicelares amorfas. A medida que se incrementa la temperatura, se retiene más agua y el gránulo empieza a hincharse y a aumentar de volumen. Al llegar a cierta temperatura, los gránulos alcanzan un volumen máximo y pierden su birrefringencia.¹

Pese a tratarse de un fenómeno estudiado desde principios del siglo XIX la naturaleza exacta de los cambios estructurales que ocurren durante el proceso de gelatinización es aun mal comprendida y sigue siendo investigada. El grado de gelatinización depende de:

- Condiciones de procesamiento (temperatura, humedad, presión, etc.)
- Presencia de otros compuestos (sales, lípidos, azúcares, etc.). A modo de ejemplo, la presencia de grasas puede interferir con la gelatinización de los granos entre otros aspectos por ofrecer una barrera al agua, no permitiendo que los granos se hinchen.²

En el Cuadro 1 se muestran las propiedades térmicas de algunos almidones presentes en la naturaleza, incluyendo el utilizado en este trabajo (almidón de papa)

Cuadro 1. Temperatura de gelatinización de algunos almidones (°C)

Almidones	T _i	T _p	T _f
Yuca	50,68	54-78	60-100
Maíz	62,3	66,3	72,9
Papa	60	69	80

Fuente: Modificado de HERNANDEZ *et al.* (2008)

¹ http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Seminario-Gelatinizacionyretrogrdacion_25483.pdf

² http://www.nexus.org.ar/trabajos_investigacion/Gelatinizaci%C3%B3n%20de%20almidones%20y%20alternativas%20de%20medici%C3%B3n%20-%202012.pdf

Al estar en contacto con agua fría el almidón es completamente insoluble, al someterlo a calentamiento suceden entonces modificación en su estructura, volviéndose soluble y ocurre un proceso llamado gelatinización (COELLO y GARCES, 2012).

Según PINEDA *et al.* (2010), la gelatinización es quizás la transición más importante del almidón. Es una transición orden-desorden que sufren los polímeros de almidón sometidos a procesos de calentamiento lo cual tiene gran impacto en el procesamiento, calidad y estabilidad de los productos basados en almidón.

La Figura 3 muestra de manera esquematizada el comportamiento del almidón antes, durante y después de la gelatinización. Donde en A los gránulos se dispersan en agua no caliente y comienzan a hidratarse, luego en B donde comienza a aumentar la temperatura, los gránulos se hinchan por la absorción de agua y a partir de 60-70°C se completa su gelatinización y se observa un claro aumento de la viscosidad del medio. Ya en C al seguir aumentando la temperatura, los gránulos se rompen y liberan las cadenas de amilosa y amilopectina que forman una red coloidal que aumenta muy significativamente la viscosidad del sistema. Por ultimo en D según las condiciones físicas y la estabilidad del gel puede ocurrir retrodegradación del almidón y separación de fases (sinéresis).

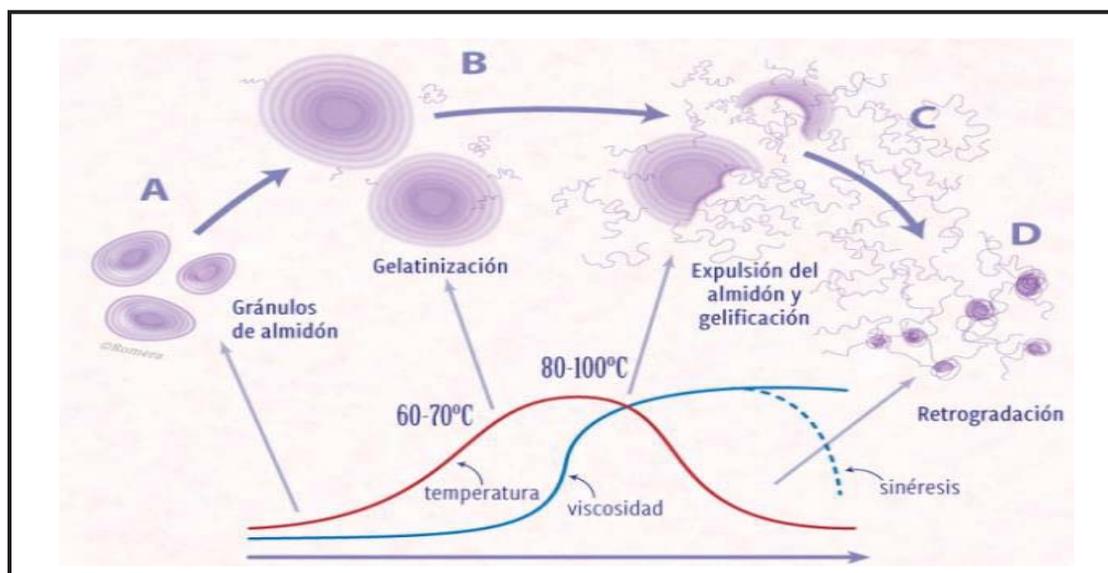


Figura 3. Eventos que ocurren antes, durante y después de la gelatinización

Fuente: ROMERA (2016).

1.2 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Esta técnica será utilizada para determinar los parámetros térmicos del almidón presente en las muestras de papa.

La Calorimetría Diferencial de Barrido es un equipo que evalúa cambios físicos y químicos de los materiales, mediante el monitoreo de diferencias caloríficas entre la muestra y una referencia (materia inerte). La velocidad de flujo calórico es igual tanto para la muestra como para la referencia.

El propósito de los instrumentos térmicos diferenciales es registrar la diferencia entre el cambio de entalpía que ocurre en una muestra y un material inerte de referencia cuando ambos se calientan (SANDOVAL *et al.*, 2004).

En general, un microcalorímetro DSC consiste básicamente en dos células gemelas, donde una actúa de referencia, y la otra contiene la muestra, ambas situadas simétricamente dentro de un caparazón metálico diseñado para crear un entorno casi adiabático. La temperatura de este caparazón se controla a través de termosensores y efectores apropiados para que esté en todo momento muy próxima a la temperatura de las células.

El uso del DSC permite medir la capacidad calorífica aparente de una disolución macromolecular como una función continua de la temperatura, obteniéndose así lo que comúnmente se denomina *termograma* (SABIN, 2007).

1.3 Microscopía de luz polarizada

Según ROSS y WOJCIECH (2008), el microscopio de polarización o de luz polarizada es una simple modificación del microscopio óptico de campo claro en la que se coloca un filtro de polarización llamado polarizador, entre la fuente luminosa y la muestra y se instala un segundo filtro, llamado analizador, entre la lente objetivo y el observador.

Tanto el polarizador como el analizador pueden rotarse: la diferencia entre sus ángulos de rotación se utiliza para determinar el grado en el que una estructura afecta el haz de luz polarizada. La capacidad de los cristales o las sustancias paracristalinas de rotar el plano de luz polarizada recibe el nombre de birrefringencia.

El microscopio de polarización tiene su fundamento en el hecho de que las moléculas o los conjuntos de moléculas muy bien ordenadas pueden rotar el ángulo del plano en que vibra la luz polarizada.

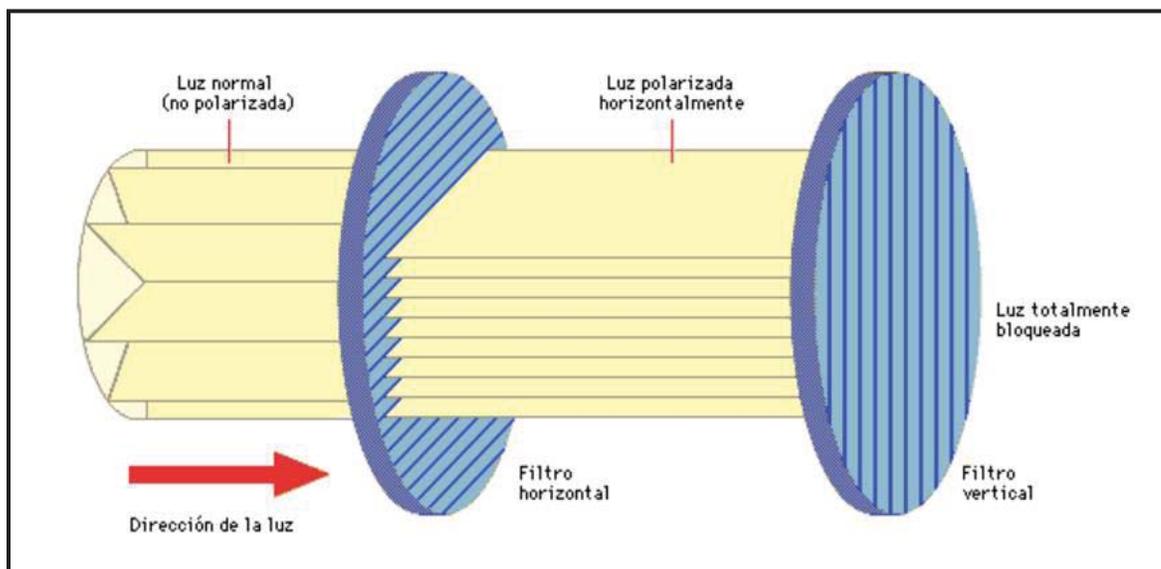


Figura 4. Esquema que muestra el mecanismo de acción de la luz polarizada

Fuente: NARVÁEZ (2012)

1.4 Birrefringencia. Los gránulos de almidón están formados por regiones cristalinas y amorfas, mostrando una “Cruz de Malta” cuando son observados bajo la luz polarizada. Este fenómeno es conocido como birrefringencia, el cual indica que existe un alto grado de orientación molecular dentro del gránulo, sin referencia a ninguna forma cristalina (MILLAN, 2004).

El arreglo radial de las moléculas de almidón en el gránulo constituyen su estructura semicristalina, por lo que éste polisacárido presenta birrefringencia (la cruz de malta) cuando es observado a través de un microscopio de luz polarizada, al centro de la cruz se encuentra el hilium. Los gránulos intactos muestran un patrón de birrefringencia bien definido con una cruz oscura (UTRILLA, 2007).

En la Imagen 2 se observan micrografías en donde se puede apreciar claramente la birrefringencia de los gránulos, su cruz de malta mediante un microscopio de luz polarizada.

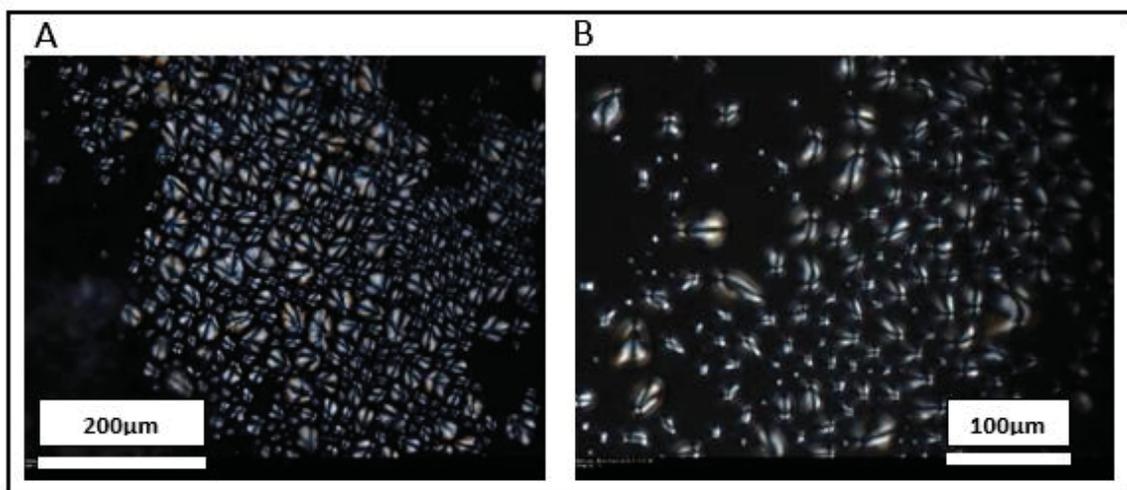


Imagen 2. Micrografías de gránulos de almidón de papa, obtenidas bajo luz polarizada: (A) lente óptico de 10X y (B) lente óptico de 20X

La birrefringencia implica sólo un alto grado de orientación molecular del gránulo y no tiene relación a cualquier forma cristalina en particular (LAJOLO y WENZEL, 2006).

Objetivo general

- Comparar la cinética de gelatinización del almidón presente en papa cruda bajo diferentes tasas de calentamiento utilizando los métodos Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) y Microscopia de luz polarizada.

Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la velocidad de calentamiento en el proceso de gelatinización.
- Determinar si al evaluar dos características relacionadas con la gelatinización (temperaturas de fusión de las estructuras; presencia de estructuras cristalinas) se obtienen valores similares a una misma temperatura.

2. MATERIAL Y MÉTODO

2.1 Ubicación

El desarrollo de este trabajo se llevó a cabo en los laboratorios del Instituto de Ciencias y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL), de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Campus Isla Teja, Valdivia.

2.2 Material biológico

El material utilizado para este trabajo fue papa cruda. La variedad fue de tipo comercial, llamada “Desiree”, la cual es consumida de manera habitual por la población. Las papas fueron analizadas directamente (*in situ*) por Calorimetría diferencial de barrido (DSC) y con almidón aislado en Microscopia de luz polarizada (MLP). Se usó almidón aislado para MLP debido a que las estructuras celulares y la sobreposición de los gránulos no permitió hacer un estudio *in situ*.

2.3 Método

Básicamente consiste en dos etapas, primero las muestras fueron llevadas al microscopio de luz polarizada, donde se obtuvo micrografías desde el inicio hasta el final de la geelatinización. Luego estas fotos fueron analizadas por un software (ImageJ), el cual cuantifica áreas blancas y negras en cada foto. Posteriormente nuevas muestras fueron analizadas por Calorimetría Diferencial de Barrido.

2.3.1 Obtención de microfotografías mediante MLP. La gelatinización se analizó mediante micrografías capturadas por un microscopio de luz polarizada (modelo BHS-2, Olympus Vanox, Japón), el cual hace que las ondas y campos eléctricos provenientes de una fuente estándar de iluminación, oscilen todos en un mismo plano. De esta manera es posible observar los gránulos birrefringentes de almidón. Se procedió a dejar en agua por aproximadamente 15 minutos trozos de papa (~1 x 1 x 0,5 cm), para que así desprenda almidón. Este almidón aislado es llevado al microscopio en una placa con agua destilada. Un programador de temperatura se

conecta con la platina caliente para controlar el progreso de calentamiento de 20 a 90°C a distintas tasas de calentamiento (2, 5, 10, 15, 20 y 25°C/min). Las fotografías fueron capturadas cada 1 segundo por sobre los 60°C.

2.3.2 Preparación de muestras para DSC. Las propiedades térmicas de interés para este trabajo, fueron analizadas a través del método de Calorimetría Diferencial de Barrido DSC 823-e de METTLER TOLEDO. Se pesaron entre 20 y 25 mg de muestra en un crisol de aluminio de capacidad de 40µL, enseguida se agregaron entre 15-20µL de agua a temperatura ambiente. Todo esto fue pesado en una balanza analítica. Luego de pesar 3 muestras (triplicado) los crisoles fueron cerrados herméticamente. Por último, las muestras son colocadas en el equipo y se someten a un calentamiento de 20 a 90°C, con las respectivas tasas de calentamiento; 2, 5, 10, 15, 20 y 25°C. Del equipo DSC se obtuvo las siguientes propiedades térmicas:

- **T_i (°C) Temperatura inicial de gelatinización:** Es la temperatura a la cual el almidón comienza a perder su ordenamiento molecular, donde los puentes de hidrógeno de la región amorfa del gránulo se rompen permitiendo que el agua se asocie a los grupos hidroxilos libres de agua.
- **T_p (°C) Temperatura pico de gelatinización:** Es la temperatura a la cual los gránulos de almidón están completamente hidratados y han perdido todo su ordenamiento molecular, lo que dará paso a la ruptura del gránulo.
- **T_f (°C) Temperatura final de gelatinización:** Es la temperatura a la cual el gránulo está completamente desintegrado.
- **ΔH_{Gel} (J/g) Diferencial de entalpia de gelatinización:** Es la diferencia que existe entre el calor absorbido por la muestra y el calor absorbido por la referencia.

2.4 Análisis de fotografías (ImageJ). Es un programa de procesamiento de imagen digital de dominio público. Las áreas blancas y negras de cada fotografía capturadas por el microscopio de luz polarizada, fueron analizadas por este software. Se analizan una serie de fotografías, en este caso entre 6 a 10. Cada una entrega un porcentaje de área blanca y negra que posee la imagen. Luego utilizando el método IOD, se calcula el grado de gelatinización DG(%) de cada micrografía. DG(%) basado en el valor IOD se calculó como sigue:

$$C = A - B \quad (1)$$

$$DG(\%) = \left(1 - \frac{C}{C_0}\right) \times 100 \quad (2)$$

Donde:

A: Valor original de la imagen

B: Valor original del fondo (cuando la birrefringencia ha desaparecido)

C: Valor real IOD

C₀: Valor real IOD inicial

En base a esto, se obtuvieron DG(%) para cada micrografía.

2.5 Análisis estadístico

El estudio consistió en un experimento factorial de 2 factores (etapa/grado de gelatinización y tasas de calentamiento), uno de los cuales tiene 3 niveles (T_i, T_p, y T_f) para DSC y (0, 50 y 100%) para MLP, y el otro 6 niveles (2, 5, 10, 15, 20 y 25°C/min) para ambos métodos. Todo el experimento se realizó en triplicado, realizándose un análisis de varianza (ANOVA) multifactorial para variables categóricas, aplicando el test de tukey para determinar los grupos homogéneos, esto analizado mediante el software Statgraphics Centurion XVI.

3. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 Propiedades térmicas

Mediante la técnica de calorimetría diferencial de barrido, la cual mide la energía absorbida o liberada por una muestra cuando ocurre un cambio de fase. Se evaluó la temperatura inicial (T_i), pico (T_p) y final (T_f) de gelatinización. El otro método utilizado fue la microscopía de luz polarizada, el cual muestra la pérdida de birrefringencia de los gránulos de almidón.

En el Cuadro 2 se presentan resultados obtenidos de los termogramas de DSC, mostrando las temperaturas antes mencionadas a su respectiva tasa de calentamiento. Mientras que en el Cuadro 3 se muestran las temperaturas a las cuales los gránulos de almidón presentaban 0, 50 y 100% de pérdida de birrefringencia, las cuales fueron obtenidas utilizando microscopía de luz polarizada.

Cuadro 2. Propiedades térmicas de gelatinización para DSC a distintas tasas de calentamiento

Tasas de calentamiento	Temperaturas de gelatinización usando DSC (°C)		
	T_i	T_p	T_f
2°C/min	63,2±0,5 ^c	65,18±0,5 ^c	67,4±0,5 ^c
5°C/min	62,4±0,4 ^c	65,4±0,5 ^c	68,7±0,6 ^c
10°C/min	67,3±0,1 ^b	70,8±0,4 ^b	75,0±0,1 ^b
15°C/min	67,0±0,8 ^b	70,9±0,8 ^b	76,7±0,4 ^b
20°C/min	67,5±1,3 ^a	72,7±1,8 ^a	79,4±1,8 ^a
25°C/min	68,0±0,3 ^a	73,2±0,5 ^a	80,0±1,4 ^a

* Valores con distinta letra son estadísticamente diferentes ($p < 0,01$)

Cuadro 3. Propiedades térmicas de gelatinización para MLP a distintas tasas de calentamiento

Tasas de calentamiento	Temperaturas para distintos grados de gelatinización (°C)		
	0%	50%	100%
2°C/min	66±1,0 ^c	71,7±1,5 ^c	76±1,0 ^c
5°C/min	66±1,73 ^c	70,5±1,7 ^c	75±1,7 ^c
10°C/min	66,7±0,7 ^c	71,7±0,7 ^c	76,7±0,7 ^c
15°C/min	71±1,0 ^b	76,2±1,0 ^b	81,3±1,2 ^b
20°C/min	71±1,0 ^b	77,3±1,3 ^b	84±1,0 ^b
25°C/min	76±1,0 ^a	80,5±1,0 ^a	85±1,0 ^a

* Valores con distinta letra son estadísticamente diferentes ($p < 0,01$)

En el Cuadro 2 se puede observar que en las tasas de calentamiento 2 y 5°C/min la temperatura de gelatinización para DSC fluctúa entre 63,2 y 68,7°C, esto se asemeja bastante a los resultados de un estudio realizado por PINEDA *et al.* (2010), en donde la temperatura de gelatinización fue entre 60 y 70°C, a las mismas tasas de calentamiento. Por otro lado, estudios realizados por QIAN *et al.* (2013), mostraron que la gelatinización ocurre entre los 66 y 76°C a una velocidad de calentamiento de 2°C/min, lo cual coincide con los resultados que se observan en el Cuadro 3, donde la gelatinización comienza a los 66°C y termina a los 76°C a una velocidad de calentamiento de 2°C/min. Al incrementar la velocidad de calentamiento, la temperatura de inicio de gelatinización fue aumentando, donde en la tasa de calentamiento más alta (25°C/min) ésta fue de 68,08°C para DSC, mientras que para MLP la temperatura de inicio de gelatinización aumenta a 76°C. Así también, la temperatura final de gelatinización también aumentó considerablemente en ambos métodos, alcanzando en la tasa de calentamiento mayor (25°C/min), una temperatura de 80,0°C en DSC y 85°C en MLP, donde la pérdida de birrefringencia fue del 100%.

En productos que contienen almidón, la influencia de la velocidad de calentamiento es de particular interés debido a la importancia del proceso de gelatinización y de cómo afecta éste a las propiedades funcionales, estructurales y de textura del producto (WOOTTON y BAMUNUARACHCHI, 1979).

3.2 Cinética de gelatinización obtenida por microscopía de luz polarizada (MLP)

La Figura 5 muestra la gelatinización a distintas tasas de calentamiento (2, 5, 10, 15, 20 y 25°C/min) analizada en MLP. Se puede ver que en las tasas de calentamiento menor (2, 5 y 10°C/min), comienzan antes su gelatinización, mientras que las tasas de calentamiento de 15 y 20°C/min comienzan a gelatinizar entre 70-72°C, y por último la tasa más alta de calentamiento (25°C/min), se aleja bastante de las demás, con un inicio de gelatinización a una temperatura de 76°C.

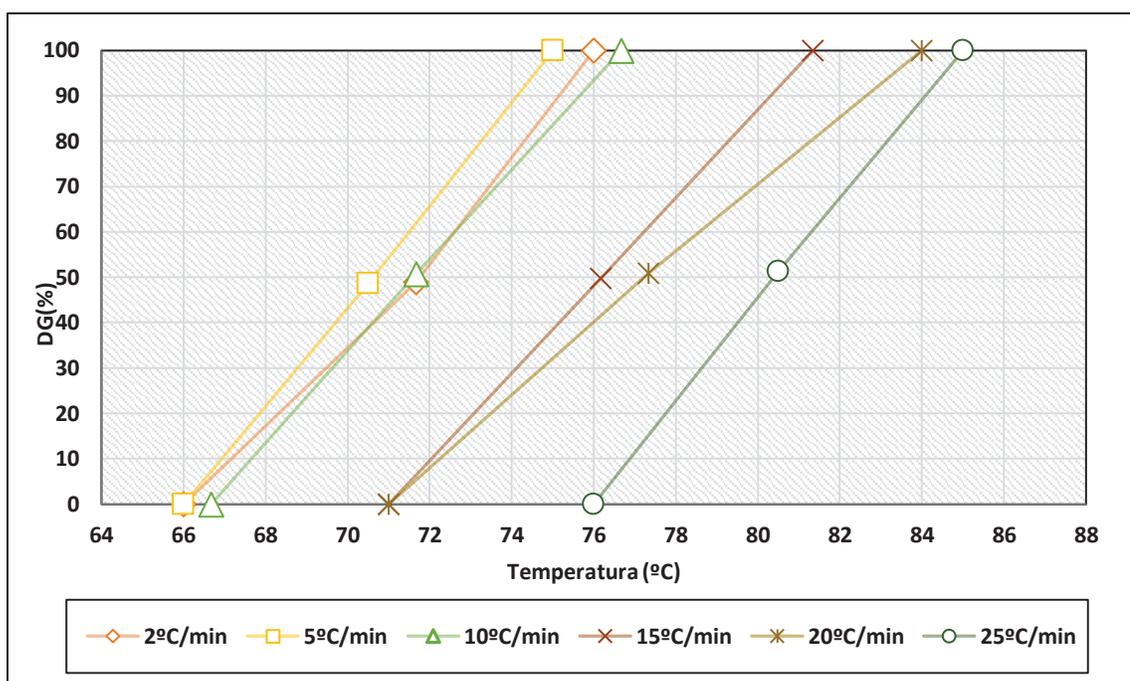


Figura 5. DG(%) de almidón de papa a distintas tasas de calentamiento obtenido mediante MLP

En la Imagen 3 se muestra el proceso de gelatinización del almidón en tres etapas: Inicio, pico y final de gelatinización. Cada micrografía muestra la temperatura específica en cada etapa y el DG(%) (grado de gelatinización) correspondiente a la tasa de calentamiento a la que fue sometido.

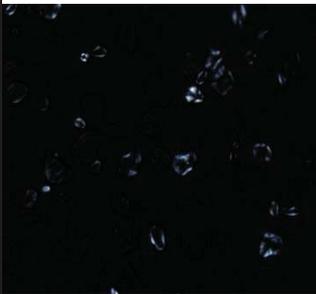
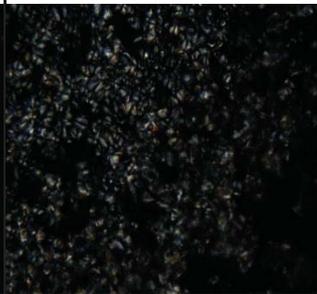
Etapa de Gelatinización	Tasas de Calentamiento		
	2°C/min	15°C/min	25°C/min
INICIO _{Gel}			
<i>DG%</i>	0%	0%	0%
<i>T°C</i>	66°C	71°C	76°C
PICO _{Gel}			
<i>DG%</i>	51%	49%	50%
<i>T°C</i>	71°C	76°C	80°C
FINAL _{Gel}			
<i>DG%</i>	99%	100%	100%
<i>T°C</i>	76°C	81°C	85°C

Imagen 3. Micrografías a diferentes tasas de calentamiento (2, 15 y 25°C/min) durante el proceso de gelatinización bajo luz polarizada y su DG(%) correspondiente

En MLP al finalizar la gelatinización en las tasas de calentamiento más altas (20 y 25°C/min), se observó en algunas micrografías la presencia de gránulos que no pudieron gelatinizar, esto pudo ocurrir debido al poco tiempo que éstos tuvieron para

absorber agua, haciendo que no pudieran gelatinizar completamente y de manera normal. En las tasas de calentamiento más altas existe un efecto de limitación en la difusión de agua y una limitante estérica respecto al movimiento de las moléculas de almidón, que impiden que el proceso ocurra a las mismas temperaturas que las observadas a bajas tasas de calentamiento. Esto explicaría la notable diferencia en el inicio de la gelatinización entre la tasa menor y mayor de temperatura, 2 y 25°C/min, respectivamente. Las cuales son 76 y 85°C, ya que al aumentar tan rápido la temperatura el agua no alcanza a difundirse por todos los gránulos y el ordenamiento y movimiento de éstos previo a la gelatinización, no ocurre de manera normal.

3.3 Cinética de gelatinización obtenida por calorimetría diferencial de barrido

En la Figura 6 se observa que en las tasas de calentamiento 2 y 5°C/min el almidón comienza antes su gelatinización, entre los 62°C y 64°C, mientras que los rangos de mayor temperatura (10, 15, 20 y 25°C/min) comienzan a gelatinizar entre los 66 y 68°C.

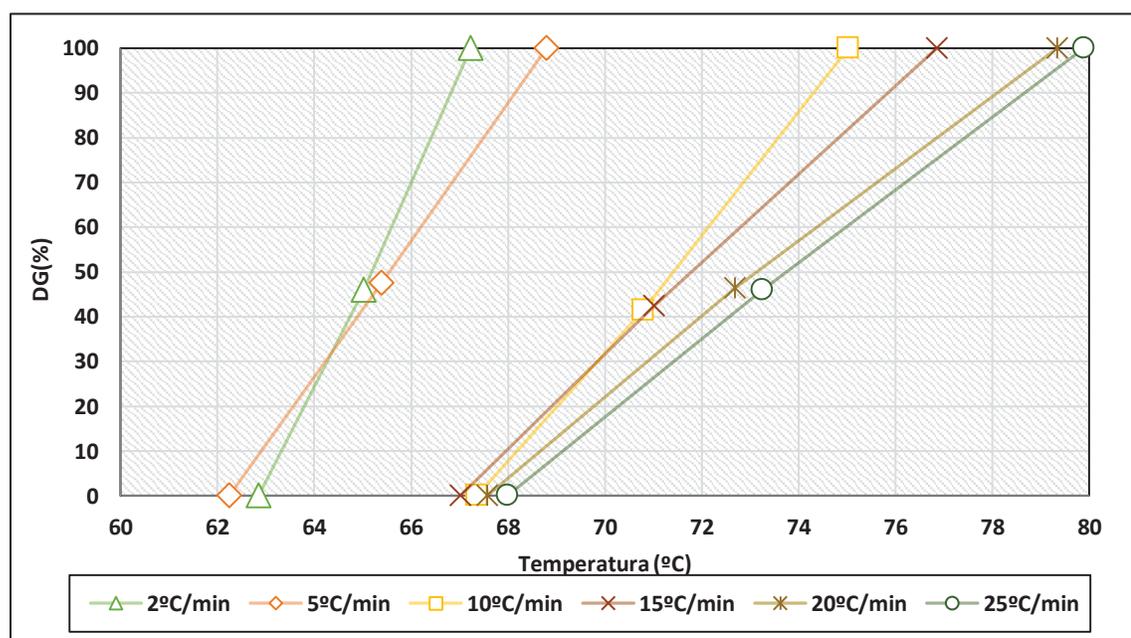


Figura 6. DG (%) del almidón de papa a distintas tasas de calentamiento obtenido mediante calorimetría diferencial de barrido

Esto pudo ocurrir debido a que mientras más tiempo el gránulo de almidón se encuentre en contacto con el agua y al mismo tiempo se vaya aumentando la

temperatura, éstos comienzan a hincharse haciendo que se produzca un intercambio de energía, de tal forma que la gelatinización comience antes. Mientras que en las tasas de calentamiento más altas, no hubo el tiempo suficiente para que ocurra esta serie de eventos y así se inicie la gelatinización.

3.4 Comparación de calorimetría diferencial de barrido y microscopía de luz polarizada

En esta sección se comparó mediante dos técnicas la cinética de gelatinización del almidón sometido a diferentes tasas de calentamiento. Se tomaron en cuenta tres fases en ambos métodos; en MLP se monitoreó el 0, 50 y 100% de pérdida de birrefringencia, y en calorimetría diferencial de barrido, se evaluó temperaturas inicial, pico y final de gelatinización (T_0 , T_p y T_f).

En la Figura 7 se muestra la comparación entre ambos métodos, a una velocidad fija de calentamiento de 2°C/min.

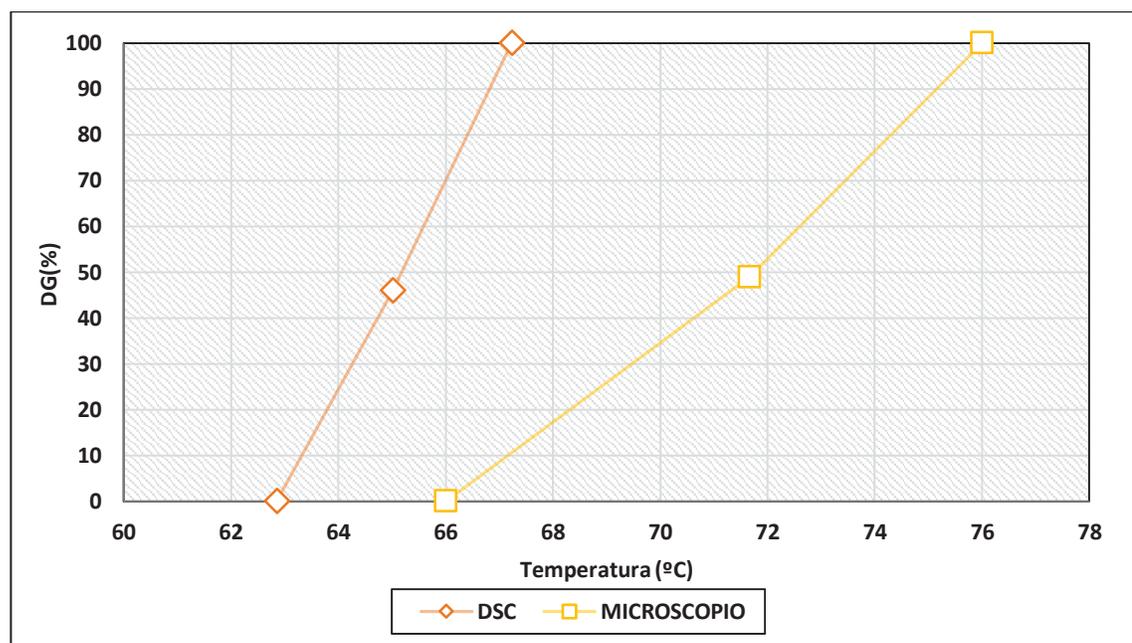


Figura 7. Comparación del grado de gelatinización entre DSC y MLP a una tasa fija de calentamiento de 2°C/min

Los gránulos de almidón que gelatinizan parcialmente pierden en cierto grado su cristalinidad, pero aun no pierden por completo su birrefringencia, por lo tanto, puede variar su temperatura con respecto a los datos obtenidos por calorimetría diferencial de barrido (QIAN *et al.*, 2013).

En el presente estudio los resultados mostraron que la pérdida de birrefringencia en los gránulos de almidón ocurre a temperaturas más altas que la fusión medida por DSC. Esto puede explicarse en parte, porque el inicio de la gelatinización no es considerada de la misma forma para ambos métodos. En DSC se da inicio a la gelatinización cuando comienza a intercambiarse energía y a ocurrir un cambio de fase (ΔH), por lo que cuando los gránulos comienzan a hidratarse y a moverse, se da inicio a la gelatinización comenzando a formarse el termograma. Por otro lado, en MLP cuando se observa la pérdida de birrefringencia en los gránulos, se da inicio a la gelatinización, por lo tanto lo ocurrido previo a esto, no se cuantifica en MLP, pero si en DSC.

4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio determinaron que la velocidad de calentamiento a la cual es sometido el almidón, afecta y modifica las temperaturas de inicio, pico y final de este proceso. Por lo que en la industria alimentaria en donde se utilice almidón, debe someterse a una cocción lenta, para que así la gelatinización comience a la temperatura requerida, y pueda ocurrir de manera efectiva todo el proceso.

Por otro lado, se concluye que analizando dos características de la gelatinización (cambio de fase; pérdida de birrefringencia), ambos métodos utilizados no entregan los mismos resultados a una misma temperatura, ya que en MLP el inicio de la gelatinización no es considerada de igual forma que en DSC. En MLP la gelatinización inicia cuando la birrefringencia de los gránulos comienza a desaparecer, mientras que en DSC comienza cuando hay intercambio de energía y cambio de fase (hinchamiento y ordenamiento de los gránulos).

De esta forma se puede concluir que ambos métodos pueden analizar la cinética de gelatinización, pero de manera distinta, uno desde una perspectiva más física (pérdida de birrefringencia) y el otro desde el punto de vista fisicoquímico (intercambio de energía).

Ambos métodos utilizando diferentes parámetros, pueden caracterizar las propiedades de gelatinización del almidón desde diferentes perspectivas. Las propiedades físicas y químicas son medidas con algunas diferencias, pero relacionadas entre sí.

5. BIBLIOGRAFÍA

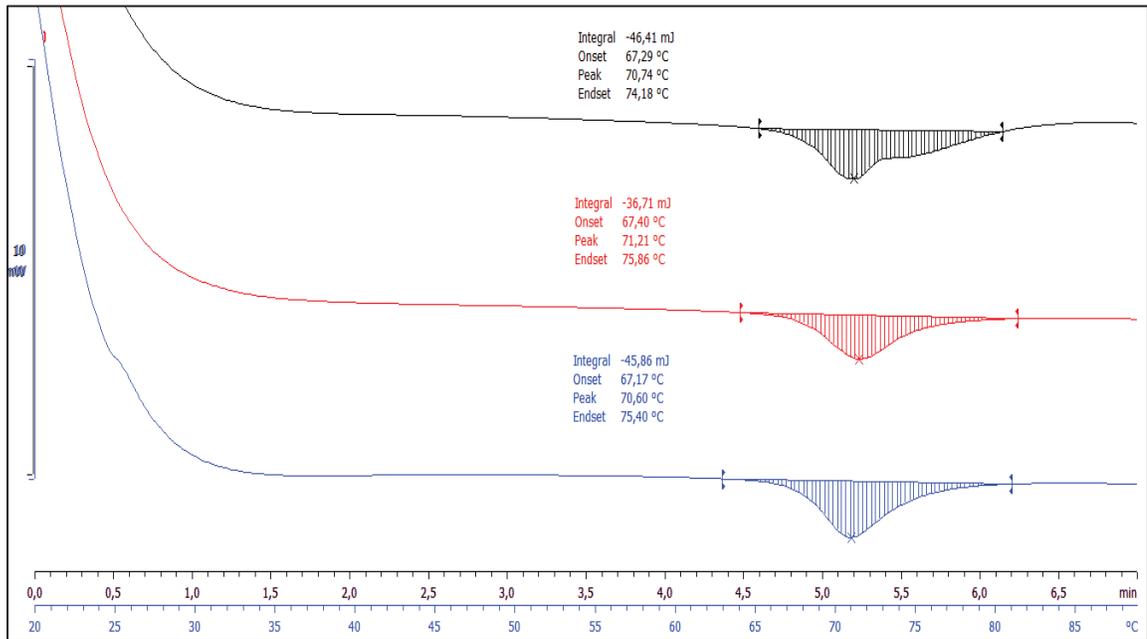
- BARRERA, V.; TAPIA, C. y MONTEROS, A. 2004. Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. Centro Internacional de la Papa (CIP). Ecuador. (4) 174p
- BELLO, J. 2000. Ciencia Bromatológica: Principios generales de los alimentos. Departamento de Bromatología, Tecnología de Alimentos y Toxicología. España. 592p
- COELLO, V. y GARCES, C. 2012. Análisis de Propiedades Térmicas durante la Gelatinización en tres variedades de arroz INIAP aplicando el Calorímetro Diferencial de Barrido (DSC). Tesis de grado de Ing. En Alim. Guayaquil. Escuela Superior Politécnica Del Litoral. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. 91p
- DOMINGUEZ, M. 2008. Química: La ciencia básica. España. 1233p
- FENNEMA, O. 2000. Química de los alimentos. (2). Wisconsin. 1258p
- HERNANDEZ, M.; TORRUCO, J.; CHEL, L. y BETANCUR, D. 2008. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán. México. 28 (3)
- LAJOLO, F. y WENZEL, E. 2006. Carbohidratos en Alimentos Regionales Iberoamericanos. EDUSP. São Paulo. 648p
- MELO, V. y CUAMATZI, O. 2007. Bioquímica de los Procesos Metabólicos. México. (2). 406p
- MENDEZ, G. 2012. Diferencias estructurales y reológicas entre almidones de frutas y cereales., Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del Instituto Politécnico Nacional. México. 46 (5) 455-466

- MILLAN, C. 2004. Estudios estructurales y moleculares del almidón de fuentes no convencionales: mango (*Mangifera indica L.*), plátano (*Musa paradisiaca*) y okenia (*Okenia hypogaea*). Tesis de grado de Maestro en Ciencias en Desarrollo de Productos Bióticos. Departamento de Desarrollo Tecnológico, Centro de Desarrollo de productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional. México. 81p
- NARVÁEZ, D. 2012. Texto Electrónico complementario para el estudio del TEMA N° 2 “EL MICROSCOPIO” del Programa Teórico de la asignatura Histología. (Disponible en: http://www.medic.ula.ve/histologia/anexos/microscopweb/MONOWEB/capitulo_6_3.htm#aplic . Consultado el: 18 de agosto, 2016)
- OSPINA, B. y CEBALLOS, H. 2002. La Yuca en el Tercer Milenio. Sistemas Modernos de Producción, Procesamiento, Utilización y Comercialización. Centro Internacional de Agricultura Tropical; Consorcio Latinoamericano y del Caribe de Apoyo a la investigación y Desarrollo de la Yuca. Colombia. 586p
- PEÑA, A.; ARROYO, A.; GOMEZ, A.; TAPIA, R. y GOMEZ, C. 2004. Bioquímica. Centro de investigaciones en fisiología celular y Departamento de Biología Molecular del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma. México. (2) 427p
- PINEDA, P.; CORAL, D.; ARCINIEGAS, M.; RORALES, A. y RODRIGUEZ, M. 2010. Papel del agua en la gelatinización del almidón de maíz: estudio por calorimetría diferencial de barrido. Ing. y Ciencias. Colombia. 6 (11) 129-141.
- PRIMO, E. 1995. Química Orgánica y Aplicada. De la molécula a la industria. Barcelona. (2) 484p
- QIAN, L.; QIN, X.; SHUJUAN, Y. y QUNYU, G. 2013. New approach to study starch gelatinization applying a combination of hot-stage laight microscopy and differential scanning calorimetry. J.Agric. Food Chem. 61. 1212-1218.

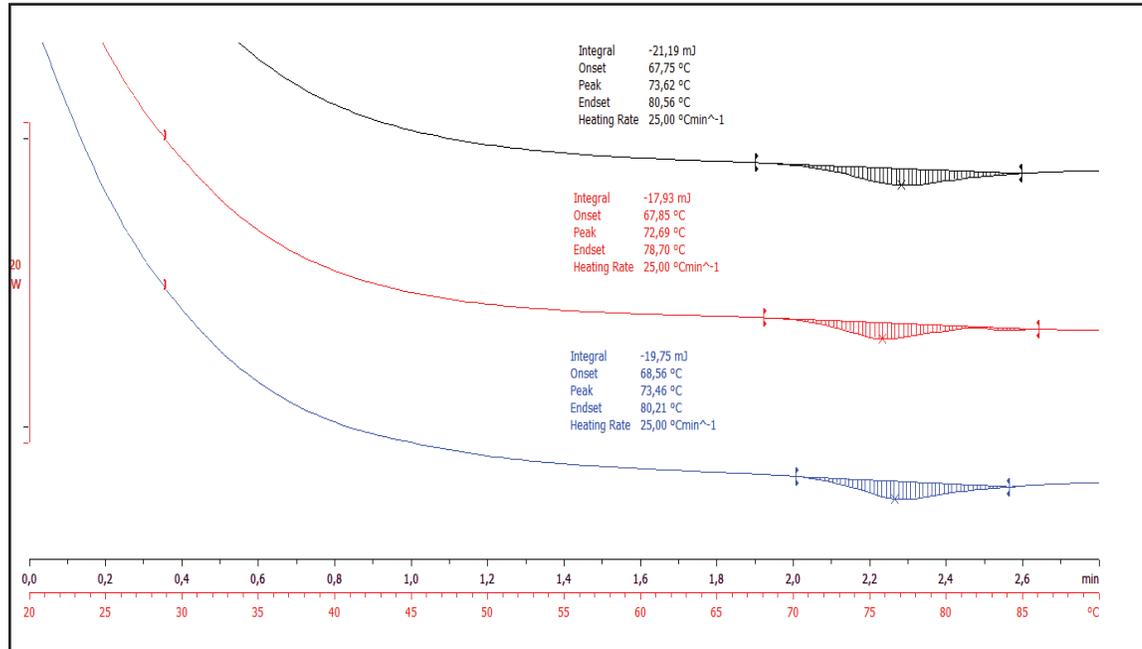
- RODRIGUEZ, P.; SAN MARTIN, M. y GONZALEZ DE LA CRUZ, G. 2001. Calorimetría diferencial de barrido y rayos-x del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada. Centro de Investigación de Ciencia Aplicada y Tecnología avanzada del I.P.N. México. 13. 61-65
- ROMERA, M. 2016. Ligando salsas con ciencia (II): Carbohidratos. Ciencia, gastronomía e ilustraciones (Disponible en: <https://ilustracionmedica.wordpress.com/2016/04/10/ligando-salsas-con-ciencia-ii-carbohidratos/> . Consultado el: 10 de julio, 2016)
- ROSS, M. y WOJCIECH, P. 2008. Histología: Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular. España. (5) 974p.
- SABIN, J. 2007. Estabilidad coloidal de nanoestructuras liposómicas. Tesis Doctoral. Facultad de Física. Departamento de Física Aplicada. Grupo de biofísica e Interfases. España. 292p
- SANDOVAL, A.; RODRIGUEZ, E. y FERNANDEZ, A. 2004. Aplicación del análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) para la caracterización de las modificaciones del almidón. Medellín. 146. 45-53.
- SCHIRMER, M.; ZELLER, J.; KRAUSE, D.; JEKLE, M y BECKER, T. 2014 In situ monitoring of starch gelatinization with limited water content using confocal laser scanning microscopy. Institute of Brewing and Beverage Technology, Research Group Cereal Process Engineering, Technische Universität München. Germany. 239 (2) 247-257
- UTRILLA, R. 2007. Caracterización fisicoquímica, morfológica y bioquímica de los gránulos de almidón de maíz azul. Tesis de grado de Maestría en Ciencias en Desarrollo de Productos Bióticos. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional. Yautepec. 127p.
- WOOTTON, M. y BAMUNUARACHCHI, A. 1979. Application of Differential Scanning Calorimetry to Starch Gelatinization. Kensington (New South Wales). 31 (8) 262-264

6. ANEXOS

ANEXO 1. Ejemplo de termograma de gelatinización en muestras analizadas a 10°C/min



ANEXO 2. Ejemplo de termograma de gelatinización en muestras analizadas a 25°C/min



ANEXO 3. Micrografía de gránulos de almidón de papa obtenida desde un microscopio de luz polarizada

