



EFFECTO DE VARIOS CICLOS DE ENFRIAMIENTO/CALENTAMIENTO EN EL CONTENIDO DE ALMIDÓN RESISTENTE TIPO III EN ALMIDONES DE *CANNA EDULIS* KER (ACHIRA) Y *SOLANUM TUBEROSUM* (PAPA)

Karla Loor; Stalin Santacruz*

Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador, P.O. Box 17-12-841

Keywords: Almidón resistente, almidón retrogradado, *Canna edulis*, *Solanum tuberosum*, tratamiento térmico

ABSTRACT

Resistant starch has attracted interest of the food industry, since it has been proposed as an element to increase the fiber content in a food. It has been shown in several studies that the resistant starch provides benefits similar to soluble fiber, such as the prevention of diseases in the gastrointestinal tract, obesity, arteriosclerosis, without altering the organoleptic characteristics of the product. In this study we examined the effect of several cycles of cooling / heating on the content type III resistant starch (retrograded starch) in canna starches (*Canna edulis* Ker) and potato (*Solanum tuberosum*). Starches showed gelatinized by cooking at boiling (91 ° C) followed by an autoclave process (121 ° C). Starch gels were stored under cycles of heating / cooling, resulting in the formation of different amounts of retrograded starch. Each cycle consisted of 24 hours storage at 4 ° C followed by 24 h at 37 ° C. Starch samples showed an increase in resistant starch type III along three cycles of cooling / heating. However the difference was not statistically significant cycles. Comparing the two starches of *C. edulis* had the highest resistant starch type III after three cycles (0.23 to 0.34%), while that of *S. tuberosum* from 0.21 to 0.23%. These values were directly related to the amylose content were 26% and 22.9% for *C. edulis* and *S. tuberosum*, respectively.

*Corresponding author: stalin.santacruz@gmail.com

RESUMEN

El almidón resistente ha atraído interés por parte de la industria alimenticia, ya que ha sido propuesto como un elemento para aumentar el contenido de fibra en un alimento. Se ha demostrado en diferentes estudios que el almidón resistente otorga beneficios similares a la fibra soluble, como ser la prevención de enfermedades a nivel gastrointestinal, obesidad, arteriosclerosis, sin alterar las características organolépticas del producto. En este estudio se analizó el efecto de varios ciclos de enfriamiento/calentamiento sobre el contenido de almidón resistente tipo III (almidón retrogradado) en almidones de achira (*Canna edulis* Ker) y papa (*Solanum Tuberosum*). Los almidones extraídos fueron gelatinizados mediante una cocción a ebullición (91°C) seguida de un proceso de en autoclave (121°C). Los geles de almidón se almacenaron bajo ciclos de enfriamiento/calentamiento, resultando en la formación de diferentes cantidades de almidón retrogradado. Cada ciclo consistió de 24 h de almacenamiento a 4 °C seguidas de 24 h a 37 °C. Las muestras de almidón presentaron un incremento en el contenido de almidón resistente tipo III a lo largo de tres ciclos de enfriamiento/calentamiento. Sin embargo la diferencia entre ciclos no fue estadísticamente significativa. Comparando los dos almidones, el de *C. edulis* presentó el mayor contenido de almidón resistente tipo III luego de tres ciclos (0,23 a 0,34 %), siendo el de *S. tuberosum* de 0,21 a 0,23 %. Estos valores estuvieron directamente relacionados con los contenidos de amilosa que fueron de 26 % y 22,9 % para *C. edulis* y *S. tuberosum*, respectivamente.

INTRODUCCION

En la actualidad los consumidores prestan especial atención a los beneficios fisiológicos que los alimentos ofrecen. Recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud y de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación indican un elevado consumo de alimentos de bajo índice glicémico, tal es el caso de los alimentos que son ricos en fibra dietética. Es por ello que dentro de las últimas tendencias en alimentos



funcionales, se observa la adición de fibra dietética debido a los beneficios que ésta presenta para los consumidores. Se conoce como fibra dietética al material de origen vegetal resistente a la acción hidrolítica de las enzimas endógenas del tracto digestivo en los mamíferos. Dentro de la fibra está considerada la fracción del almidón que no es digerida en el intestino delgado. Esta porción no digerible es conocida como almidón resistente, la cual presenta funciones fisiológicas similares a los de la fibra dietética [1]. Estas afirmaciones apuntan al hecho de que el almidón resistente podría actuar como un sustituto de la fibra. El almidón es un polisacárido compuesto por monómeros de glucosa unidos por enlaces α -D-1,4 y α -D-1,6. El almidón consiste de dos componentes estructurales: la amilosa y la amilopectina. La amilosa es un polímero lineal de glucosa, unidos por enlaces α -D-1,4 y constituye entre el 15 y 20 % del almidón presente en un alimento. Por otro lado, la amilopectina es el componente principal del almidón y consiste de monómeros de glucosa unidos por enlaces α -D-1,4 y α -D-1,6, lo cual le da una forma irregular ramificada [2]. De acuerdo al mecanismo que evita la digestión enzimática del almidón, éste puede clasificarse en cuatro tipos: a) almidón resistente tipo I, aquel que es físicamente inaccesible debido a que se encuentra encerrado en una matriz celular; b) almidón resistente tipo II, almidón granular nativo tal como el de *S. tuberosum* o plátano; c) almidón resistente tipo III, almidón cristalino o retrogradado, que puede formarse durante el procesamiento de los alimentos; d) almidón resistente tipo IV, almidón químicamente modificado. Previos estudios señalan que tratamientos de enfriamiento/calentamiento conducen a la formación de almidón resistente tipo III, almidón retrogradado [3]. Por lo tanto es posible reducir el índice glicémico de alimentos mediante la presencia de almidón resistente manipulando diferentes materias primas y/o técnicas de procesamiento. De las diversas fuentes disponibles para la extracción de almidón se tienen los rizomas de *C. edulis*. *C. edulis* es un vegetal que se encuentra propagado desde México hasta Argentina, aunque su consumo es importante solamente en Colombia, Ecuador y Perú [4] [5]. Los gránulos de almidón de *C. edulis* son de gran tamaño y por ello sedimentan rápidamente cuando se encuentran en suspensión acuosa. Esto hace que el almidón pueda ser aislado fácilmente con equipos sencillos, y por esta razón se han establecido pequeñas industrias de extracción de almidón en algunos sitios de la región andina. El almidón normalmente se usa en la industria alimenticia como por ejemplo en la elaboración de bizcochos en Colombia, productos de pastelería en Ecuador y fideos en Vietnam [4]. En el presente estudio se investigan dos cultivos nativos de la región andina del Ecuador, *C. edulis* y *S. tuberosum*, como fuentes potenciales de almidón resistente. Se estudia el efecto de ciclos repetidos de enfriamiento/calentamiento sobre la formación de almidón resistente tipo III.

EXPERIMENTAL

Muestras de papa (*Solanum tuberosum*, variedad chola) y achira (*Canna edulis* Ker) fueron adquiridas en el mercado local en Quito y en Patate, respectivamente. Los reactivos utilizados para los diferentes análisis fueron de grado analítico.

Extracción del almidón

Para esta investigación se utilizaron dos tipos de fuentes de almidón de la sierra ecuatoriana como son *S. tuberosum* y *C. edulis*. El primer paso para obtener almidón de los tubérculos fue desintegrarlos en un cortador (Tecmaq CM-21, España) por 3 minutos a velocidad media para liberar los gránulos de almidón. El material obtenido luego del proceso de desintegración fue filtrado en piezas de tela y lavado con agua repetidamente. La fibra restante del proceso de lavado fue eliminada mientras que el almidón fue secado por un día a temperatura ambiente y posteriormente guardado en fundas de plástico selladas para posteriores análisis.

Gelatinización del almidón

Se prepararon suspensiones de almidón al 5% que fueron luego transferidas a tubos de cristal de tapa rosca. Los geles preparados se expusieron a baños de agua a temperatura de ebullición (91°C) entre 3 y 5 minutos, con agitación constante. Las muestras gelatinizadas previamente fueron tratadas en un autoclave (Proingal ACLA, Ecuador) a una temperatura de 121°C por 30 minutos para alcanzar una mayor solubilización del almidón [6].

Ciclos de enfriamiento/ calentamiento

Una vez tratadas en autoclave, las muestras fueron sometidas a ciclos de enfriamiento/calentamiento de acuerdo a Silverio [3]. Las muestras tratadas térmicamente fueron luego liofilizadas para ser analizadas posteriormente. Cada



ciclo de enfriamiento/calentamiento consistió en un almacenamiento a una temperatura de 3 °C por 24 horas seguido de 24 horas a 37 °C. La muestra correspondiente al tiempo cero, luego del proceso en autoclave, fue congelada y liofilizada. El resto de muestras fueron sometidas a uno, dos o tres ciclos sucesivos de enfriamiento/calentamiento.

Contenido de almidón resistente tipo III

El almidón resistente fue determinado de acuerdo a Saura-Calixto y col. [7]. Se pesaron 60 mg del almidón, los que fueron mezclados con tampón fosfato 0,08M luego de lo cual el pH se reguló a 6. Posteriormente se adicionó α -amilasa termoestable (*Bacillus amyloliquefaciens*, Sigma A7595) y se incubó la muestra a temperatura de ebullición (91°C) por 30 minutos y agitación constante. Tras la ebullición, la muestra fue enfriada a temperatura ambiente. Se añadió NaOH 0,275N para regular el pH a 7,5 previo a la adición de solución de proteasa (50 mg de proteasa, *Bacillus licheniformis*, Sigma P5450-5G, en 1ml de tampón fosfato) e incubación a 60 °C por 30 minutos. Tras enfriar la muestra a temperatura ambiente se añadió HCl 0,325N y el pH fue regulado a 4,5, para luego añadir amiloglucosidasa (Amiloglucosidasa de *Aspergillus Níger* A7095) e incubarla en baño con agitación a 60 °C durante 30 minutos. Pasado este tiempo se ponen las muestras en una centrifuga (Centra GP8, EEUU) a 3 000 g por 15 minutos, eliminando los sobrenadantes. El precipitado de la centrifugación se sometió a procesos de lavado con agua destilada, etanol y acetona. Al finalizar los lavados, se añadió KOH 4 M y se incubó la muestra por 30 minutos en un baño con agitación a temperatura ambiente. Una vez terminada la incubación, se añadió HCl 2 N, tampón acetato sódico y se reguló el pH a 4,75 previo a la adición de amiloglucosidasa. Las muestras fueron entonces incubadas a 60 °C por 30 minutos y centrifugadas a 3 000 g por 15 minutos y posteriormente lavadas con agua destilada. Los sobrenadantes fueron recogidos y coloreados empleando el reactivo GOD-PAP (Peridochrom Oxidasa/Peroxidasa, GOD-PAP, Sigma G3293). El contenido de almidón resistente en las muestras, se cuantificó mediante la absorbancia de los sobrenadantes (espectrofotómetro Génesis 10uv, EEUU) conjuntamente con los datos de una curva estándar (ecuación 1).

$$\% \text{Almidón resistente} = \frac{\text{glucosa } (\mu\text{g/ml}) \times \text{Volumen} \times \text{Dilución} \times 100 \times 0.9}{1000 \times \text{Peso de muestra seca (mg)}} \quad (1)$$

Contenido de amilosa

El contenido de amilosa de los almidones se determinó empleando el método colorimétrico descrito por Morrison y Laignelet [8].

Determinación de claridad de geles de almidón

Se utilizó el método empleado por Bello-Pérez [9] que consiste en medir la transmitancia de suspensiones de almidón al 1 % en base seca, previamente gelatinizadas a temperatura de ebullición (91 °C) durante 30 min, a una longitud de onda de 650 nm.

Análisis proximales

El contenido de proteína de los almidones en estudio fue determinado empleando un Kjeldahl de acuerdo al método AOAC [10]. El contenido de grasa fue determinado mediante el empleo de un Soxhlet [10]. El contenido de humedad se determinó utilizando una lámpara halógena. Finalmente, los contenidos de ceniza, fibra y azúcares totales también fueron determinados mediante métodos del AOAC.

Análisis estadístico

Para analizar el contenido de almidón resistente de las muestras sometidas a diferentes tratamientos térmicos, se utilizó un diseño experimental completamente al azar (DCA). Las muestras se prepararon por triplicado y fueron analizadas aleatoriamente.

Para determinar si la diferencia entre el contenido de almidón resistente entre los diferentes ciclos de enfriamiento/calentamiento fue estadísticamente significativa, los resultados fueron analizados con un análisis de varianza (ANOVA).



Para comparar el porcentaje de almidón resistente entre los cultivos utilizados, se utilizó un diseño factorial 4x2 bajo el DCA. Finalmente, para comparar el contenido de almidón resistente entre las muestras de almidón nativo y el ciclo cero se utilizó una prueba t.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis proximal

La composición de los almidones de *C. edulis* y *S. tuberosum* se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Composición química de los almidones de *S. tuberosum* y *C. edulis*

	<i>C. edulis</i>	<i>S. tuberosum</i>
% Proteína	0,56	1,08
% Grasas	0,17	0,15
% Humedad	13,67	10,62
% Cenizas	0,36	0,68
% Fibra soluble	0,29	2,18
% Azúcares	0,29	0,33
% Almidón	84,65	84,96

n=2 repeticiones

El análisis proximal (Tabla 1) reveló diferencias entre los almidones de *C. edulis* y *S. tuberosum*. Los porcentajes de proteína de los almidones de *C. edulis* y de *S. tuberosum* fueron de 0,56 y 1,08 % respectivamente. El valor de proteína para *S. tuberosum* fue mayor al reportado por Alvis y col. [11] que fue de 0,62 %. El mayor contenido de proteína encontrado probablemente se deba a que no fueron eliminadas completamente durante los lavados del proceso de extracción del almidón. La ausencia de proteína es importante ya que esta puede interferir en la retrogradación del almidón, debida a formación de complejos proteína-almidón. Por lo general, las proteínas forman cuerpos alrededor del gránulo de almidón, lo cual provee de una capa rígida, de modo que la gelatinización y otras reacciones no pueden llevarse a cabo completamente, a menos que esta barrera sea removida [12]. Los valores de grasa reportados, 0,17 y 0,15 % para *C. edulis* y *S. tuberosum*, fueron menores a los reportados para *S. tuberosum* (0,35 %) encontrados previamente [11]. Los lípidos, en especial los monoglicéridos, crean enlaces con la amilosa en el momento de la gelatinización, disminuyendo de esta manera la cantidad de amilosa disponible a ser retrogradada [12]. El contenido de fibra de 0,29 y 2,18 % para *C. edulis* y *S. tuberosum*, respectivamente fue mayor que los reportados para *S. tuberosum* de 0,05 %. Estos valores indican que proceso de lavado y separación de la fibra no fue el más adecuado, permitiendo una presencia de gran cantidad de fibra en el almidón extraído. El contenido de azúcares en los almidones de *C. edulis* y *S. tuberosum* fue de 0,29 y 0,33 %, respectivamente. La presencia de azúcares reveló su importancia en un estudio previo realizado [12] en donde se pudo ver como su presencia disminuye la formación de almidón resistente. La razón de esta disminución, es la interacción entre las moléculas de azúcar y las cadenas moleculares de almidón, lo cual crea una alteración en la matriz de almidón gelatinizado. El almidón presente en las muestras presentó valores similares en las dos muestras, siendo 84,65 y 84,96 % para *C. edulis* y *S. tuberosum*, respectivamente.

Contenido de amilosa

El contenido de amilosa de *C. edulis* reveló ser mayor que el de almidón de *S. tuberosum*, con valores de 26 y 22,9 % respectivamente (Tabla 2). Los contenidos de amilosa para *C. edulis* y *S. tuberosum* fueron menores a los reportados por otros autores, con valores de 27 % y entre 24 y 28 %, respectivamente [13] [14]. Las diferencias observadas pueden deberse al método de análisis utilizado y/o a la variedad de *S. tuberosum* y *C. edulis* utilizados.



Tabla 2. Contenido de amilosa de almidones de *C. edulis* y *S. tuberosum*

Cultivo	Contenido de amilosa (%)
<i>C. edulis</i>	26,0
<i>S. tuberosum</i>	22,9

Porcentaje de Almidón Resistente tipo III

El contenido de almidón resistente tipo III (ARIII) presente en las muestras de *C. edulis* y *S. tuberosum* después de los diferentes ciclos de enfriamiento/calentamiento es presentado en la tabla 3. Los porcentajes de almidón resistente de las muestras de *C. edulis* (0,34 %) y *S. tuberosum* (0,23 %), sometidas a procesos de enfriamiento/calentamiento no son una fuente rica en almidón resistente, pues presentan valores menores que los existentes en otros alimentos como pan integral (1,5%) y cereales para el desayuno (1,0 – 6,2 %), entre otros. Si bien las cantidades de proteína, lípidos y azúcares presentes en los almidones de *C. edulis* y *S. tuberosum* fueron relativamente bajas, el efecto total de estos tres componentes pudo disminuir la formación de almidón resistente, tal como se menciona en previos trabajos [15] [12] [3]. El contenido de ARIII en el almidón de *C. edulis* se incrementó a lo largo de los diferentes ciclos, mientras que para el almidón de *S. tuberosum* se mantuvo aproximadamente constante a partir del primer ciclo (Figura 1). Estadísticamente, no se encontraron diferencias significativas de porcentaje de almidón resistente tipo III entre ciclos, pero si se encontraron diferencias entre los cultivos. El mayor contenido de almidón resistente tipo III para el almidón de *C. edulis* está directamente relacionado con el mayor contenido de amilosa de este almidón [16] [17].

Tabla 3. Porcentajes de almidón resistente tipo III de almidones de *C. edulis* y *S. tuberosum* bajo varios ciclos de enfriamiento/calentamiento

Muestra	Almidón gelatinizado y liofilizado	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3
<i>C. edulis</i>	0,232	0,239	0,296	0,338
<i>S. tuberosum</i>	0,205	0,229	0,222	0,229

n = 3 repeticiones

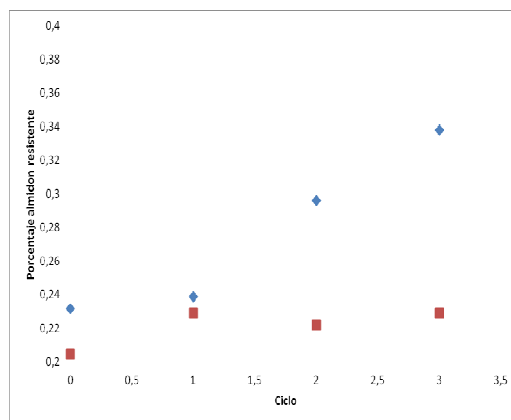


Figura 1. Contenido de almidón resistente vs. Ciclos de enfriamiento/calentamiento de almidones de ♦*C. edulis* y ■*S. tuberosum*



Claridad de los geles de almidón

Los resultados de la transmitancia de los geles de almidón de *C. edulis* y *S. tuberosum* se encuentran en la tabla 4. La transmitancia de los geles de ambos almidones disminuyó con el tiempo de almacenamiento a 3°C. La disminución fue más marcadamente en el almidón de *C. edulis*. Según Doublier, los cambios en la transmitancia de luz en geles de almidones que contienen amilosa, puede deberse al resultado de la transformación de estructura de una matriz de amilosa a un estado agregado denso [18]. Estos resultados corroboran el hecho de que existió mayor retrogradación en el almidón de *C. edulis* y por ende mayor contenido de almidón resistente en el mismo en relación al almidón de *S. tuberosum*.

Tabla 4. Porcentaje de transmitancia de geles de almidón de *C. edulis* y *S. tuberosum* almacenados a 3°C

	Tiempo (horas)			
	0	2	4	24
<i>C. edulis</i>	74,1	69,8	67,2	53,5
<i>S. tuberosum</i>	80,4	79,3	76,5	75,6

CONCLUSIONES

El contenido de ARIII en el almidón de *C. edulis* se incrementó a lo largo de los diferentes ciclos, mientras que para el almidón de *S. tuberosum* se mantuvo aproximadamente constante a partir del primer ciclo. Estadísticamente, no se encontraron diferencias significativas de porcentaje de almidón resistente tipo III entre ciclos, pero si se encontraron diferencias entre los cultivos. Una de las razones por las cuales se le atribuye una mayor retrogradación al almidón de *C. edulis* es su mayor porcentaje de amilosa. Los porcentajes de almidón resistente de las muestras de *C. edulis* (0,34 %) y *S. tuberosum* (0,23 %), sometidas a procesos de enfriamiento/calentamiento no son una fuente rica en almidón resistente, pues presentan valores menores que los existentes en otros alimentos como pan integral (1,5 %) y cereales para el desayuno (1,0 – 6,2 %), entre otros. Posiblemente la presencia de proteínas, lípidos y azúcares pudo disminuir la formación de almidón resistente. Es necesario buscar otro tipo de procesamiento y/o almidones que permitan formación de mayores cantidades de almidón resistente para su utilización en el desarrollo de alimentos funcionales.

REFERENCIAS

1. ASP, N.L., BJÖRCK, I., HOLM, J., NYMAN, M., SIUESTRÖM, O.
Scandinavian Journal of Gastroenterology, 1987, **129**, 29-32.
2. SAJILATA, M., REKHA, S., PUSHPA, R.
Comprehensive Reviews in food science and food safety, 2006, **5**, 1-17.
3. SILVERIO, J.
Retrogradation. Properties of Starch. PhD thesis. Lund University, 1997.
4. NATIONAL RESEARCH COUNCIL
Lost crops of the Incas: Little-known Plants of the Andes with Promise for Worldwide Cultivation. 1989, National Academy press, Washington D.C.: 27, 47, 83.
5. HERMANN, H., UPTMOOR, R., FREIRE, I., MONTALVO, J.
Crop Growth and Starch productivity of Edible Canna. Programme 6, postharvest, Management, Marketing. Programme report 95-96, International potato Centre (CIP), Lima, Peru. 1996.
6. YOU, LIM.
Cereal chemistry, 2000, **77**, 303-308.
7. SAURA-CALIXTO, F., GOÑI, I., BRAVO, L., MAÑAS, E.
Journal of Food Science, 1993, **58**, 642-3.
8. MORRISON, LAIGNELET.
Contenido de amilosa utilizando colorimetría. Manual de caracterización de Carbohidratos, 1983, 26.
9. BELLO-PÉREZ, L.A.
"Amilopeptina: Caracterización Molecular y Funcional". Tesis de Doctorado. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Irapuato, México. 1995.
10. A.O.A.C.



- Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 15th edition. Washington D.C. U.S.A. 1990.
11. ALVIS, A., VÉLEZ, C., VILLADA, H., RADA-MENDOZA, M.
Información Tecnológica, 2008, **19**, 19-28.
 12. ESCARPA, A., GONZÁLEZ, M., MORALES, M., SAURA- CALIXTO, F.
Food Chemistry, 1997, **60**, 527-532.
 13. BARRERA, V., TAPIA, C., MONTEROS, A.
Raíces y Tubérculos Andinos. Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación, 2004, **4**.
 14. MOORTHY, S., ANDERSSON, L., ELIASSON, A.C., SANTACRUZ, S., RUALES, J.
Starch, 2006, **58**, 209-214.
 15. GUDMUDSSON, M., ELIASSON, A.C.
Starch, 1992, **44**, 379-385.
 16. SANTACRUZ, S., RUALES, J., ELIASSON, A.C.
Carbohydrate Polymers, 2003, **51**, 85-92.
 17. NUGENT, A.
British Nutrition Bulletin, 2005, **30**, 27-54.
 18. DOUBLIER, J.
Rheological properties of cereal carbohydrates, Dough rheology and baked product texture. 1990, An Avi Book, New York: 132-137.