

MAÍZ AZUL: ESTRUCTURA DEL ALMIDÓN

RESUMEN

Los alimentos producidos a base de almidón siempre son sometidos a procesos de cocción para que puedan ser consumidos y producir la textura deseada. El que un almidón presente propiedades fisicoquímicas, funcionales y nutricionales depende de la estructura molecular de la amilosa y la amilopectina, que aunque básicamente ambas estén conformadas por unidades de glucosa, difieren en su longitud de cadena y grado de ramificación y su relación de ellas dentro del granulo de almidón son determinantes para originar diversas formas y tamaños de gránulos. La textura y el sabor de las tortillas de maíz azul han dado pauta para investigar las diferencias entre el almidón de los maíces pigmentados y del maíz blanco; sin embargo, es necesario hacer un estudio de las características morfológicas, fisicoquímicas y estructurales del almidón de variedades de maíz azul cultivadas en diferentes regiones del país y que son comúnmente utilizadas en la elaboración de alimentos tradicionales (tortilla, tesgüino, atoles), con el fin de incrementar y direccionar su uso en el desarrollo de nuevos productos alimenticios de calidad y con propiedades nutraceuticas. El objetivo del presente trabajo fue investigar la estructura del almidón de 15 variedades de maíz azul. Los almidones provenientes de los granos cultivados en el Estado de México y Sinaloa mostraron un amplio intervalo en el porcentaje de amilosa aparente en comparación con las variedades cultivadas en Puebla. Los gránulos de todos los almidones presentan predominantemente formas poliédricas y pocas esféricas. Se encontraron diversos tamaños de gránulos (4-20 μm). Las muestras 437, 444, 449 y 455 se caracterizaron por presentar bajas T_0 y un mayor intervalo de gelatinización (12 - 13 $^{\circ}\text{C}$) que el resto de las muestras (9 - 10 $^{\circ}\text{C}$). Las entalpías de gelatinización (ΔH) estuvieron entre 9-12 J/g. Las propiedades de retrogradación fueron menores a las de gelatinización, debido al alineamiento incorrecto de las cadenas del almidón durante la reasociación. Los porcentajes de retrogradación fueron diferentes entre las muestras, destacando los valores mayores para 107 y 111, mientras que el mas bajo la muestra 455. La temperatura de formación de pastas fue diferente entre las variedades de maíz azul. El patrón de difracción fue del tipo A y el porcentaje de cristalinidad fue similar en todas las muestras. El valor de M_w y R_z se encuentran dentro de los valores previamente reportados para maíces normales y maíces cerosos.

Palabras clave: Maíz azul, almidón, estructura.

INTRODUCCIÓN

México es uno de los países con mayor biodiversidad en lo que a maíz se refiere. La mayoría de los productos consumidos en el país están elaborados de maíz blanco y/o amarillo, por lo que el uso de maíces pigmentados es menor, sin embargo, en diversas regiones de la Republica Mexicana el uso de maíces pigmentados es variado en la elaboración de platillos, bebidas y dulces tradicionales. Las tortillas elaboradas con maíz azul tienen un sabor dulce y permanecen flexible por mayor tiempo que las elaboradas con el maíz blanco y algunos autores asocian la flexibilidad con los altos contenidos de lisina (Sanchez et al., 2007). Otros autores sugieren que la textura en los productos a base de maíz es influenciada por el almidón que es su principal constituyente. El almidón es un homopolisacárido, las dos moléculas que lo conforman (amilosa y amilopectina) están constituidas por unidades de glucosa, pero se diferencian por su longitud de cadena y grado de ramificación. La relación que guardan estos dos componentes y su arreglo para originar los gránulos de almidón también difieren y son responsables de las diferencias en las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los almidones (Kuakpetoon y Wang, 2007).

Estudios reportados en productos nixtamalizados a base de maíz azul se enfocaron en la estabilidad de sus pigmentos (Salinas-Moreno, 2003), en la digestibilidad del almidón y la textura de las tortillas (Hernández-Uribe, 2007). El almidón presente en tortillas mostró menor índice glucémico, indicando que la glucosa liberada después del consumo de tortillas de maíz azul es menor que la que se libera cuando se consume tortilla de maíz blanco (Hernández-Uribe, 2007). Otros estudios en maíces pigmentados obtenidos por cruza tradicionales para incrementar el contenido de antocianinas, mostraron que estos maíces presentaron mayor contenido de almidón, el cual requirió de mayor energía para desorganizar su estructura, pero su retrogradación fue lenta y sus pastas mostraron mayores picos de viscosidad en comparación con el almidón de maíz blanco, concluyendo que los resultados obtenido podrían deberse a las diferencia estructurales de sus dos constituyentes, principalmente de la amilopectina (Agama, 2006). Utrilla, (2008) analizó el almidón de maíz azul, separó sus gránulos en base al tamaño (pequeños ≤ 10 um y grandes >10 um) y encontró que los gránulos grandes mostraron mayores

temperaturas y entalpías de gelatinización, y que podría deberse a que en este tipo de gránulos la longitud de cadena de la amilopectina es mayor. De lo anterior, surge la necesidad de investigar las características estructurales y moleculares de variedades de maíz que son utilizadas en diferentes regiones del país, con el fin de direccionar y diversificar su uso en el desarrollo de nuevos productos a base de maíz azul que además serían catalogados como alimentos nutraceuticos, ya que las antocianinas presentes en ellos son consideradas como poderosos antioxidantes naturales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizaron 15 materiales de las razas (conico-chalqueño y tabloncillo) las cuales fueron colectadas en diferentes regiones del País, donde comúnmente se utilizan en la elaboración de productos tradicionales. La información de la raza y sitios de colecta a la que pertenecen se condensan en el cuadro 1. Los granos fueron almacenados en bolsas negras a 4 °C. Al maíz se le retiró manualmente el pericarpio, pedicelo y germen, para obtener el endospermo el cual fue molido y el polvo obtenido se tamizó en malla 50 U.S. Para purificar el almidón, se pesó 1 g de endospermo y fue sometido a lavados sucesivos con metabisulfito, cloruro de sodio y etanol, para eliminar las proteínas de almacenamiento tras la centrifugación, los sobrenadantes fueron eliminados y el almidón se secó por convección a 40 °C por 3 h (Utrilla-Coello, 2008).

Antes de realizar los estudios estructurales fue necesario determinar el contenido de amilosa, y realizar el análisis térmico para observar en primer instancia las posibles diferencias en la estructura molecular del almidón.

Contenido de amilosa

Para realizar la determinación del contenido de amilosa las muestras de almidón de maíz azul fueron desgrasadas utilizando un equipo Soxhelt con una solución de metanol al 85%, posteriormente para cuantificar la afinidad de la amilosa con el yodo se utilizó un equipo de titulación potenciométrica automático (702 SM Titrino, Metrohm, Herisau, Switzerland), siguiendo el procedimiento reportado por Kasemsuwan *et al.* (1995).

Análisis morfológicos del almidón

Microscopía de luz

La microscopía de luz es una herramienta muy utilizada en la determinación del tamaño y la forma del gránulo de almidón. Se tomó una pequeña cantidad de almidón, se colocó en un portaobjeto, se mezcló con una gota de agua destilada y se le puso un cubreobjeto. Los gránulos de almidón se observaron en un microscopio (Leitz, Wetzlar, Alemania) con luz blanca.

Microscopía de luz polarizada

La microscopía de luz polarizada indica el grado de orientación molecular en el gránulo, mediante la formación de una cruz de malta en el centro del gránulo de almidón, conocido como fenómeno de birrefringencia. Los gránulos de almidón fueron colocados en un portaobjetos como se describe en el apartado anterior y fueron observados con luz polarizada.

Calorimetría de barrido diferencial (CBD)

Las propiedades térmicas fueron evaluadas, utilizando un calorímetro de barrido diferencial (CBD-7, Perkin-Elmer, Norwalk, CT) siguiendo la metodología de Jane *et al.* (1999). Para ello, se pesaron 2 mg de muestra en una charola de aluminio y se adicionaron 6 mg de agua desionizada. La charola se selló y se dejó equilibrar por 1 h y fue escaneada a una velocidad de 10 °C/min a una rampa de temperatura de 10-110 °C. Una charola vacía fue utilizada como referencia. Después de gelatinizar las muestras, los recipientes se almacenaron 7 días a 4 °C para determinar los parámetros de retrogradación. Transcurrido este tiempo, los recipientes se equilibraron por 1 h a temperatura ambiente y se analizaron en el calorímetro bajo las condiciones de gelatinización antes descritas.

Análisis rápido de viscosidad (RVA)

Las propiedades de formación de pastas de las muestras de maíz azul fueron analizadas utilizando un analizador rápido de viscosidad (RVA-4, Foss North America, Eden Prairie,

MN) siguiendo la metodología de Jane et al. (1999). Se preparó una suspensión del almidón al 8%, para lo cual se pesaron 2.24 g de almidón en base seca en recipientes de aluminio ARV y se llevaron hasta un peso total de 28 g con agua desionizada, la suspensión fue equilibrada durante 1 h a 30°C, posteriormente fue calentada a una velocidad de 6 °C/min hasta 95°C, manteniéndose a esta temperatura durante 5.5 min y posteriormente enfriando a 50°C a una velocidad de 6°C/min. Durante todo el experimento la muestra fue agitada con un sistema de paletas a 160 RPM.

Análisis estructural del almidón

Difracción de rayos X

El almidón se colocó en el portamuestra del difractómetro de rayos X (Bruker D5005, Inglaterra) de ángulo ancho, equipado con una fuente de cobre operado a 40 kV y 30 mA, produciendo una radiación de CuK α con una longitud de onda de 1.54 Å. Los datos fueron colectados en un rango de 4-38° a intervalos de 0.1° con una velocidad de barrido de 60 s/°. La línea base del difractograma se corrigió en el intervalo de barrido y el vector se normalizó utilizando el software OPUS 3.0 (Bruker, UK) antes de calcular el índice de cristalinidad.

Tratamiento del almidón con dimetilsulfóxido (DMSO)

El tratamiento del almidón con DMSO se llevó a cabo siguiendo la metodología de Yoo y Jane (2002a). Para lo cual se humectaron 100 mg de almidón con 1.0 ml de agua y fueron sometidos a agitación durante 10 min, posteriormente dispersados en 9 ml de DMSO, para obtener una solución de DMSO al 90 %. La suspensión se agitó mecánicamente durante 1 h bajo calentamiento en un baño de agua hirviendo, se mantuvo en agitación durante 24 h a 25°C. Una alícuota (2ml) de dispersión fue mezclada con 4 volúmenes de etanol (8 ml) para precipitar el almidón. El almidón se separó mediante centrifugación a 7000 rpm durante 20 min y se redisolvió en 5 ml de agua caliente (se obtuvo una concentración de 4 mg /ml) y se agitó durante 30 min en un baño de agua hirviendo. La muestra fue filtrada a través de una membrana de nylon de 5.0 μ m tamaño de poro.

Cromatografía de permeación en gel (CPG)

El fraccionamiento de los componentes del almidón se llevó a cabo mediante cromatografía de permeación en gel (CPG) siguiendo el método de Song y Jane (2000), en el cual 5 ml de dispersión de almidón (4mg/ml) pretratado con DMSO (90 %) se inyectaron en una columna de (2.6 cm x 90 cm) empacada con gel sepharosa CL-2B (Pharmacia Inc., Piscataway, NJ). La columna corrió en forma ascendente. Una solución de 1 M de NaCl, 40 mM de NaOH y 0.8% NaN₃ fué utilizada como fase móvil a una velocidad de 30 ml/h, fracciones de 4.8 mL fueron colectadas y analizadas mediante las técnicas de carbohidratos totales (fenol - ácido sulfúrico) (Dubois et al., 1956) y valor azul (tinción con Yodo) (Juliano, 1971) en un espectrofotómetro automático, modelo ELx 808 (Bio-Tek Instruments, Inc. Winooski USA.) a 490 y 630 nm, respectivamente.

Con los cromatogramas se determinaron las fracciones donde se localiza la amilopectina. Estas se colectaron, se ajustó pH = 7.0 y se concentró la dispersión en un rotovapor modelo R (Büchi Labortechnik AG Meierseggstrasse, Suiza), cuidando que la amilopectina no quedara pegada en las paredes del matraz. Una vez concentrada la dispersión, se precipitó con 4 volúmenes de etanol posteriormente se centrifugó a 7000 rpm durante 20 min. Para secar en un horno a 40 °C.

Cromatografía de alta resolución por exclusión de tamaño (CLARET) acoplada a detectores de dispersión de luz multi-ángulos (DDLMA) e índice de refracción (IR)

El peso molecular y radio de giro de las moléculas de amilopectina fueron determinadas mediante cromatografía líquida de alta resolución por exclusión de tamaño acoplado a detectores de dispersión de luz multiángulos e índice de refracción (CLARET-DDLMA-IR), siguiendo la metodología utilizada por Yoo y Jane (2002b). Los almidones pretratados con DMSO al 90%, fueron inyectados al sistema CLARET-DDLMA-IR a una concentración de 0.4 mg / ml. El sistema CLARET-DDLMA-IR consiste de una bomba isocratica HP 1050 (Hewlett packard, Valley Forge, PA) equipada con una válvula de inyección (100 µl de capacidad, modelo 7125, Rheodyne), un detector multiángulos de dispersión de luz (Dawn DSP-F, Wyatt Tech. Corp., Santa Barbara CA) con un láser de He-Ne ($\lambda=632.8$ nm) y una celda de flujo K-5, un detector de índice de refracción HP 1047A RI (Hewlett Packard, Valley Forge, PA). Para separar a la amilosa

de la amilopectina se utilizó una guarda columna Shodex OH pak KB-G y dos columnas analíticas KB-806 y KB-804 (Showa Denko K.K., Tokio, Japan). La temperatura del inyector y de las columnas fueron mantenidas a 55.0 °C usando un calentador de columna CH-460 y un controlador TC-50 (Eppendorf, Madison, WI). La temperatura del detector de índice de refracción fue de 30 °C. La fase móvil utilizada fue agua destilada, desionizada y filtrada a través de una membrana de 0.02 µm, a una velocidad de flujo de 0.5 ml/min. Los resultados obtenidos de las señales de los detectores MALLS y RI fueron analizados mediante el software ASTRA (version 4.7.07, Wyatt Technology, Santa Barbara. CA. USA).

RESULTADOS

Contenido de amilosa

El contenido de amilosa aparente de las muestras analizadas se presenta en el Cuadro 2. Los almidones provenientes de los granos cultivados en el Estado de México (17.4 % - 34.0 %) y Sinaloa (17.7- 27.0 %) mostraron un amplio intervalo en el porcentaje de amilosa aparente, sin embargo, se encontró menor intervalo en las variedades cultivadas en Puebla (19.6 – 24.35 %). Las muestras 101, 177, 111, 196, 444, 449, 453 y 455, caen en la clasificación de almidón normal en base a su contenido de amilosa que va de 20% - 35% de acuerdo a lo reportado por Tester et al., (2004), por lo que estos granos pondrían tener diversas aplicaciones en la industria de alimentos.

Estos resultados en el contenido de amilosa podrían deberse a la variedad de maíz y a las condiciones ambientales de la región de cultivo. La concentración de amilosa en los gránulos del almidón de maíz incrementa con la edad fisiológica del tejido en el cual es sintetizado el almidón (Boyer et al., 1976). También la temperatura de cultivo tiene influencia en los contenidos de amilosa (Inouchi et al., 2000). Lu et al. (1996) reportaron que cuando el maíz es cultivado a temperaturas elevadas (35 °C) disminuye el contenido de amilosa comparado con el cultivado a 25 °C.

Se calculó el contenido de amilosa en base a los perfiles de cromatografía de permeación en gel (CPG), se observaron valores mayores que los determinados por afinidad al yodo. Las principales diferencias pueden ser explicadas por variaciones en la estructura tanto de

al amilosa como de la amilopectina, así como a la presencia del material intermedio (α -glucanos con peso molecular intermedios al de la amilosa y amilopectina). En arroz y maíz altos en amilosa, se han detectado materiales atípicos, ya que se ha demostrado que el material intermedio constituye la misma proporción de amilosa en maíz (Asaoka et al., 1986; Inouchi et al., 1987, Fredriksson, 1998).

Características morfológicas de los gránulos de almidón de maíz azul

Microscopía de luz

En la figura 1A se pueden observar las imágenes obtenidas a través del estudio de microscopía de luz (se presenta una muestra de cada Estado). Los gránulos de todos los almidones presentan predominantemente formas poliédricas y unas pocas esféricas. Agama-Acevedo et al., 2005 encontraron en almidón de maíz azul y negro que las formas predominantes eran las esféricas atribuyéndolas al tipo de endospermo harinoso que presentan los maíces pigmentados, mientras que las formas irregulares encontradas en almidón de maíz blanco las atribuyen al endospermo vitreo en el cual los gránulos del almidón se encuentran compactados unos con otros produciendo estas formas. Por lo que posiblemente los maíces utilizados en este estudio podrían presentar los dos tipos de endospermo.

En general se encontraron diversos tamaños de gránulos en las muestras analizadas, tales tamaños van de 4 a 20 μm predominando los gránulos de mayor tamaño. Sin embargo es importante hacer notar que el método de aislamiento del almidón es un paso fundamental que determina las poblaciones del tamaño del gránulo, ya que si no se tiene el cuidado se pierde gran cantidad de gránulos pequeños.

Muchas de las propiedades de los almidones tienen que ver principalmente con el tamaño del gránulo por ejemplo, la composición química, susceptibilidad enzimática, cristalinidad gelatinización, propiedades de formación de pasta, hinchamiento y solubilidad (Lindeboom et al., 2004).

También se encontraron estructuras borrosas y con contornos deformes, las cuales pueden ser gránulos rotos, sin embargo en este estudio es difícil diferenciar entre los gránulos de

almidón y partículas no amiláceas, por esto se recurre a la microscopía de luz polarizada y electrónica de barrido que complementan la información generada por este estudio.

Microscopía de luz polarizada

Las microfotografías que fueron tomadas bajo luz normal también fueron tomadas bajo luz polarizada para analizar los mismos gránulos mediante los dos tipos de microscopía y asegurar su carácter amiláceo que se basan en las características semicristalinas que presentan los gránulos de almidón. Cuando los gránulos de almidón son observados bajo luz polarizada el arreglo radial formado por la amilosa y la amilopectina, originan un cristal que desvía la luz, produciendo un fenómeno óptico en forma cruz, conocida como cruz de malta o fenómeno de birrefringencia (Wurzberg, 1986) (figura 1B). En general, los gránulos de almidones analizados en este trabajo que presentan en el centro la cruz de malta se tratan de gránulos intactos, los cuales no sufrieron daño mecánico durante la molienda y ni con el uso de las soluciones utilizadas a la hora de purificar el almidón. Mientras que las estructuras que no presentan la cruz de malta que se observan como estructuras deformes y borrosas (indicadas con círculos en la figura 2), se tratan de gránulos rotos o dañado por los métodos de purificación del almidón, que ocasionaron la pérdida de orden molecular. Los gránulos de almidón dañado representa una mínima fracción con relación a los gránulos intactos, sin embargo esta aseveración es desde el punto de vista cualitativo.

Calorimetría de Barrido Diferencial (CBD)

Gelatinización

Las temperaturas de gelatinización (Cuadro 3) fueron mayores para los almidones de los maíces provenientes de Sinaloa, seguidos de los del Estado de México y finalmente Puebla. Las diferencias en las temperaturas de transición durante la gelatinización de los almidones podrían atribuirse a las diferencias en el grado de cristalinidad, ya que los parámetros de CBD son influenciados de la arquitectura del cristal (Noda et al., 1996). Las altas temperaturas de transición son el resultado de una mayor rigidez en la estructura granular y la presencia de lípidos (Singh y Singh, 2004).

Las muestras 437, 444, 449 y 455 se caracterizaron por presentar bajas T_0 y un mayor intervalo de gelatinización (12 - 13 °C) que el resto de las muestras (9 - 10 °C), estos resultados se asocian con la presencia de gránulos con formas irregulares y una amplia distribución de tamaño de partícula (White, 1989). En general, las temperaturas de gelatinización están dentro de las reportadas para almidón de maíz ($T_0 = 62$ °C, $T_p = 66.7$ °C y $T_f = 81.3$ °C) (Singh et al., 2003).

Las entalpías de gelatinización (ΔH) estuvieron entre 9-12 J/g. Los almidones que presentan mayores ΔH podrían presentar amilopectinas con cristales estructurados por dobles hélices de mayor longitud que las muestras con menores entalpías; sin embargo, también es importante considerar el número de cadenas por cluster, ya que en almidones altos en amilosa se encontraron menores temperaturas y entalpías de gelatinización que en almidones de maíz ceroso, por este motivo se sugiere que la T_p es una medida de la calidad del cristal (longitud de las dobles hélices) y la entalpía de la cantidad y calidad del cristal. Las ΔH de gelatinización encontradas en este estudio son menores a lo reportado en almidón de maíz normal (14 - 17 J/g) (Singh et al., 2003; Srichuwong et al., 2005). En almidón de maíz alto en amilosa se reportó una ΔH de 11 J/g similar a las encontradas en este estudio. Por este motivo se analizó almidón de maíz blanco (AMB) encontrándose valores de ΔH de 11.10 J/g y valores de temperatura de gelatinización T_0 , T_p y T_f (68 °C, 73 °C, y 79 °C), respectivamente).

Retrogradación

Los valores de temperatura y entalpía de retrogradación de los almidones (Cuadro 4) fueron menores a los encontrados en las propiedades de gelatinización, debido al alineamiento incorrecto de las cadenas del almidón durante la reasociación, la cual causa una estructura cristalina con menor orden y menor estabilidad que las que existen en el almidón nativo (Srichuwong et al., 2005). Las temperaturas de retrogradación disminuyen entre 10-26 °C y las entalpías en un 69-80 % con respecto a las de gelatinización (Yuan et al., 1993). Anteriormente se pensaba que la retrogradación era favorecida solamente por los altos contenidos de amilosa (Fan y Mark, 1998), requiriendo la molécula de 40 a 70 unidades de glucosas para reasociarse (Jane y Robit, 1984), sin

embargo, la amilopectina también tiene efectos, y su reasociación requiere de longitudes de cadenas mas cortas (12- 16 unidades de glucosa) (Ring et al., 1987). Otros autores reportan que la amilopectina y el material intermedio tienen un papel importante en la durante la retrogradación. El material intermedio podría formar largas dobles hélice al reasociarse con las cadenas de la amilopectina (Yuan et al., 1993).

Los altos porcentajes de retrogradación son indicativo de la rapidez que tienen las moléculas para reasociarse, siendo las moléculas con mayor longitud de cadena las que se reasocia mas rápidamente en comparación con las cadenas cortas. Shi y Seib (1992) reportaron que la retrogradación en almidones cerosos fue directamente proporcional a cadenas con grados de polimerización de 14-24 e inversamente proporcional con GP de 6-9. Los porcentajes de retrogradación fueron diferentes entre las muestras, destacando los valores mas altos para 107 y 111, mientras que el mas bajo la muestra 455. Los resultados obtenidos por el CBD reflejan las diferencias en la estructura interna de la amilosa y amilopectina así como la variación de la naturaleza cristalina de cada almidón. En general, las muestras tuvieron porcentajes de retrogradación menores al 50 % , lo cual ocasiona que los productos que se elaboren con estos maíces se conserven suaves por mas tiempo, lo cual coincide con los bajos contenidos de amilosa determinados, asi como la experiencia tradicional que se menciona que las tortillas de maíz pigmentado se conserva suave por más tiempo.

Propiedades de formación de pastas

En los alimentos preparados con almidones, la formación de las pastas está relacionada con los compuestos que están presentes en el almidón, así como aquellos que se encuentran en la solución, debido principalmente a las interacciones que se llevan a cabo dentro del gránulo (Doublier et al., 1987; Hoover y Vasanthan; 1992; Wang y White, 1994). Cuando las suspensiones de almidón son calentadas a una velocidad constante, se presentan viscosidades que incrementan gradualmente, hasta alcanzar un valor máximo, lo cual refleja la habilidad de los gránulos de almidón de hincharse libremente antes de que ocurra un rompimiento de su estructura (Singh et al., 2003). Cuando el almidón es calentado en exceso de agua, los gránulos se hinchan y algunos componentes como la amilosa y algunas cadenas pequeñas de amilopectina son dispersadas hacia la fase

continua (Thebaudin et al., 1998). Las propiedades de dispersión de las pastas son afectadas por la longitud de cadenas de la amilopectina más que por el peso molecular. Durante la etapa isotérmica a 95°C se observa una disminución de la viscosidad de las pastas de almidón, en todas las muestras (Figura 2), producto del rompimiento de los gránulos hinchados, al comenzar el enfriamiento, la viscosidad se incrementa, debido a la reorganización de las cadenas resultando en la formación de estructuras más rígidas entre la amilosa y la amilopectina, (Mali et al., 2003; Gimeno et al., 2004). La temperatura de formación de pastas fue diferente entre las variedades de maíz azul (Cuadro 5), se utilizó una muestra de maíz blanco como referencia, y se encontró que de las muestras 444 y 455 tuvieron valores superiores a los del maíz blanco, esto nos dice que el hinchamiento del gránulo de almidón fue mayor, posiblemente por la longitud de las cadenas de amilopectina, mientras que la muestra 177 tuvo un comportamiento similar al del maíz blanco, y las muestras 101 111 y 196 fueron ligeramente inferiores al maíz normal, las diferencias en la formación de pastas de las distintas variedades de maíz azul sugieren que el almidón contenido en ellos es diferente en cuanto a la distribución de sus componentes y la forma en que estos están ordenados hacia el interior del gránulo, lo cual, sugiere distintas conformaciones de longitud de cadena, y grado de ramificación, las cuales afectan la consistencia de los productos elaborados en base a estos maíces.

Análisis estructural del almidón

Difracción de rayos x

Los patrones de difracción de los almidones de maíz azul fueron similares (figura 3, solo se presenta el de la muestra 101) y presentaron un patrón de difracción del tipo A característico de los almidones de cereales. Los porcentajes de cristalinidad estuvieron entre 17.7 y 19 %. El nivel de cristalinidad puede ser importante cuando los productos a base de almidón o con alto contenido de almidón son almacenados, ya que durante el almacenamiento se presenta el fenómeno de retrogradación del almidón, que modifica las propiedades de textura así como nutricionales de dichos productos.

Peso molecular (PM) y radio de giro (R_z)

La separación de los componentes del almidón se llevo a cabo con las muestras disueltas y pretratadas con DMSO, posteriormente se inyectó en la columna de permeación en gel,

se obtuvieron fracciones (Figura 3), a las cuales se les determino el valor azul y carbohidratos totales para identificar y seleccionar las fracciones donde se encontraba la amilosa y la amilopectina.

En el cuadro 6 se muestra el peso molecular promedio (Mw) y el radio de giro (Rz) de los almidones de distintas variedades de maíz azul. El valor de estos parámetros se encuentra dentro de los valores previamente reportados para maíces normales y maíces cerosos (Yoo y Jane, 2002b). En estudios previos realizados en amilopectina de maíz, se encontró que el Mw fue de 2.2×10^7 y el radio de giro entre 229 nm (Bello-Pérez et al., 1998), y en maíz y maíz ceroso se encontraron valores de 4.9×10^8 y 8.3×10^8 g/mol y valores de radio de giro de 312 ± 23 y 372 ± 11 nm, respectivamente (Yoo y Jane, 2002).

IMPACTO

Las diferencias estructurales del almidón de maíz azul se vieron reflejadas en cada una de las propiedades evaluadas, las cuales serán de gran utilidad para direccionar su uso en un producto determinado.

REFERENCIAS

- Agama, A.E. 2006. Caracterización morfológica, fisicoquímica y molecular de almidón de maíces pigmentados y estudios bioquímicos de las enzimas involucradas en su biosíntesis. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.
- Agama-Acevedo, E., Ottenhof, M.A., Farat, I., Paredes-López, O., Ortiz-Cereceres, J. And Bello-Pérez, L.A. 2005. Aislamiento y caracterización de maíces pigmentados. *Agrociencia*, 39: 419-429.
- Asaoka M., Okuno K., Sugimoto Y., Yano M., T. Omura and H. Fuwa, 1986. Characterization of endosperm starch from high-amylose mutants of rice (*Oryza saliva* L.). *Storch/Stärke* 38, pp. 114–117
- Bello-Pérez, L.A., Paredes-López, O., Roger, P. and Colonna, P. 1998. Laser light scattering of high amylose and high amylopectin materials, stability in water after microwave dispersion. *Carbohydrate Polymers*, 37:383-394.
- Boyer, C. D. Shannon J.C. Garwood, D. L. and Creech, R. G. 1976, Changes in starch granule size and amylose percentage during kernel development in several *Zea mays* L. genotypes, *Cereal Chemistry*, 53:327-337.
- Dunois, M., Giles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1997. Valorimetric method for determination of sugars and related substances. *Journal of Analytical Chemistry*. 28: 350-356.

- Doublier, 1987. J.L. Doublier, A rheological comparison of wheat, maize, faba bean, and smooth pea starches. *J. Cereal Sci.* 5 (1987), pp. 247–262
- Fan, J. and Mark, B.P. 1998. Retrogradation kinetic of rice flasks as influenced by cultivar. *Cereal Chemistry*. 75: 153-155.
- Fredriksson H., Silverio J., Andemon R., Eliasson A.-C. y Amanta P., 1997 The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches *Carbohydrate Polymers*. 35, 119-134
- Gimeno E., Moraru C.I and Kokini J.L., Effect of xanthan gum and CMC on the structure and texture of corn flour pellets expanded by microwave heating, 2004. *Cereal Chemistry* 81, 100–107
- Hernández-Uribe, J.P., Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J.J., Tovar, J. and Bello-Pérez, L.A. 2007. Chemical composition and in vitro starch digestibility of pigmented corn tortilla. *Journal Science and Food Agricultural*, 87: 2482-2487.
- Hoover R., Vasantham T., 1992. Effect of defatting on starch structure and physicochemical properties. *Food Chemistry*, v. 45, n. 5, p. 337-347.
- Inouchi, D.V. Glover and H. Fuwa. 1987. Chain length distribution of amylopectins of several single mutants and the normal counterpart, and sugary-1 phytoglycogen in maize (*Zea mays* L.). *Storch/Stärke* 39 (1987), pp. 259–266.
- Inouchi, N., Ando, H., Asaoka, M., Okuno, K., and Fuwa, H. 2000. The effect of environmental temperature on distribution of unit chains of rice amylopectin. *Starch*, 52: 8-12.
- Jane, J., Chen, Y. Y., Lee, L. F., McPherson, A. E., Wong, K. S., & Radosavljevic, M. 1999. Effects of amylopectin branch chain-length distributions and amylose contents on the gelatinization and pasting properties of starches. *Cereal Chemistry*, 76, 629–637.
- Jane, J.L. and Robyt, J.F. 1984. Structure studies of amylose V complex and retrogradation amylose by action of alpha amylase, a new method for preparing amyloextrins. *Carbohydrate research*. 132: 105-110.
- Juliano, B. O. 1971. A simplified assay for milled rice amylose. *Cereal science today*. 16, 334-340.
- Kasemsuwan T., Jane J., Schnable P., Stinard P. and Robertson D., 1995. Characterization of the dominant mutant amylase-extender (Ael-5180) maize starch, *Cereal Chemistry* 72 (1995), pp. 457–464
- Kuakpetoon D., Wang Y., 2007. Internal structure and physicochemical properties of corn starches as revealed by chemical surface gelatinization. *Carbohydrate Research* 342; 2253- 2263
- Lindeboom, N., Chang, P.R. and Tyler, R.T. 2004. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. *Starch/Stärke*, 56: 89-99.
- Lu, T.J., Jane, J.L., Keeling, P.L. and Syngletary, G.W. 1996. Maize starch fine structure affected by ear developmental temperature. *Carbohydrate research*, 282: 157-170.
- Mali and Grossmann, 2003 S. Mali and M.V.E. Grossmann, Effects of yam starch films on storability and quality of fresh strawberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp. 7005–7011
- Noda, T., Takanata, Y., Sato, T.T., Ikoma, H. And Mochinda, H. 1996. Physicochemical properties of starches from purple and orange fleshed sweet potato roots a two levels of fertilizer. *Starch*. 48: 395-399.

- Ring, S.G., Collona, P., Panson, K.L., Kalicheversky, M.T., Miles, M.J., Morrison, V.J. and Oxford, B. D. 1987. The gelatinization and crystallization of amylopectin. *Carbohydrate research*. 162: 277-293.
- Salinas-Moreno, Y. Martínez-Bustos, F. Soto-Hernández, M. Ortega-Paczka, R. y Arellano-Vazquez, J.L. 2003. Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia*, 617-628.
- Sánchez F. C., Salinas M. Y., Vázquez C. M. G., Velázquez C. G.A., Aguilar G. N. 2007 Efecto de las prolaminas del grano de maíz (*Zea mays* L.) sobre la textura de la tortilla. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. V.57
- Srichuwong, S., Sunarti, T.C., Mishima, T, Isono, N. and Hisamatsu, M. 2005. Starches from different botanical sources I: contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. *Carbohydrate polymers*. 60: 529-538.
- Shi, Y.-C. Shi, P.A. Seib and J.E. Bernardin. 1994. Effects of temperature during grain-filling on starches from six wheat cultivars. *Cereal Chem*. 71 (1994), pp. 369–383
- Singh J., Singh N., Sharma T.R. and Saxena S.R., 2003. Physicochemical, rheological and cookie making properties of corn and potato flours, *Food Chemistry* 83, pp. 387–393
- Song, Y. and Jane, J. 2000. Characterization of barley starches of waxy normal and high amylose varieties. *Carbohydrate Polymers*, 41:365-377.
- Tester, R. Karkalas, J. and Qi, X. 2004. Starch-composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39: 151-165.
- Thebaudin J. -Y., Lefebvre A. -C., Doublier J. -L., 1998. Rheology of Starch Pastes from Starches of Different Origins: Applications to Starch-based Sauces. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 31, Pages 354-360.
- Utrilla-Coello, R. G. Caracterización fisicoquímica, morfológica y bioquímica de los gránulos de almidón de maíz azul. Tesis de Maestría. CeProBi-IPN. México
- White, P.J., Abbas, I.R. and Johnson, L.D. 1989. Freezer-thaw stability and refrigerated-storage retrogradation of starches. *Starch*. 41: 176-180.
- Wurzburg, O.B. 1986. Introduction. In: *Modified starches: Properties and uses*. Wurzburg, O.B. (Ed.), Boca Ratón, Florida USA. pp. 3-16.
- Yoo, S.-H.; Jane, J.-L. 2002. Molecular weights and gyration radii of amylopectins determined by high-performance size-exclusion chromatography equipped with multi-angle laser-light scattering and refractive index detectors. *Carbohydrate. Polymers*. 2002, 49, 307–314.
- Yuan R.C., Thompson D.B. and Boyer C.D., 1993. Freeze-thaw stability of three waxy maize starch pastes measured by centrifugation and calorimetry *Cereal Chemistry*. 70, pp. 81–89

Cuadro 1. Raza y sitios de colecta de los maíces

Identificación del maíz	Estado	Raza	Sitio de colecta	Municipio
101	Sinaloa	Tabloncillo	El lodazal	San Ignacio
103	Sinaloa	Tabloncillo	Higuera de Padilla	Cosalá
104	Sinaloa	Tabloncillo	Colompo	San Ignacio
106	Sinaloa	Tabloncillo	San Pedro Ixcatlán	Ruiz
107	Sinaloa	Tabloncillo	Mojocuautla	Morada
111	Sinaloa	Tabloncillo	El Chaco	San Ignacio
177	Edo. de México	Chalqueña/Conica	Amecameca	
191	Edo. de México	Chalqueña/Conica	Barrio de San Jacinto	Jocotitlan
196	Edo. de México	Chalqueña/Conica	Santa Ma. Caliacan	Coyotepec
206	Edo. de México	Chalqueña/Conica	Ahuatenco	Tlanguistenco
437	Puebla	Chalqueña/Conica	*	*
444	Puebla	Chalqueña/Conica	*	*
449	Puebla	Chalqueña/Conica	*	*
453	Puebla	Chalqueña/Conica	*	*
455	Puebla	Chalqueña/Conica	*	*

* Dato desconocido

Cuadro 2. Amilosa aparente y amilosa en base a los perfiles de cromatografía en permeación en gel (GPC).

Muestra	Amilosa (%)	Amilosa por GPC (%)
101	27 ± 0.2	40.5
103	18.3 ± 0.1	39.2
104	17.7 ± 0.6	37.9
106	19.8 ± 0.4	40.2
107	18.8 ± 0.5	37.9
111	23.6 ± 0.2	39.5
177	33.9 ± 0.6	38.6
191	18.4 ± 0.07	36.7
196	26.7 ± 0.8	35.9
206	17.4 ± 0.03	39.4
437	19.6 ± 0.08	36.9
444	24.35 ± 0.7	37.6
449	20.9 ± 0.4	33.4
453	20.3 ± 0.2	35.7
455	23.34 ± 0.7	35.6

Promedio de tres repeticiones ± ES, base seca

Cuadro 3. Valores de gelatinización de diferentes variedades de maíz azul

Muestra	To_G (°C)	Tp_G (°C)	Tf_G(°C)	ΔH_G (J/g)
AMB	68.5 ± 0.5	73.2 ± 0.7	77.9 ± 1.2	11.1 ± 1.1
101	68.9 ± 0	73.2 ± 0.1	77.6 ± 0.3	10.3 ± 2.1
103	67.1 ± 0.3	72.6 ± 0.3	77.4 ± 0.2	11.4 ± 0.5
104	67.3 ± 0.4	72.7 ± 0.3	77.7 ± 0.5	12.1 ± 0
106	68 ± 0.1	73.3 ± 0	78.2 ± 0	11.8 ± 0.3
107	68.7 ± 0	73.6 ± 0.1	78.2 ± 0	11.3 ± 0
111	68.6 ± 0.4	73.7 ± 0.3	78.9 ± 0.5	12.1 ± 0.1
117	63 ± 0.1	68.1 ± 0.1	73.4 ± 0.3	9.5 ± 0.5
191	63.1 ± 0.2	67.5 ± 0.4	73.2 ± 0.6	10.9 ± 0.2
196	63.3 ± 0.1	67.7 ± 0.1	72.2 ± 0.2	10.3 ± 0.2
206	62.3 ± 1.1	67.2 ± 0	72.9 ± 0.2	12.4 ± 0.1
437	61.9 ± 0.7	67.6 ± 0.8	74.1 ± 1.4	10.4 ± 0.6
444	61.5 ± 0	67 ± 0	73.7 ± 0.4	11.5 ± 0
449	61.7 ± 0.1	66.9 ± 0.1	72.8 ± 0	11.5 ± 0.6
453	60.5 ± 0	66.1 ± 0.1	73.8 ± 0.3	11.9 ± 0.4
455	62.1 ± 0.2	67.5 ± 0.2	72.6 ± 0.3	10.6 ± 0.7

AMB = Almidón de maíz blanco

Promedio de tres repeticiones ± ES.

To_G: Temperatura inicial de gelatinización

Tp_G: Temperatura máxima de gelatinización

Tf_G: Temperatura final de gelatinización

ΔH_G: Entalpía de gelatinización.

Cuadro 4. Valores de retrogradación de diferentes variedades de maíz azul

Muestra	T_{oG} (°C)	T_{pG} (°C)	T_{fG} (°C)	ΔH_G (J/g)	R (%)
AMB	38.2 ± 0.7	48.3 ± 0.9	58.4 ± 00	5.4 ± 0.8	68.0
101	44.0 ± 1.3	54.2 ± 0.5	63.4 ± 00	5.6 ± 1.6	54.1
103	43.8 ± 0.0	53.6 ± 0	63.6 ± 0.3	5.7 ± 0.1	50.4
104	43.9 ± 0.4	53.8 ± 0.2	63.4 ± 00	5.7 ± 0.5	47.1
106	45.0 ± 0	55.2 ± 0.1	63.4 ± 00	6.6 ± 0.3	56.4
107	44.1 ± 0.3	54.2 ± 0.6	63.5 ± 00	7.0 ± 0.3	61.7
111	41.0 ± 1.0	52.3 ± 0.2	63.6 ± 0.2	7.0 ± 1.5	60.1
177	41.4 ± 0.7	51.6 ± 0.5	60.8 ± 0.3	4.9 ± 0.3	51.2
191	42.1 ± 0.3	52.0 ± 00	60.8 ± 00	5.0 ± 0.4	45.8
196	44.4 ± 1.2	51.9 ± 0.1	59.9 ± 0.8	4.2 ± 00	41.3
206	43.0 ± 00	52.3 ± 0.6	61.4 ± 0.1	5.5 ± 0.1	44.9
437	46.5 ± 0.6	55.1 ± 0.8	62.7 ± 1.9	5.3 ± 00	51.3
444	44.1 ± 0.1	53.6 ± 0.1	61.9 ± 0.3	5.5 ± 0.4	48.0
449	44.1 ± 0.5	53.7 ± 0.0	61.4 ± 00	5.2 ± 0.3	45.5
453	45.1 ± 0.4	54.6 ± 0.1	62.8 ± 0.2	5.4 ± 00	45.9
455	47.1 ± 0.6	54.2 ± 0.4	60.6 ± 0.1	3.9 ± 0.1	36.9

AMB = Almidón de maíz blanco

Promedio de tres repeticiones ± ES.

T_{oR}: Temperatura inicial de retrogradación

T_{pR}: Temperatura máxima de retrogradación

T_{fR}: Temperatura final de retrogradación

ΔH_R: Entalpía de retrogradación.

R (%) = (ΔH_R / ΔH_G) x 100

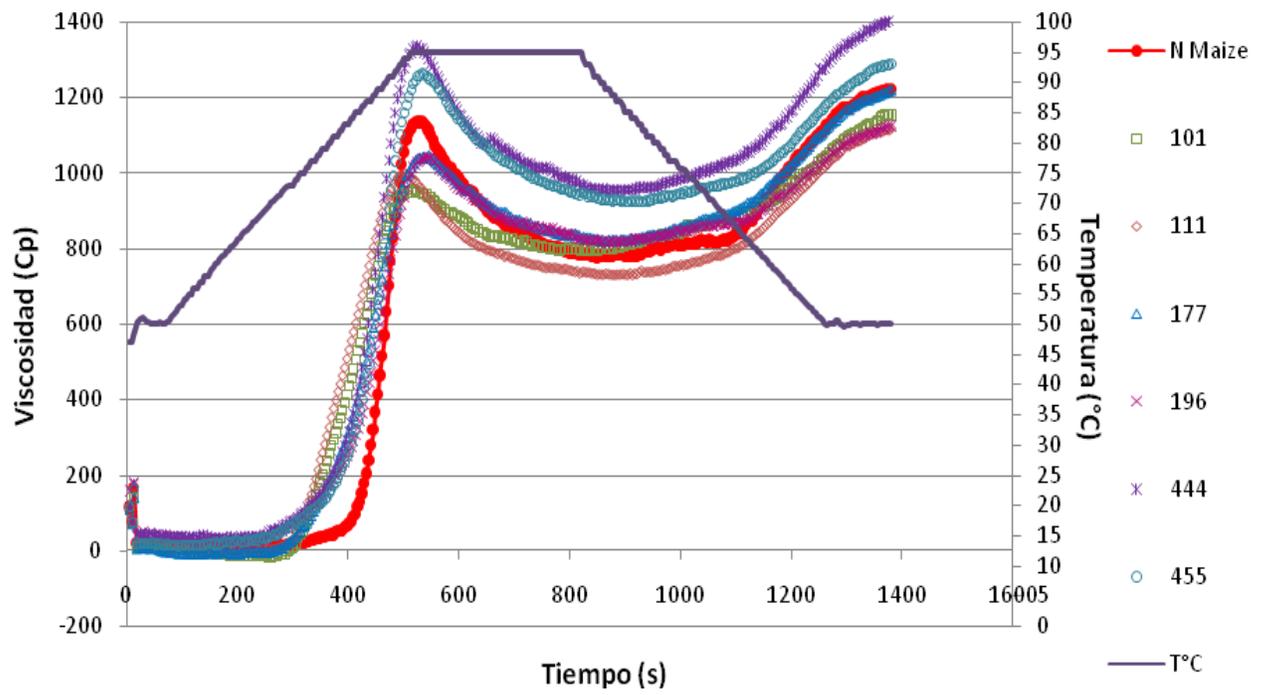
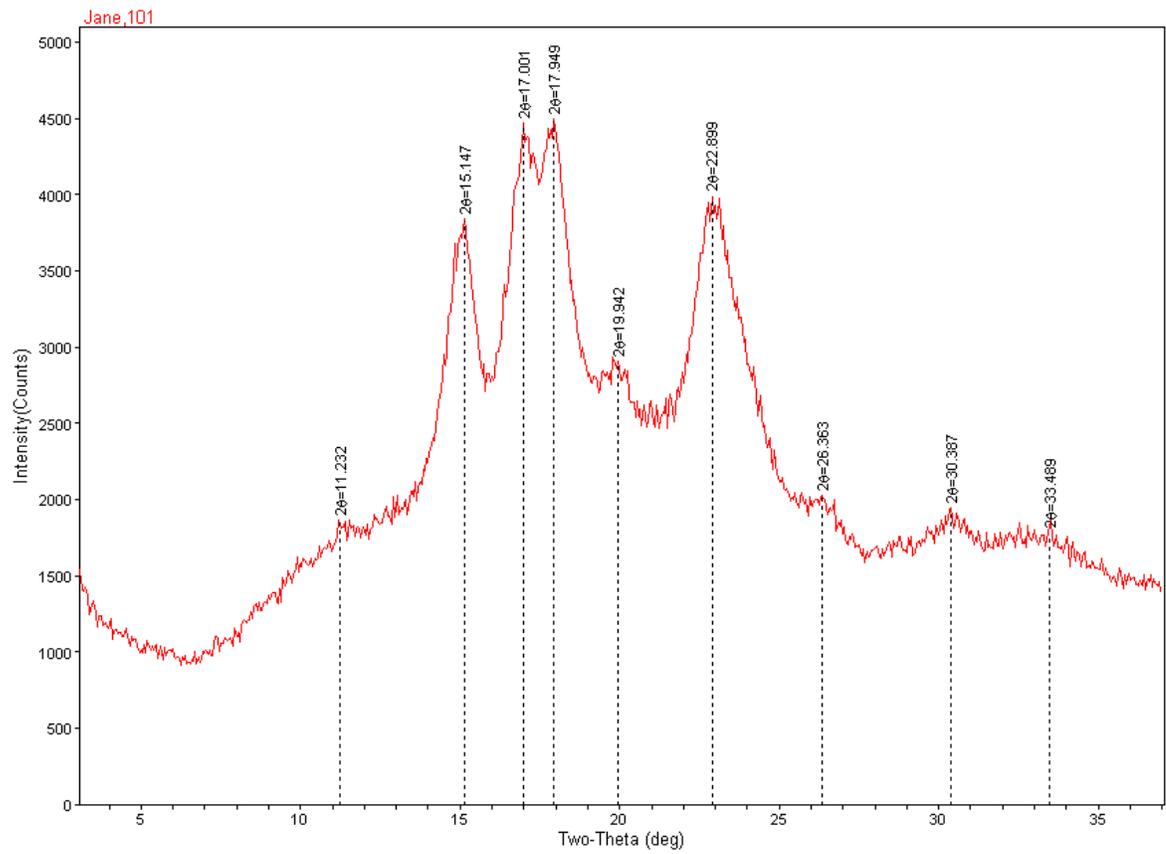


Figura 2. Perfiles de viscosidad de las pastas de almidón de maíz azul

Cuadro 5. Valores de viscosidad de diferentes variedades de maíz azul

Muestra	Viscosidad máxima (RVU)	Tiempo de viscosidad máxima (Min)	Temperatura de pasting (°C)	Viscosidad Final (RVU)
AMB	94.9 ± 0.2	8.7 ± 0	85.1 ± 0	101.7 ± 0.8
101	84.2 ± 1.2	8.3 ± 0.1	74.7 ± 0.4	100.3 ± 4
103	83.2 ± 0.6	8.5 ± 0	81.1 ± 1.6	105.9 ± 1.8
104	87.8 ± 1.7	8.7 ± 0	76.1 ± 0.8	100.8 ± 2.2
106	79.3 ± 0.9	8.5 ± 0	75.3 ± 0.3	96.8 ± 1.3
107	85.9 ± 0.6	8.6 ± 0.1	75.8 ± 0	102.7 ± 0.5
111	83.2 ± 0.2	8.3 ± 0	75.9 ± 0	93 ± 1.6
177	87.1 ± 4.4	8.9 ± 0	81.4 ± 0.2	101.5 ± 5.3
191	97.5 ± 1.7	8.7 ± 0	79.9 ± 1.6	106.3 ± 0.8
196	87.2 ± 2.7	8.9 ± 0.1	84.1 ± 0.4	93.7 ± 1.4
206	101.3 ± 1.9	8.8 ± 0.9	82.3 ± 1.6	105.6 ± 0.9
437	110.2 ± 2.8	8.7 ± 0	79.1 ± 1.6	112.4 ± 4.7
444	111.2 ± 4.7	8.6 ± 0	77.5 ± 0.2	111 ± 0.5
449	101.7 ± 1.1	8.7 ± 0	82.5 ± 0.2	107.5 ± 0.9
453	104.2 ± 0.3	8.6 ± 0	80.9 ± 0.8	107.3 ± 0.3
455	105.2 ± 0.3	8.8 ± 0.04	83.1 ± 1.6	107.2 ± 2.5

AMB = Almidón de maíz blanco
 Media de dos Repeticiones ± E.S
 Almidón en base seca



Iowa State University

Figura 3. Difraccion de rayos x del almidón de maíz

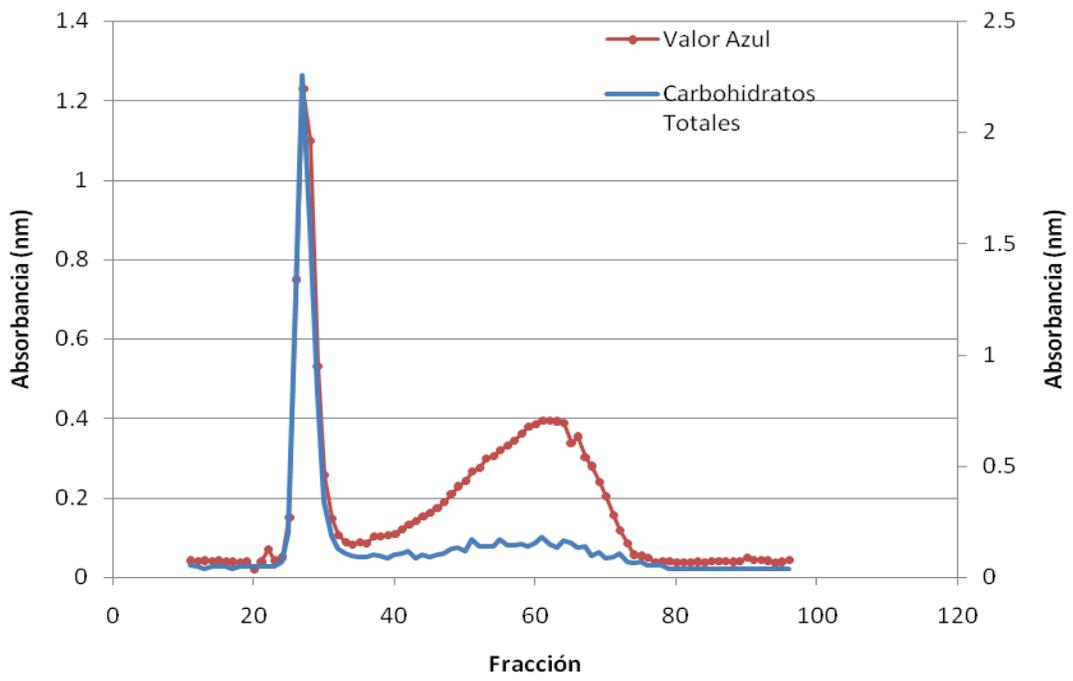


Figura 4. Perfil de cromatografía de permeación en gel.

Cuadro 6. Valores de peso molecular y radio de giro de diferentes variedades de maíz azul.

Sample	Mw x 10 ⁸	Rz (nm)
AMB	4.9 ± 0.8	312.0 ± 23
Maíz Ceroso	8.3 ± 0.2	372.0 ± 11
101	3.96 ± 0.4	236.9 ± 4.6
103	3.52 ± 0.9	386.0 ± 7
104	2.49 ± 0.3	306.0 ± 5.6
106	3.21 ± 0.4	294.0 ± 5.5
107	3.22 ± 0.6	342.9 ± 6.8
111	2.89 ± 0.6	276.0 ± 3.3
177	4.33 ± 0.8	349.1 ± 6.4
191	3.25 ± 0.9	299.0 ± 5.3
196	3.45 ± 0.3	321.0 ± 4.3
206	4.7 ± 1	376.2 ± 8.3
437	6.8 ± 1.7	426.3 ± 7.5
444	4.5 ± 0.8	373.9 ± 6.5
449	4.2 ± 0.8	361.6 ± 6.8
453	6.1 ± 1.3	408.2 ± 6.1
455	3.9 ± 0.7	342.5 ± 6.7