

**Efecto de la modificación de almidones de
maíz con ácido octenil succínico en la
digestibilidad y sus propiedades estructurales**

Victor Miguel Castillo Rodríguez

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Honduras

Noviembre, 2019

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Efecto de la modificación de almidones de maíz con ácido octenil succínico en la digestibilidad y sus propiedades estructurales

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Victor Miguel Castillo Rodríguez

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2019

Efecto de la modificación de almidones de maíz con ácido octenil succínico en la digestibilidad y sus propiedades estructurales.

Victor Miguel Castillo Rodríguez

Resumen. Los almidones esterificados con ácido octenil succínico (OSA) son utilizados en amplios campos de la ciencia de alimentos por su alto rango de aplicabilidad a la industria, y generalmente, es utilizado como un ingrediente que provee características benéficas al aplicarlo en un alimento. En esta investigación se estudió el efecto de la modificación y contenido de amilosa en las propiedades de digestibilidad del almidón de maíz no modificado y modificado con OSA. Almidones de maíz (ceroso, normal y Hylon VII) fueron tratados con solución de OSA 3%. Se usó un Diseño Completamente al Azar (DCA) para digestibilidad de almidones modificados (seis tratamientos) utilizando el kit Megazyme. Pruebas de digestibilidad *in vitro* mostraron que el tratamiento de OSA redujo la fracción de almidón rápidamente digerible (84 y 88.5%), un efecto que fue más apreciado para el almidón gelatinizado. El contenido de amilosa estaba negativamente relacionado con la disminución de la digestión *in vitro*. Análisis HPSEC-MALS-RI mostraron un aumento del peso molecular del almidón modificado. Además, el aumento del peso molecular fue similar para las fracciones de amilosa y amilopectina. Esto sugiere que OSA podría estar actuando como agente de entrecruzamiento entre cadenas de almidón. En general, los resultados mostraron que los tratamientos con OSA indujeron la formación de cadenas de almidón más complejas, que ofrecen más resistencia para las reacciones amilolíticas. Se recomienda realizar una fermentación colónica y determinar si el almidón resistente mantiene una actividad prebiótica.

Palabras clave: Amilopectina, amilosa, Hylon VII, HPSEC-MALS-RI, *in vitro*.

Abstract. Octenyl Succinic Acid (OSA), esterified starches are used in several fields of food science for their broad range of applicability to the industry; they are generally used as an ingredient that provides beneficial characteristics when applied in a food product. This research studied the effect of amylose content and modification on the digestibility properties of unmodified and modified maize starches with OSA. Corn starches (waxy, normal and Hylon VII) were treated with 3% OSA solution. A Completely Randomized Design (DCA) was used for digestibility of modified starches (six treatments) using the Megazyme kit. *In vitro* digestibility tests showed that OSA treatment reduced the rapid digestible starch fraction (84% and 88.5%), an effect that was appreciated mostly for gelatinized starch. The amylose content was negatively related with the decrease of digestion *in vitro*. HPSEC-MALS-RI analysis showed an increase in the molecular weight of modified starch. In addition, molecular weight gain was similar for amylose and amylopectin fractions. This suggests that OSA may be acting as a cross-linking agent between starch chains. Overall, the results showed that OSA treatment induced the formation of more complex starch chains, which offer more resistance for amylytic reactions. It is recommended to perform a colonic fermentation and determine if the resistant starch maintains a prebiotic activity.

Keywords: Amylopectin, amylose, Hylon VII, HPSEC-MALS-RI, *in vitro*.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
4. CONCLUSIONES.....	17
5. RECOMENDACIONES.....	18
6. LITERATURA CITADA.....	19
7. ANEXOS.....	23

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Descripción de los tratamientos para almidones sin modificar y modificados	3
2. Contenido de amilosa y grado de sustitución (GS) de los almidones sin modificar de maíz y almidones modificados con 3% OSA.....	8
3. Contenido de almidón resistente (%) de almidones modificados de OSA estimado como el almidón sin digerir después de 120 min.....	9
4. Constantes cinéticas en condiciones granulares de almidones no modificados y modificados con OSA estimados por Ecuación 2.....	10
5. Fracciones de la digestibilidad en condiciones granulares de almidones no modificados y modificados de OSA estimados por Ecuación 2.....	11
6. Constantes cinéticas de los almidones no modificados y modificados con OSA bajo condiciones de cocción.	12
7. Fracciones de la digestibilidad de los almidones no modificado y modificados con OSA bajo condiciones de cocción	12
8. Resultados de HPSEC-MALS-RI para almidones de maíz sin modificar y modificados (3% OSA) con diferente contenido de amilosa.....	13
Figuras	Página
1. Estructura del almidón modificado con anhídrido succínico 2-Octen-1-il (almidón OS) (Adaptado de Sweedman et al. 2013).....	7
2. Patrón DRI (Índice de patrón diferencial) de no modificados (línea continua) y OSA-modificados (línea punteada) de los almidones de maíz: (a) ceroso o waxy, (b) normal y (c) Hylon VII.....	14
3. Cinética de la digestión enzimática en condiciones granulares: (a) maíz ceroso, (b) maíz normal, y (c) Hylon VII.....	15
4. Cinética de la digestión enzimática en condiciones de cocción: (a) maíz ceroso, (b) maíz normal y (c) Hylon VII.....	16

Anexos	Página
1. Resultados de HPSEC-MALS-RI de pesos moleculares de amilosa para almidones de maíz sin modificar y modificados (3% OSA).	23
2. Morfología de los gránulos de almidón de maíz sin modificar (izquierda) y modificados (derecha) con 3 % de OSA observados bajo microscopia de luz transmitida.	24
3. Micrografías de los gránulos de maíz nativos (izquierda) y modificados (derecha) con 3 % de OSA observados bajo microscopia de luz polarizada. .	25
4. Micrografías electrónicas de barrido de almidón de maíz nativo (Izquierda) y modificado (derecha) con 3 % de OSA.	26
5. Microfotografías de la luz (A) y (B) microscopía de luz polarizada de las emulsiones estabilizadas por almidones de maíz nativo y OSA (3%) almidón modificado en siete días.	27

1. INTRODUCCIÓN

El almidón es uno de los biopolímeros con mayor abundancia en la tierra y se puede encontrar en diversas fuentes vegetales como los cereales, tubérculos, leguminosas y frutos inmaduros. El almidón tiene diversas funciones como emulsificante, mejorador de estructura en productos que se elaboran con esta materia prima como son el pan, el arroz cocinado, las pastas, etc. (Han *et al.* 2018). También puede ser aislado a partir de dichas fuentes vegetales y ser utilizado como ingrediente en alimentos (aderezos para ensalada, embutidos, productos de confitería, etc.) y productos farmacéuticos (Chen *et al.* 2018; Zhang *et al.* 2018). Este biopolímero tiene su estructura dividida en dos componentes principales: la amilosa que es una estructura lineal y otra que se presenta de manera ramificada como lo es la amilopectina (Haq *et al.* 2019).

La amilosa por su parte está conformada por enlaces glucosídicos α -(1-4) y por otra parte la amilopectina está unida por enlaces α -(1-4) y α -(1-6) (Arijaje y Wang 2016). Hace algunos años se comprendía que el almidón que estaba presente en alimentos (matrices alimentarias) era completamente digeridos en el sistema digestivo humano, esto cambio cuando estudios revelaron que el almidón se podía digerir en forma rápida, lenta o simplemente no ser digerido en el intestino delgado.

La fracción de ese almidón que no podía ser hidrolizado por enzimas presentes en el organismo humano se le llamó almidón resistente (AR), que es digerido por la microbiota colónica (Bello-Perez *et al.* 2018). El almidón resistente fue descrito como la fracción del almidón que resiste a hidrolisis llevado por un tratamiento drástico con enzimas amilolíticas, como alfa amilasa y glucoamilasa. No obstante, el almidón que llega al intestino grueso puede ser fermentado medianamente por la microbiota.

Actualmente, existen cuatro fracciones de almidón resistentes descritos de la siguiente manera: AR1 (Físicamente inaccesibles), AR2 (gránulos de almidón nativo), AR3 (Almidones retrogradados) y AR4 (Almidones modificados) (Quiroga 2008). Diferentes estudios relacionan los beneficios de los almidones resistentes y sus implicaciones en la salud, de igual manera conectan estos beneficios con diversas modificaciones tanto físicas, químicas a los almidones. Las modificaciones de los almidones alteran sus propiedades químicas y físicas mejorando sus atributos de digestibilidad para darle aplicaciones específicas (Wang *et al.* 2016.; Chen *et al.* 2015) Los almidones modificados con ácido octenil succínico son ampliamente utilizados en la industria de los alimentos como emulsificador.

Se han concretado estudios donde contrastan las propiedades de almidones esterificados con OSA (ácido octenil succínico por sus siglas en ingles); aquellos que tienen mayor peso

molecular tienden a tener mayor eficiencia de encapsulaciones y, por otra parte, los que tienen moléculas más grandes, son más idóneos para estabilizar una emulsión (Han *et al.* 2018). En la esterificación con OSA resulta importante conocer su grado de sustitución, en este caso, el GS (Grados de sustitución) se define como la cantidad de moléculas o grupos hidroxilos sustituidos por unidades de anhidroglucosa del polímero de almidón.

Cuando se usa OSA para modificar almidones, la característica hidrofílica logra corregir el carácter hidrofóbico por la sustitución de moléculas de octenil en el almidón, logrando conseguir una molécula anfipática; lo cual resulta de importancia en la industria farmacéutica, cosmética e importante en la industria de la encapsulación (Bajaj *et al.* 2019). Una fuerte industria emergente es la cárnica por la resiente necesidad de consumidores por consumir productos reducidos en grasas; al tener características el almidón modificado a la grasa en una emulsificación es una opción bastante viable.

Según Liu *et al.* (2017), Englyst, Kingman, y Cummings (1992), la fracción de almidón obtenida de la hidrólisis se puede clasificar como rápidamente digerible (RDS), de digestión lenta (SDS) y almidón resistente (RS). Los beneficios del almidón resistente y de digestión lenta son parecidos a la de la fibra dietética puesto que está relacionado directamente con el índice glicémico posprandial, ya que lo disminuye, además al no ser digerible existe una respuesta insulínica previniendo el riesgo de diabetes como lo describen Shaikh *et al.* (2019).

La cinética de almidones resulta importante en la caracterización de la digestión enzimática de los mismos. Generalmente, la cinética de almidones no es un proceso simple, pueden incluir varios factores que se diferencian, por ejemplo, las condiciones de las enzimas y el tipo de reacción que catalizará la hidrólisis. Dentro de los factores que pueden diferenciar están: la tasa de aparición de glucosa, pérdida de almidón y tasa de aparición de oligosacáridos (Pages *et al.* 2010). Existe una diversidad de aplicaciones de los almidones de cereales cuando estos son modificados ya que por una parte mejoran su solubilidad en agua, su capacidad de retención de agua, entre otros factores (Bello-Pérez *et al.* 2019). Su uso está diseminado por el hecho que la mayoría de modificaciones mejora su funcionalidad y que estas son agregadas a productos.

Los objetivos de este estudio incluyeron:

- Estudiar la relación entre la estructura molecular del almidón de maíz y las propiedades de digestibilidad *in vitro*, incluyendo el papel de la relación amilosa-amilopectina en la digestibilidad.
- Determinar el efecto de la esterificación en el contenido de amilosa y almidón resistente, así como también evaluar la estructura de los almidones mediante el uso de HPSEC-MALS-RI.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio.

El estudio cuenta con dos fases; la primera fue la realización de todos los ensayos que se describirán a continuación. Estos se realizaron en el Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (Instituto Politécnico Nacional, CEPROBI. km 6 Carr. Yautepec-Jojutla, Calle Ceprobi No. 8, Apartado Postal 24, Yautepec, Morelos, 62731 México). La segunda fase consta en la redacción parcial del proyecto especial de graduación en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.

Diseño experimental.

Los resultados se presentan por la media \pm SE (error estándar) de tres repeticiones. Se utilizó un Análisis de Varianza de una Vía (ANOVA) para evaluar la diferencia entre las medias con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$, utilizando el paquete de estadística Minitab 15 (Minitab Inc., State College, PA, EE. UU.). Se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con una separación de medias Tukey. En cuadro 1 detalla los tratamientos evaluados en el estudio. En el caso de la estimación de los grados de sustitución y contenido de amilosa la separación de medias se realizó entre todos los tratamientos presentados en cada columna. La separación de medias para los demás parámetros se realizó entre cada tipo de almidón y columna en los respectivos cuadros.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos para almidones sin modificar y modificados

Muestra	Sin Modificar	Modificado
Ceroso	TRT1	TRT2
Normal	TRT3	TRT4
Hylon VII	TRT5	TRT6

TRT: tratamiento.

Preparación de almidones esterificados con OSA (Ácido Octenil Succínico).

La esterificación del almidón se realizó siguiendo la metodología propuesta por Han y BeMiller (2007). Se colocaron 15 g de almidón ceroso (*Amioca*, CODE: 04401106), Almidón normal (*Globe* AA CODE: 03401037), y almidón alto en amilosa (*Hylon* VII). Los almidones fueron obtenidos de Ingredion® en base seca y se adicionaron 34 ml de agua destilada con agitación mecánica constante durante 1 hora. Se ajustó el pH a 8.75 con una solución de hidróxido de sodio (1 M). Se adicionaron 0.45 mL de OSA (gota a gota) y se

mantuvo agitación constante durante 6 horas. Este procedimiento fue realizado a cada grupo de almidón antes descrito.

Se monitoreó el pH constantemente y se mantuvo en el rango de 8.5-9.0 durante 6 horas. Se adicionó NaOH (1 M), en el mismo momento que la OSA, con el fin de evitar un descenso rápido del pH, todo se mantuvo a una temperatura de 26 ± 2 °C. Posteriormente, se neutralizó con ácido clorhídrico (1 M). El almidón ya esterificado se recuperó por centrifugación a 3000 g (5000 rpm) por 10 minutos; durante este tiempo se realizaron tres lavados con agua destilada a la suspensión y un lavado con acetona. El sedimento se acondicionó a temperatura ambiente.

Determinación de grados de sustitución (GS).

El grado de sustitución se determinó por el método descrito por Timgren *et al.* (2013). Para este método se pesaron 1.25 g de muestra en base seca y se realizó una dispersión del almidón esterificado en una solución de ácido clorhídrico (0.1 M). Posteriormente, se centrifugó a 3000 g (5000 rpm) durante un intervalo de 10 minutos. El precipitado obtenido se lavó con 300 mL de etanol al 90% de concentración (en este paso fue importante retirar HCl presente, esto para evitar sobrestimación) y 2 veces con agua destilada. El almidón se re-suspendió en 75 mL de agua destilada y se sometió un baño de agua en ebullición (96 °C) por 10 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se tituló con una solución de NaOH 0.1 N hasta llegar a un pH de 8.3 y como control se tituló almidón nativo. El GS se calculó utilizando la siguiente ecuación 1:

$$GS = \frac{0.162 \times (A \times M) / W}{1 - (0.210 \times \frac{A \times M}{W})} \quad [1]$$

Donde:

A= mL de NaOH gastados

M= molaridad de la solución de NaOH

W= peso del almidón modificado en g (base seca)

Digestión de almidones *in vitro*.

La digestión *in vitro* fue llevada a cabo usando la metodología descrita por Bello-Pérez *et al.* 2018. Para la hidrólisis del almidón se utilizaron tres tipos: ceroso o alto en amilopectina, Hylon VII o alto en amilosa y normal. Se pesaron 100 g de muestra y posteriormente se les agregaron 4 mL de acetato de sodio (0.2 M, pH 6). Se añadió 1 mL de saliva artificial, alfa amilasa porcina (250 U/mL, Sigma P1750) suspendida en una solución de bicarbonato de sodio (14.4 nM, pH 7) y 2 mL de pepsina (1 mg/mL, Sigma P7000), en una solución de HCl (0.02 M, pH 2). La solución se incubó por 30 minutos a una temperatura de 37 °C. Posteriormente se neutralizó con 2 ml de hidróxido de sodio (0.02 M) y 4 mL de buffer de acetato de sodio (0.2 M, pH 6).

Se adicionó una mezcla de pancreatina (2 mg/mL, sigma P7545) y amilogucosidasa (K-RSTAR, Megazyme, Bray County Wicklow, Ireland). Se incubó a 37 °C con agitación. En tubos Eppendorf se vertieron 300 µl de carbonato de sodio (0.3 M) para detener la reacción enzimática. Se tomaron alícuotas de 10 microlitros en los siguientes tiempos: 5, 10, 15, 20,

30, 40, 50, 60, 90, 120, 240 y 360 minutos. Las muestras en los tubos se centrifugaron a 2000 rpm por 5 min y el sobrenadante se determinó utilizando el método D-glucosa (GOPOD, K-RSTAR, Megazyme, Bray County Wicklow, Ireland). En el caso de las muestras cocidas previo a procedimiento, se sometieron a una temperatura de 97 °C por un intervalo de 10 minutos, luego se atemperaron a 37 °C. Todas las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 560 nm.

La cinética de hidrólisis se describió mediante el modelo de decaimiento exponencial a dos escalas (Bello-Pérez *et al.* 2019) utilizando la siguiente ecuación 2:

$$Y(t) = Y_{\infty} + Y_f e^{-k_f t} + Y_s e^{-k_s t} \quad [2]$$

Donde:

$Y_{\infty} = 1 - X_{\infty}$ es la concentración límite normalizada de almidón. Se puede mostrar que $Y(0) = 1$ e $Y(t \rightarrow \infty) = Y_{\infty}$. Es decir, Y_{∞} es la fracción de almidón que no puede ser hidrolizada por la acción enzimática. En de esta manera, uno puede identificar Y_{∞} como la fracción almidón resistente (etiquetada como RS). Por otro lado, $1 - Y_{\infty}$ corresponderá a la fracción de almidón digerido (DS) etiquetado como SDS.

Las constantes cinéticas k_f y k_s ($k_f > k_s$) son las tasas de digestión para las fracciones de almidón que se digieren rápida y lentamente, respectivamente, mientras que denotan las fracciones de almidón correspondientes. Además, denota la fracción de almidón no digerido después de tiempos muy largos. La derivación de la ecuación 2 asume la presencia de tres fracciones de almidón digestibles, que se hidrolizan a diferentes velocidades.

Determinación de almidón resistente.

Para la determinación de almidones resistentes, se llevó a cabo mediante el método de la AOAC (2002.02) y AACC (32-40.), con los kits de ensayo de Megazyme (ya que son estándares para determinar este tipo de polímeros). En esta prueba se utilizan tres tipos de maíz: Ceroso o alto en amilopectina, Hylon VII o alto en amilosa y el maíz nativo. De la misma forma se midieron almidones resistentes con las mismas muestras, pero para este caso muestras ya modificadas con OSA al 3% se pesaron 100 gramos de muestra y se le añadieron 4 mL de alfa amilasa pancreática (1 mg/mL) conteniendo amiloglucosidasa 300 U/ml a cada tubo. Se mezclaron e incubaron los tubos en un baño maría a 37 °C por un intervalo de 16 horas con agitación constante. Se vertieron 4 mL de etanol al 99% y se agitó en un vortex. Las muestras en los tubos se centrifugaron durante 10 minutos a 1500 rpm. Se colocaron 6 ml de etanol al 50%, se mezclaron y centrifugaron a 1500 rpm por 10 minutos.

Posteriormente se colocaron 4 ml de una solución de hidróxido de potasio (2 M), se resuspendieron los sólidos en agitación durante 20 minutos en baño de hielo. Se añadieron 8 ml de regulador de acetato de sodio (1.2 M, pH 3.8) e inmediatamente se agregaron 0.1 mL de amiloglucosidasa (3300 U/mL), mezclar bien y colocarlo en tubos en un baño de agua a 50 °C. En caso de tener evidencia que una muestra contenía una cantidad mayor al 10% de AR, se procedió a diluir las muestras en un matraz volumétrico (100 mL). El sobrenadante se determinó utilizando el método D-glucosa (GOPOD, método de

Megazyme). En el caso de las muestras cocidas previo a procedimiento se sometieron a una temperatura de 97 °C por un intervalo de 10 minutos, luego se atemperaron a 37 °C. Todas las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 560 nm.

Sistema HPSEC de dispersión de luz en múltiples ángulos (MALS) - índice de refracción (RI).

Las muestras de almidón de maíz nativo y modificado fueron tratadas y solubilizadas por el método descrito por Bello-perez *et al.* (1998). El tratamiento térmico para la solubilización del almidón fue de 60 segundos en un horno de microondas (900 vatios, KOR-861G Daewoo Electronics, Seúl, KS) a alta potencia. La separación por cromatografía de exclusión por tamaño de alto rendimiento (HPSEC) se llevó a cabo en un sistema con una HPLC programable IsoPump (G1310A), un inyector automático (MALS G1313A) y un desgasificador (G1322A) de Agilent (Agilent Technology, Santa Barbara, CA).

El sistema de exclusión de tamaño comprendía la columna protectora Ultrahydrogel 6 × 40 mm (Waters, Milford, MA) y dos columnas en serie: OHpak SB-807 HQ y OHpak SB-804 HQ (Shodex, Showa Denko K.K., Tokio, Japón). El sistema de separación se acopló a un DAWN® HELEOS II de Wyatt DAWN® de dispersión de luz de múltiples ángulos (MALS) y Optilab T-rEx (Wyatt Tehnology, Santa Barbara, CA, EE. UU.). Los datos fueron procesados con el software ASTRA (v. 5.3.1.5). La fase móvil fue agua desionizada con NaN₃ al 0,02%, desgasificador y se filtró en 0.22 µm de Millipore (Pall Corporation, Ann Arbor, MI, EE. UU.). Todas las separaciones se llevaron a cabo en las mismas condiciones experimentales con un volumen de inyección de muestra de 50 µl a 0.5 ml.m

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Generalmente se esterifica almidones usando anhídrido octenil succínico (OSA), esto implica una sustitución parcial de los grupos hidroxilo con hidrófobos sustituyentes, produciendo así un almidón de carácter anfílico y con propiedades interfaciales (Figura 1). Se ha encontrado múltiples aplicaciones en la industria de alimentos como agente emulsificante, espesante, agente para encapsulaciones y un sustituto conveniente de grasa (Altuna *et al.* 2018).

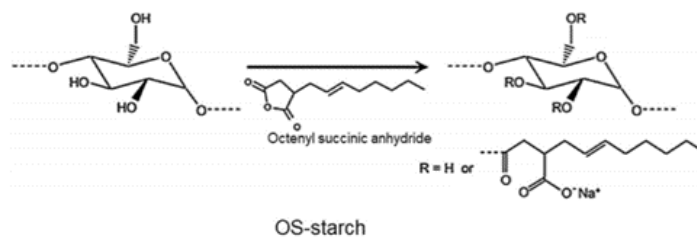


Figura 1. Estructura del almidón modificado con anhídrido succínico 2-Octen-1-il (almidón OS) (Adaptado de Sweedman *et al.* 2013)

Las fracciones de almidones de rápida digestión y almidón resistente están directamente relacionados con el grado de sustitución (Liu *et al.* 2017), quiere decir entonces que este tipo de relación toma en cuenta la estructura molecular de cadenas de almidones y que afectan directamente su digestibilidad. El grado de sustitución, el poder de hinchamiento y las temperaturas de gelatinización de almidones modificados se correlacionan directamente con el contenido de almidón resistente (Remya *et al.* 2018).

La afinidad de las moléculas de octenilo generalmente están más ligadas en aquellas regiones amorfas donde la amilosa está en mayores concentraciones y en solución. Además, tenemos que en estudios realizados por Xu y Yong Cheng (2019), postulan que esto se debe a que en almidones de maíz ceroso tienen más grados de hinchamiento y mayor volumen, esto agregado a que hay más moléculas de hidroxilos en solución y que está en contacto con la amilosa.

El cuadro 2, refleja que el contenido de amilosa en las muestras disminuyó con la modificación con OSA, y fue más relevante en aquellas muestras que reflejan mayor contenido de amilosa, es decir Hylon VII. De hecho, la esterificación influye en el contenido de amilosa aparente y se puede observar en la disminución del contenido de amilosa en la muestra de maíz normal (40.88%). Los resultados del cuadro 1 sugieren que la esterificación con OSA afecta principalmente a las cadenas de amilosa. El contenido de amilosa es de gran importancia ya que en muchas ocasiones determina la funcionalidad de los almidones modificados.

Simsek *et al.* (2015), describe que los cambios presentados en el contenido de amilosa aparente podrían atribuirse a la modificación con OSA o al tratamiento alcalino durante el procedimiento de esterificación. Estudios previos demuestran que el aumento de la concentración de OSA incrementa los grados de sustitución en el almidón (Krolikowska *et al.* 2017; Lin *et al.* 2018). Los grados de sustitución (GS) están representados en la última columna del cuadro 1, la misma se correlacionó positivamente con el contenido final de amilosa, lo cual sugiera una positiva esterificación con OSA en regiones amorfas donde las cadenas de amilosa se concentran.

Cuadro 2. Contenido de amilosa y grado de sustitución (GS) de los almidones sin modificar de maíz y almidones modificados con 3% OSA.

Almidón		Contenido Amilosa (%)	GS
Ceroso	No modificado	5.4 ± 0.2 ^c	ND
	Modificado	4.0 ± 0.6 ^c	0.0103 ± 0.003 ^c
Normal	No modificado	25.2 ± 0.5 ^b	ND
	Modificado	14.9 ± 0.5 ^b	0.0112 ± 0.001 ^b
Hylon VII	No modificado	65.8 ± 0.7 ^a	ND
	Modificado	54.1 ± 1.0 ^a	0.0125 ± 0.004 ^a
CV (%)		4.49	23.35

GS: Grados de sustitución

Valores son la media ± error estándar, de tres repeticiones. ^{a-d} Diferentes letras en la misma columna representan diferencias estadísticas (P < 0.05).

ND = no detectado.

OSA: Ácido Octenil Succínico.

El cuadro 3 presenta los resultados del contenido de almidón resistente para la digestión de almidón en condiciones granulares y cocidas. Esta fracción obtenida con el método de Englyst era estimada como el almidón sin digerir después de 120 minutos de hidrólisis (Englyst *et al.* 1992). Como era de esperar, el almidón granular demostró mayores fracciones de almidón resistente. Además, la fracción se incrementó por las reacciones de esterificación de OSA. El almidón ceroso (Waxy) granular exhibió menor incremento en la fracción del almidón resistente, pasando de 27.22% para el almidón nativo a 36.26% para el almidón modificado granular. El aumento fue más importante para las condiciones de cocinado y se puede observar en el cuadro 3 cómo la fracción de almidón resistente aumenta de 2.93% para el almidón nativo a 37.54% para el almidón modificado.

Cuadro 3. Contenido de almidón resistente (%) de almidones modificados de OSA estimado como el almidón sin digerir después de 120 min.

Almidón	Muestra	Granular	Cocido
Ceroso	No modificado	27.22 ± 0.93 ^a	2.93 ± 0.41 ^a
	Modificado	36.26 ± 0.43 ^b	37.54 ± 0.67 ^b
Normal	No modificado	34.66 ± 0.87 ^a	1.37 ± 0.51 ^a
	Modificado	43.65 ± 0.36 ^b	27.17 ± 0.76 ^b
Hylon VII	No modificado	74.84 ± 0.96 ^b	37.25 ± 0.91 ^b
	Modificado	77.27 ± 1.45 ^a	58.17 ± 0.72 ^a
CV (%)		1.71	9.91

CV: coeficiente de variación

Valores son la media ± error estándar, de tres repeticiones. ^{a-c} Diferentes letras en el mismo tipo de almidón y columna representan diferencias estadísticas (P < 0.05).

OSA: Ácido Octenil Succínico.

Hylon VII presentó los mayores valores de almidón resistente. Por ejemplo, el aumento fue del 37.25 a 58.17% para el almidón cocido, esto se debe que los almidones alto en amilosa son capaces de construir estructuras más compactas que evita el acceso a enzimas hidrolíticas. Otro aspecto que relaciona el alto contenido de almidón resistente es el hecho de que el aumento de la densidad de las ramificaciones y estructura cristalina a menudo está relacionado a sus propiedades de ser un almidón de digestión lenta (Villarreal *et al.* 2018; Zhang *et al.* 2018). El resultado en el cuadro 3 demostró que las reacciones de esterificación tenían efectos positivos en la generación de fracciones de almidón resistente.

El almidón resistente es considerado como un componente de la fibra dietética por sus efectos fisiológicos similares. Estudios declaran que el almidón resistente tiene beneficios positivos para la salud, entre estos resaltan la disminución de glucosa en sangre y disminuciones del colesterol (Homayouni *et al.* 2014; Öztürk y Mutlu 2019). Generalmente el almidón resistente ha sido empleado en la industria como un sustituto de grasa o para mejorar propiedades fisicoquímicas de textura y sensoriales favorables como lo describen

Serinyel y Öztürk (2016), este es un potencial en la industria de la panificación. Otro de los impactos en la industria del almidón resistente es con los productos cárnicos, ya que nuevos estudios buscan sustituir la grasa en productos emulsificados pero, la grasa contribuye a mejoras de propiedades sensoriales como el color, sabor y apariencia como lo refleja el estudio de Alves *et al.* (2016). Es por esta razón la importancia de buscar una solución emergente, y el almidón resistente o fibra dietética, es de las alternativas que busca reemplazar la grasa animal por sus propiedades favorables.

Todo el curso de tiempo de hidrólisis se analizó con la ecuación 2 para evaluar la cinética de digestibilidad a largo plazo. Las muestras de almidón nativo y sus modificaciones con OSA mostraron un patrón similar, con una ligera disminución en la tasa de hidrólisis inducida por la modificación química. Los cuadros 4 y 5 presentan los parámetros estimados por la ecuación 2. La tasa de digestión para la fracción de almidón de rápida digestión (RSD) fue aproximadamente diez veces la tasa de digestión para el almidón de digestión lenta (SDS). Este resultado refleja las diferentes escalas de tiempo en las que se digirieron las fracciones de almidón. Se puede apreciar que el almidón de rápida digestión se hidrolizó en escalas de tiempo del orden de 1 minuto, mientras que las fracciones de digestión lenta se digirieron en escalas de tiempo del orden de 10 minutos.

Cuadro 4. Constantes cinéticas en condiciones granulares de almidones no modificados y modificados con OSA estimados por Ecuación 2.

Almidón	Muestra	$k_f \times 10^2$ (min)	$k_s \times 10^3$ (min)
Ceroso	No modificado	36.52 ± 1.35^a	10.93 ± 0.76^a
	Modificado	6.68 ± 0.43^b	9.82 ± 0.78^b
Normal	No modificado	12.19 ± 0.87^a	9.50 ± 0.64^a
	Modificado	9.46 ± 0.26^b	7.47 ± 0.72^{ab}
Hylon VII	No modificado	4.92 ± 0.19^b	7.20 ± 0.87^a
	Modificado	18.91 ± 1.48^a	8.37 ± 0.79^a
CV (%)		5.28	8.79

CV: coeficiente de variación

k_f : constante cinética para RDS (Almidón de digestión rápida), k_s : constante cinética para SDS (Almidón de digestión lenta). OSA: Ácido Octenil Succínico.

Valores son la media \pm error estándar, de tres repeticiones. ^{a-c} Diferentes letras en el mismo tipo de almidón y para cada columna representan diferencias estadísticas ($P < 0.05$).

Cuadro 5. Fracciones de la digestibilidad en condiciones granulares de almidones no modificados y modificados de OSA estimados por Ecuación 2.

Almidón	Muestra	RSD (%)	SDS (%)	RS (%)
Ceroso	No modificado	7.66 ± 0.55 ^a	92.30 ± 2.84 ^b	0.04 ± 0.00 ^a
	Modificado	1.22 ± 0.15 ^b	98.78 ± 2.05 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
Normal	No modificado	1.97 ± 0.11 ^a	98.02 ± 3.86 ^a	0.01 ± 0.00 ^a
	Modificado	1.01 ± 0.09 ^b	98.97 ± 2.67 ^a	0.02 ± 0.00 ^a
Hylon VII	No modificado	0.59 ± 0.01 ^a	39.71 ± 3.84 ^a	54.38 ± 1.55 ^{ab}
	Modificado	0.10 ± 0.00 ^b	41.84 ± 3.19 ^a	58.05 ± 2.39 ^a
CV (%)		5.94	4.84	1.39

CV: coeficiente de variación

RDS: almidón rápidamente digerible; SDS: almidón lentamente digerible, RS: almidón resistente. OSA: Ácido Octenil Succínico.

Valores son la media ± error estándar, de tres repeticiones. ^{a-d} Diferentes letras en el mismo tipo de almidón y columna representan diferencias estadísticas (P < 0.05).

La fuerte separación entre estas escalas de tiempo permitió la estimación de las fracciones de almidón correspondientes a tales escalas. Para almidones cerosos y normales, la fracción dominante (más del 90%) correspondió a almidón de digestión lenta. La fracción de almidón que resistió la hidrólisis enzimática a largo plazo fue casi cero, esto relacionado directamente con los almidones waxy y normal. Este no fue el caso para Hylon VII, que presentó una fracción de almidón resistente durante mucho tiempo del orden del 54-58%. Las reacciones de esterificación OSA solo tuvieron un efecto marginal en las fracciones de almidón digeribles. Por ejemplo, la fracción de almidón de digestión lenta aumentó solo de 39.71 a 41.84% para Hylon VII.

Este efecto marginal es causado por el predominio de las fracciones de almidón de digestión lenta en el almidón no modificado, lo cual está vinculado a las limitaciones de transporte de las moléculas de enzima en la superficie del gránulo y en los poros del gránulo por otra parte también está relacionado en que los almidones como el ceroso y normal, los cuales presentaron mayores porcentaje de SDS (mayores al 90%), tienen mayor superficie de contacto en la molécula de amilopectina y por ende más susceptible a hidrólisis enzimática (Bello-Pérez *et al.* 2019; Naguleswaran *et al.* 2014). En este sentido, la evaluación precisa de las reacciones de esterificación en la digestibilidad del almidón fue enmascarada por los efectos del transporte. Para evitar tales efectos, las dispersiones de almidón se cocinaron para lograr una gelatinización completa y, por lo tanto, la rotura de gránulos.

Los resultados en los cuadros 6 y 7 demuestran que las magnitudes de las tasas de digestión son aproximadamente diez veces en comparación de los almidones de rápida digestión y lenta. Sin embargo, las diferencias en las diferentes fracciones de almidón se notan claramente. Por ejemplo, la fracción de almidón de digestión lenta fue de aproximadamente 0% para el almidón ceroso, y aumentó a 88.53% después de las reacciones de esterificación con OSA. El almidón normal mostró un resultado similar, ya que la fracción de digestión

lenta aumentó a aproximadamente el 90.85% después de las reacciones de esterificación. El aumento del almidón de digestión lenta no fue tan impresionante para Hylon VII, ya que esta fracción aumentó de 45.28 a 58.94% después de la esterificación con OSA. Sin embargo, el almidón resistente en el largo tiempo no aumentó, lo que indica que la esterificación de OSA afectó solo la velocidad a la que se digieren las cadenas de almidón. esto implica que el almidón resistente no fue aumentado con la modificación con OSA.

Cuadro 6. Constantes cinéticas de los almidones no modificados y modificados con OSA bajo condiciones de cocción.

Almidón	Muestra	$k_f \times 10^2$ (min)	$k_s \times 10^3$ (min)
Ceroso	No modificado	3.25 ± 0.16^a	9.73 ± 0.26^a
	Modificado	47.51 ± 0.32^b	8.52 ± 0.29^b
Normal	No modificado	2.43 ± 0.65^a	10.41 ± 0.34^a
	Modificado	37.82 ± 0.33^b	7.49 ± 0.25^b
Hylon VII	No modificado	8.61 ± 0.21^b	10.05 ± 0.27^a
	Modificado	21.75 ± 0.98^a	7.80 ± 0.31^b
CV (%)		6.69	3.22

CV: coeficiente de variación

k_f : constante cinética para RDS (Almidón de digestión rápida), k_s : constante cinética para SDS (almidón de digestión lenta). OSA: Ácido Octenil Succínico. Valores son la media \pm error estándar, de tres repeticiones. ^{a-c} Diferentes letras en el mismo tipo de almidón y columna representan diferencias estadísticas ($P < 0.05$).

Cuadro 7. Fracciones de la digestibilidad de los almidones no modificado y modificados con OSA bajo condiciones de cocción

Almidón	Muestra	RSD (%)	SDS (%)	RS (%)
Ceroso	No modificado	99.95 ± 0.34^a	0.05 ± 2.37^b	0.00 ± 0.00^a
	Modificado	11.44 ± 0.02^b	88.53 ± 2.57^a	0.00 ± 0.00^a
Normal	No modificado	99.93 ± 0.06^a	0.06 ± 3.21^a	0.01 ± 0.00^a
	Modificado	9.12 ± 0.01^a	90.85 ± 2.85^a	0.03 ± 0.00^a
Hylon VII	No modificado	27.78 ± 0.01^a	45.28 ± 3.26^a	26.92 ± 1.45^b
	Modificado	11.62 ± 0.00^b	58.94 ± 3.13^a	29.43 ± 2.33^a
CV (%)		0.12	4.63	6.65

CV: coeficiente de variación

RDS: almidón rápidamente digerible; SDS: almidón lentamente digerible, RS: almidón resistente. OSA: Ácido Octenil Succínico.

Valores son la media \pm error estándar, de tres repeticiones. ^{a-c} Diferentes letras en el mismo tipo de almidón y columna representan diferencias estadísticas ($P < 0.05$).

Es importante resaltar que la organización molecular de las cadenas de almidón está directamente vinculada con la digestibilidad de los mismos. El patrón DRI de las muestras de almidón tratadas y modificadas con osa se muestran en la figura 2. El maíz ceroso (figura 2a) presenta un pico que apareció en tiempo de elución del orden de los veinticinco y 30 minutos y está relacionado con cadenas de amilopectina (Bello-Pérez *et al.* 2017; chen *et al.* 2017). Este pico aparece más a la izquierda después del tratamiento con osa lo que sugiere un tiempo menor de elución y un peso molecular mayor (aumento) como se muestran en el cuadro 8. El almidón de maíz normal mostró dos picos (figura 2b), lo que refleja la presencia de amilosa en un tiempo de elución mayor y amilopectina en menor tiempo de elución.

Cuadro 8. Resultados de HPSEC-MALS-RI para almidones de maíz sin modificar y modificados (3% OSA) con diferente contenido de amilosa.

Almidón	Muestra	AMP/AM	AMP Mw (x 10 ⁸ g mol ⁻¹)	AMP RGZ (nm)	AMP Mw/Mn (-)
Ceroso	No modificado	100:0 ^a	2.53 ± 0.41 ^a	232	1.4
	Modificado	100:0 ^a	2.71 ± 0.67 ^b	230	1.5
Normal	No modificado	75:25 ^a	2.32 ± 0.51 ^a	229	1.4
	Modificado	81:19 ^b	2.41 ± 0.76 ^b	204	1.3
Hylon VII	No modificado	33:67 ^b	1.03 ± 0.91 ^b	151	1.1
	Modificado	42:58 ^a	1.52 ± 0.72 ^a	187	1.2

AMP / AM: amilopectina: amilosa; MW: masa molar, g / mol; RGZ: radio de giro, nm: nanómetro; Mw / Mn (masa molar promedio en masa / masa molar promedio en número): polidispersidad; Nd: no detectado.

Valores son la media ± error estándar, de tres repeticiones. ^{a-c} Diferentes letras en el mismo tipo de almidón y columna representan diferencias estadísticas (P < 0.05).

Los datos sin desviación estándar corresponden a resultados de una repetición

OSA: Ácido Octenil Succínico.

HPSEC-MALS-RI: Cromatografía de exclusión por tamaño de alta presión con luz de dispersión de múltiples ángulos e índice de refracción.

Luego del tratamiento con OSA, la intensidad del pico de amilosa se redujo drásticamente, dejando solo una fracción de amilopectina, estos resultados pueden ser contrastados con la investigación de Bello-Pérez *et al.* (2017), donde se observan tiempos de eluciones similares y que para el almidón ceroso se observa la fracción de amilopectina y no así con las fracciones de amilopectina de los almidones normal y Hylon VII en este caso. Este resultado explica la tendencia de que la esterificación con OSA afecta principalmente a las cadenas de amilosa como lo expone Altuna *et al.* (2018).

Lo resultados con Hylon VII, se presentan en la figura 2c, donde aparece un pico hacia la izquierda, luego de la esterificación, lo que sugiere un menor tiempo de elución, este dato

se le podría atribuir a que la OSA en efecto tuvo más prevalencia en cadenas de amilosa. Podemos decir que la velocidad de hidrólisis de los almidones está relacionada con la masa molar de los almidones como se observa en el cuadro 8 y que el radio de giración está directamente relacionado con el tiempo de elución y masa molar del almidón puesto que aumenta según la estereificación.

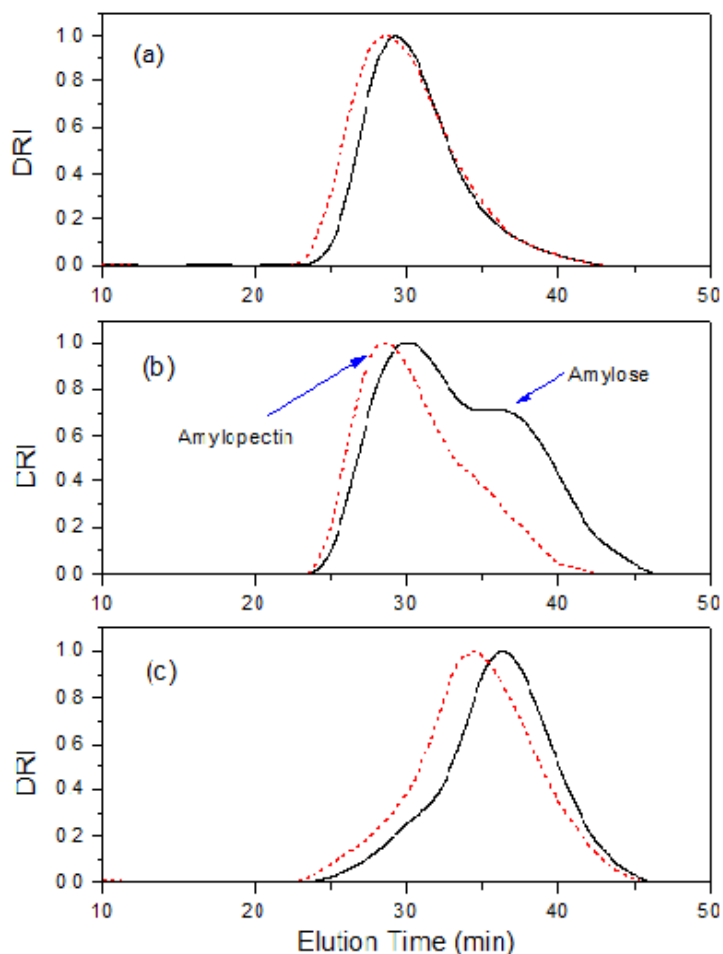


Figura 2. Patrón DRI (Índice de patrón diferencial) de no modificados (línea continua) y OSA-modificados (línea punteada) de los almidones de maíz: (a) ceroso o waxy, (b) normal y (c) Hylon VII
OSA: Ácido Octenil Succinico

El tiempo de hidrólisis completo donde se muestran el comportamiento durante la digestión del almidón se muestran en las figuras 3 y 4, donde cabe resaltar que para condiciones granulares y modificadas los almidones se comportaron de manera similar con una ligera disminución en el tiempo y tasa de hidrólisis esto probablemente por la inducción de la modificación química. El aumento de la tasa de hidrólisis está relacionado con el aumento del peso molecular en la estructura del almidón, aunque el contenido de amilosa en este caso no fue tan relevante en el cambio de la tasa de digestión. Para este caso el cambio en

la tasa de hidrólisis está más relacionado con otras estructuras moleculares como, por ejemplo, la cristalinidad relativa y el peso molecular que tiene una gran influencia en la digestibilidad.

La modificación OSA tiene un gran efecto en la formación de almidones resistentes, y disminuye aquel almidón de digestión rápida que es de vital importancia para la industria de la salud.

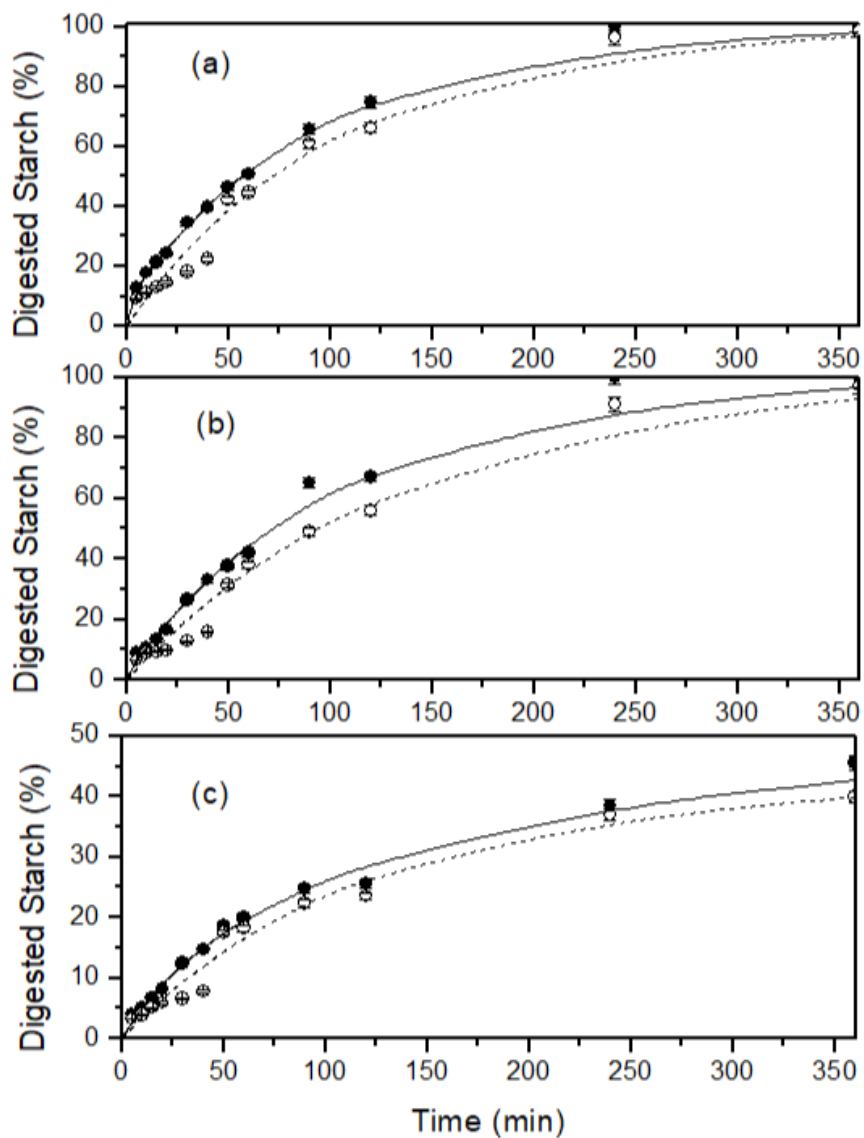


Figura 3. Cinética de la digestión enzimática en condiciones granulares: (a) maíz ceroso, (b) maíz normal, y (c) Hylon VII.

Símbolos: ● Nativo, y ○ modificado por OSA. Línea continua: ajuste de almidón nativo y línea discontinua: ajuste de almidón modificado por OSA.

OSA: Ácido Octenil Succinico

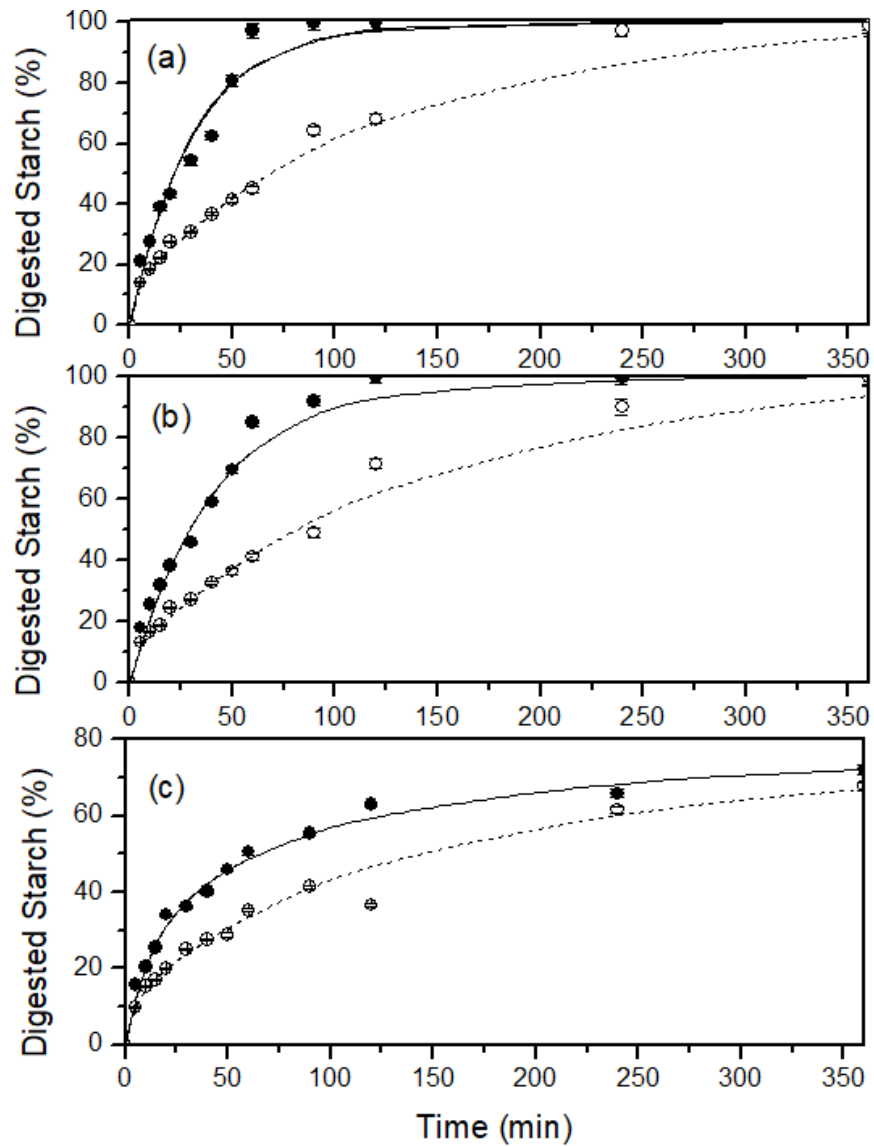


Figura 4. Cinética de la digestión enzimática en condiciones de cocción: (a) maíz ceroso, (b) maíz normal y (c) Hylon VII.

Símbolos: ● Nativo, y ○ modificado por OSA. Línea continua: ajuste de almidón nativo y línea discontinua: ajuste de almidón modificado por OSA.

OSA: Ácido Octenil Succinico

4. CONCLUSIONES

- Se determinó una relación significativa entre la tasa de digestión del almidón y las características moleculares del almidón, incluyendo aquellas estructuras en la distribución de ramificaciones y cadenas de amilosa y amilopectina.
- Se encontró que la esterificación con OSA redujo la digestibilidad de los almidones, sin tomar en cuenta el contenido de amilosa.
- Los resultados sugieren que OSA actúa como un agente de entrecruzamiento, lo cual aumenta el peso molecular aparente y sugiere que es más resistente a hidrólisis de enzimas amilolíticas.
- La relación amilosa:amilopectina se vio afectada por los grados de sustitución, así como el radio de giro.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar una fermentación colónica y determinar si los almidones esterificados con OSA mantienen una actividad prebiótica.
- Desarrollar diferentes concentraciones de OSA para determinar si el aumento de la concentración afecta otros parámetros como la estabilidad en emulsión.

6. LITERATURA CITADA

- AACC, American Association of Cereal Chemists International. 2009. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 11th Ed. Method 32-40.01. Resistant Starch in Starch Samples and Plant Materials-Rapid Method, for Corn. St. Paul, MN, U.S.A. <http://dx.doi.org/10.1094/AACCIntMethod-32-40-01>.
- AOAC, Association of Official Agricultural Chemists. 2002. Official Methods of Analysis of AOAC International, 20th Ed. Method 2002.01. Measurement of Resistant Starch by Enzymatic Digestion in Starch and Selected Plant Materials. Ed. Rockville, MD: AOAC International. 85: 1103-1111.
- Agama-Acevedo E, Flores-Silva PC, Bello-Perez LA. 2019. Cereal Starch Production for Food Applications. En: Starches for Food Application. [Chapter 3]: Elsevier. p. 71–102.
- Altuna L, Herrera ML, Foresti ML. 2018. Synthesis and characterization of octenyl succinic anhydride modified starches for food applications. A review of recent literature. Food Hydrocolloids. 80:97–110. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.01.032.
- Alves LA, Lorenzo JM, Gonçalves CA, Santos BA, Heck RT, Cichoski AJ. 2016. Production of healthier bologna type sausages using pork skin and green banana flour as a fat replacers. Meat Science, 121, 73–78.
- Arijaje E & Wang Y. 2016. Effects of enzymatic modifications and botanical source on starch–stearic acid complex formation. Starch/Staerke. 68:700-800.
- Bajaj R, Singh N, Kaur A. 2019. Properties of octenyl succinic anhydride (OSA) modified starches and their application in low fat mayonnaise. Int J Biol Macromol. 131:147–157. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.03.054.
- Bello-Perez LA, Agama-Acevedo E, Garcia-Valle DE, Alvarez-Ramirez J. 2019. A multiscale kinetics model for the analysis of starch amylolysis. Int J Biol Macromol; 122:405–409. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.10.161.
- Bello-Pérez LA, Flores-Silva PC, Agama-Acevedo E & Tovar J. (2018). Starch digestibility: Past, present, and future. Journal of the Science of Food and Agriculture. 75: 117-123. doi.org/10.1002/jsfa.8955.
- Bello-Pérez LA, Rodriguez-Ambriz SL & Lozano-Grande MA. 2017. Molecular characterization of starches by AF4-MALS-RI: An alternative procedure. Journal of Cereal Science. 75: 132–134
- Chen B, Zhang B, Li MN, Xie Y & Chen HQ. 2018. Effects of glutenin and gliadin modified by protein-glutaminase on pasting, rheological properties and microstructure of potato starch. Food Chemistry. 253: 148–155

- Chen L, Tian Y, Zhang Z, Tong Q, Sun B, Rashed MM, Jin Z. 2017. Effect of pullulan on the digestible, crystalline and morphological characteristics of rice starch. *Food Hydrocolloids*. 63: 383e390.
- Chen X, He X, Fu X, Huang Q. 2015. In vitro digestion and physicochemical properties of wheat starch/flour modified by heat moisture treatment. *Journal of Cereal Science*. 63: 109e115.
- Dona AC, Pages G, Gilbert RG, Kuchel PW. 2010. Digestion of starch: In vivo and in vitro kinetic models used to characterise oligosaccharide or glucose release. *Carbohydrate Polymers*. 80 (3): 599–617. doi:10.1016/j.carbpol.2010.01.002.
- Englyst HN, Kingman S & Cummings J. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*. 46: S33eS50.
- Han H, Zhang H, Li E, Li C, Wu P. 2019. Structural and functional properties of OSA-starches made with wide-ranging hydrolysis approaches. *Food Hydrocolloids*. 90:132–145. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.12.011.
- Han J & Be-Miller, J. 2007. Preparation and physical characteristics of slowly digesting modified food starches. *Carbohydrate Polymers*. 67: 366–374.
- Haq F, Yu H, Wang L, Teng L, Haroon M, Khan RU, Mehmood S, Bilal-Ul-Amin, Ullah RS, Khan A, et al. 2019. Advances in chemical modifications of starches and their applications. *Carbohydr Res*. 476:12–35. eng. doi:10.1016/j.carres.2019.02.007.
- Homayouni A, Amini A, Keshtiban AK, Mortazavian AM, Esazadeh K, Pourmoradian S. 2014. Resistant starch in food industry: a zhenging outlook for consumer and producer. *Starch - Stärke*. 66 (1-2):102–114. doi:10.1002/star.201300110.
- Królikowska K, Fortuna T, Pietrzyk S, Gryszkin A. 2017. Effect of modification of octenyl succinate starch with mineral elements on the stability and rheological properties of oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*. 66:118–127. doi:10.1016/j.foodhyd.2016.12.012.
- Latimer G. 2016. Official methods of analysis of AOAC International. 20th. Ed. Rockville, MD: AOAC International. 2 volumi ISBN: 0935584870.
- Lin Q, Liang R, Zhong F, Ye A, Singh H. 2018. Effect of degree of octenyl succinic anhydride (OSA) substitution on the digestion of emulsions and the bioaccessibility of β -carotene in OSA-modified-starch-stabilized-emulsions. *Food Hydrocolloids*. 84:303–312. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.05.056.
- Lin Q, Liang R, Zhong F, Ye A, Singh H. 2018. Interactions between octenyl-succinic-anhydride-modified starches and calcium in oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*. 77:30–39. doi:10.1016/j.foodhyd.2017.08.034.
- Liu W, Hong Y, Gu Z, Cheng L, Li Z, Li C. 2017. In structure and in - vitro digestibility of waxy corn starch debranched by pullulanase. *Food Hydrocolloids*. 67:104–110. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.12.036.
- Naguleswaran S, Vasanthan T, Hoover R, Bressler D. 2014. Amylolysis of amylopectin and amylose isolated from wheat, triticale, corn and barley starches. *Food Hydrocolloids*. 35: 686e693.
- Öztürk S, Mutlu S. 2019. Physicochemical Properties, Modifications, and Applications of Resistant Starches. En: *Starches for Food Application*. [sin lugar]: Elsevier. p. 297–332.

- Quiroga, Ledezma CC. 2008. Los almidones resistentes y la salud. D. 2008&I; 8(1):130–141. doi:10.23881/idupbo.008.1-9i.
- Remya R, Jyothi AN & Sreekumar J. 2018. Morphological, structural and digestibility properties of RS4 enriched octenyl succinylated sweet potato, banana and lentil starches. *Food Hydrocolloids*. 82: 219-229.
- Serinyel G, Öztürk S. 2016. Investigation on potential utilization of native and modified starches contain resistant starch as fat replacer in bakery products. *Starch Starke* 68, 1e9.
- Shaikh F, Ali TM, Mustafa G, Hasnain A. 2019. Comparative study on effects of citric and lactic acid treatment on morphological, functional, resistant starch fraction and glycemic index of corn and sorghum starches. *Int J Biol Macromol*. 135:314–327. eng. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.05.115.
- Simsek S, Ovando-Martinez M, Marefati A, Sjöo M, Rayner M. 2015. Chemical composition, digestibility and emulsification properties of octenyl succinic esters of various starches. *Food Res Int*. 75:41–49. eng. doi:10.1016/j.foodres.2015.05.034.
- Sweedman MC, Hasjim J, Tizzotti MJ, Schafer C & Gilbert RG. 2013. Effect of octenyl succinic anhydride modification on b-amylolysis of starch. *Carbohydrate Polymers*. 97(1): 9e17. Doi: org/10.1016/j.carbpol.2013.04.041.
- Timgren A, Rayner M, Dejmeck P, Marku D, Sjöo M. 2013. Emulsion stabilizing capacity of intact starch granules modified by heat treatment or octenyl succinic anhydride. *Food Sci Nutr*. 1(2):157–171. doi:10.1002/fsn3.17.
- Villarroel P, Gómez C, Vera C, Torres J. 2018. Almidón Resistente: Características tecnológicas e intereses fisiológicos. *Rev. Chil. Nutr*. 45(3):271–278. Doi:10.4067/S0717-75182018000400271.
- Wang C, Tang C, Fu X, Huang Q & Zhang B. 2016. Granular size of potato starch affects structural properties, octenylsuccinic anhydride modification and flowability. *Food Chemistry*. 212: 453-459.
- Wang H, Zhang B, Chen L, Li X. 2016. Understanding the structure and digestibility of heat-moisture treated starch. *International Journal of Biological Macromolecules*. 88: 1e8.
- Xu J, Shi Y-C. 2019. Position of acetyl groups on anhydroglucose unit in acetylated starches with intermediate degrees of substitution. *Carbohydrate Polymers*. 220:118–125. eng. doi:10.1016/j.carbpol.2019.05.059.
- Yao J, Zhou Y, Chen X, Ma F, Li P & Chen C. 2018. Effect of sodium alginate with three molecular weight forms on the water holding capacity of chicken breast myosin gel. *Food Chemistry*. 239: 1134–1142.
- Zhang B, Bai B, Pan Y, Li X-M, Cheng J-S, Chen H-Q. 2018. Effects of pectin with different molecular weight on gelatinization behavior, textural properties, retrogradation and in vitro digestibility of corn starch. *Food chemistry*. 264:58–63. Eng. Doi:10.1016/j.foodchem.2018.05.011.

7. ANEXOS

Anexo 1. Resultados de HPSEC-MALS-RI de pesos moleculares de amilosa para almidones de maíz sin modificar y modificados (3% OSA).

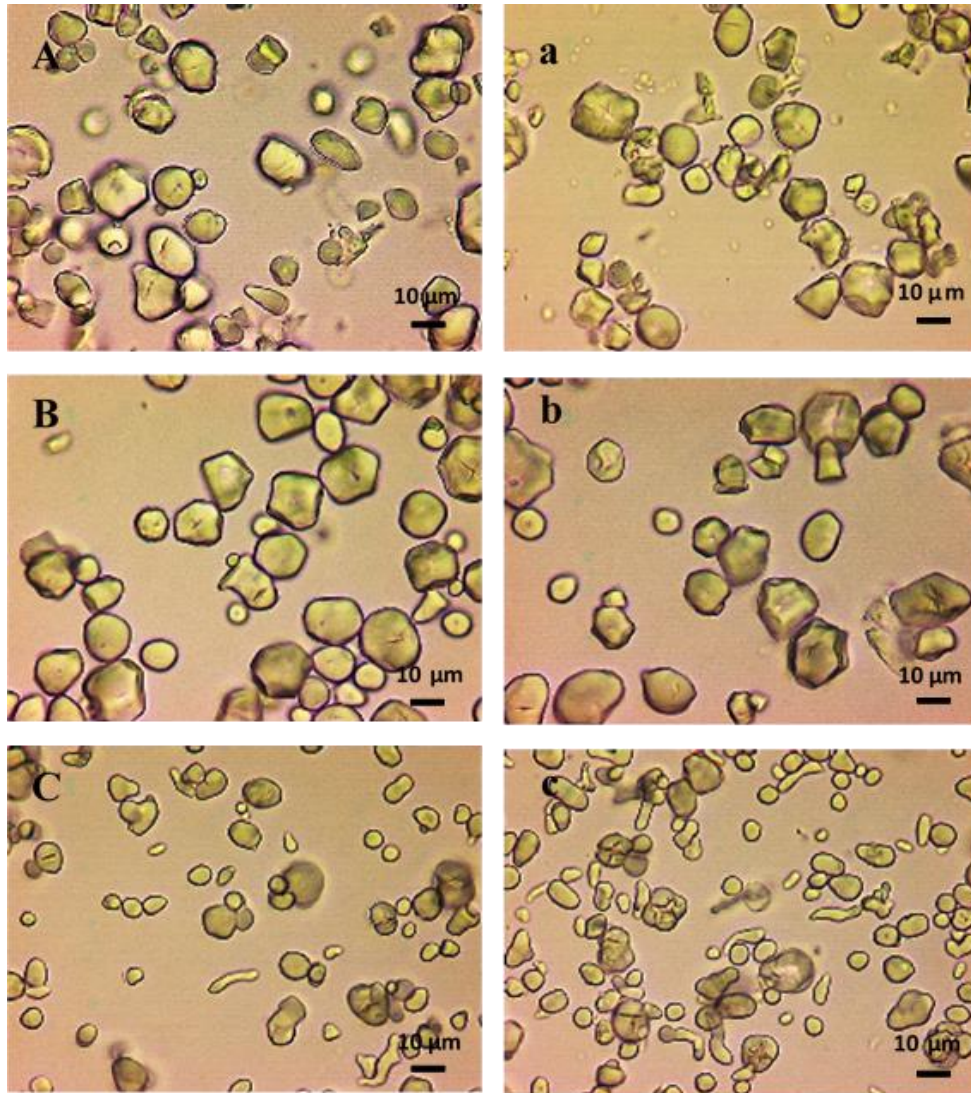
Almidón	Muestra	AMP/AM	AM Mw (x 10 ⁸ g mol ⁻¹)	AM RGZ (nm)	AM Mw/Mn (-)
Ceroso	No modificado	100:0 ^a	Nd	Nd	Nd
	Modificado	100:0 ^a	Nd	Nd	Nd
Normal	No modificado	75:25 ^a	1.2	131	1.1
	Modificado	81:19 ^b	7	178	1
Hylon VII	No modificado	33:67 ^b	2.7	117	1.1
	Modificado	42:58 ^a	3.1	146	1.1

AMP/AM: amilopectina: amilosa; MW: masa molar, g / mol; RGZ: radio de giro, nm: nanómetro; Mw / Mn (masa molar promedio en masa / masa molar promedio en número): polidispersidad; Nd: no detectado.

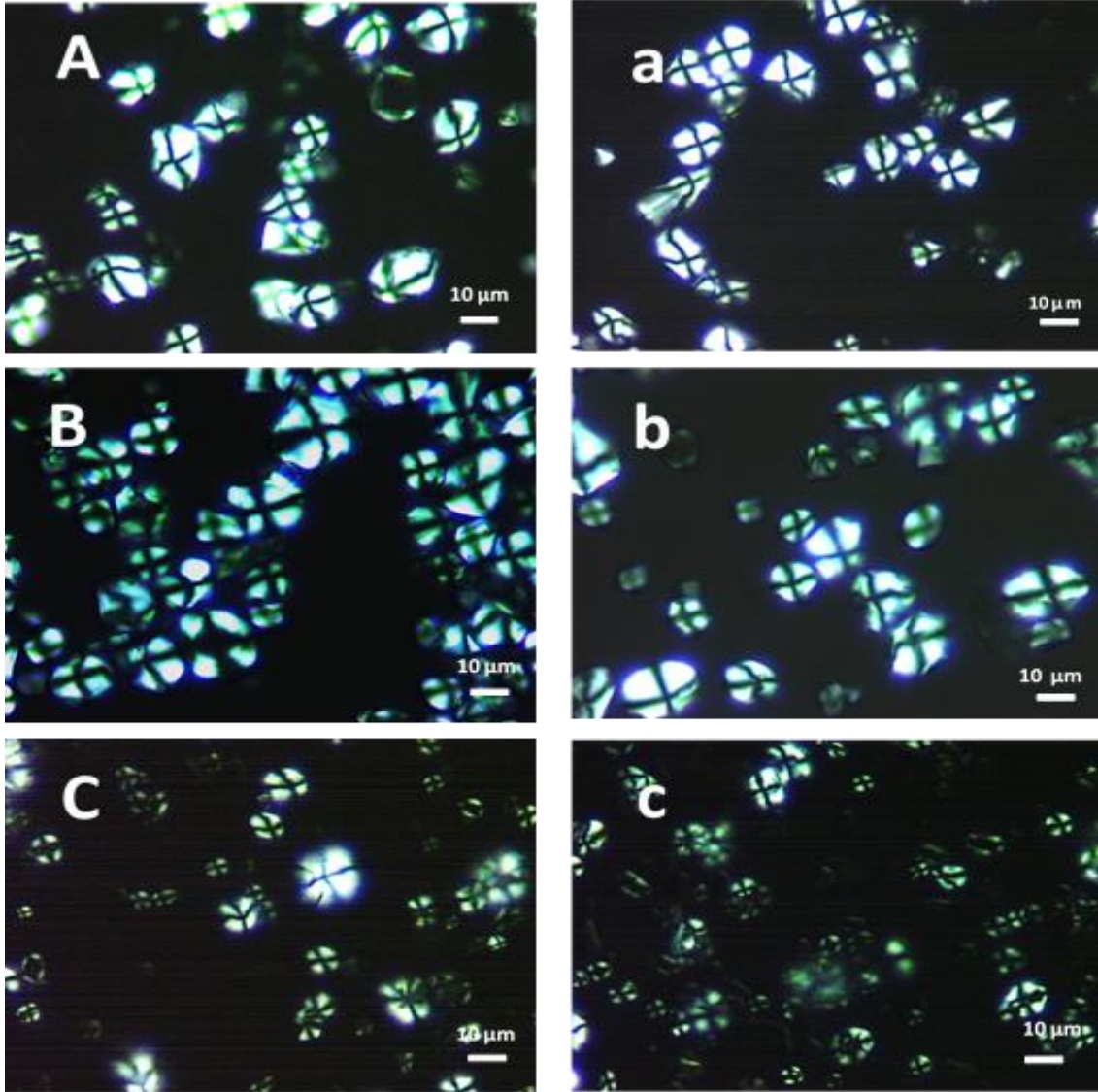
Los datos sin desviación estándar corresponden a resultados de una repetición

HPSEC-MALS-RI: Cromatografía de exclusión por tamaño de alta presión con luz de dispersión de múltiples ángulos e índice de refracción.

Anexo 2. Morfología de los gránulos de almidón de maíz sin modificar (izquierda) y modificados (derecha) con 3 % de OSA observados bajo microscopia de luz transmitida. Waxy (A, a); normal (B, b) y Hylon VII (C,c).

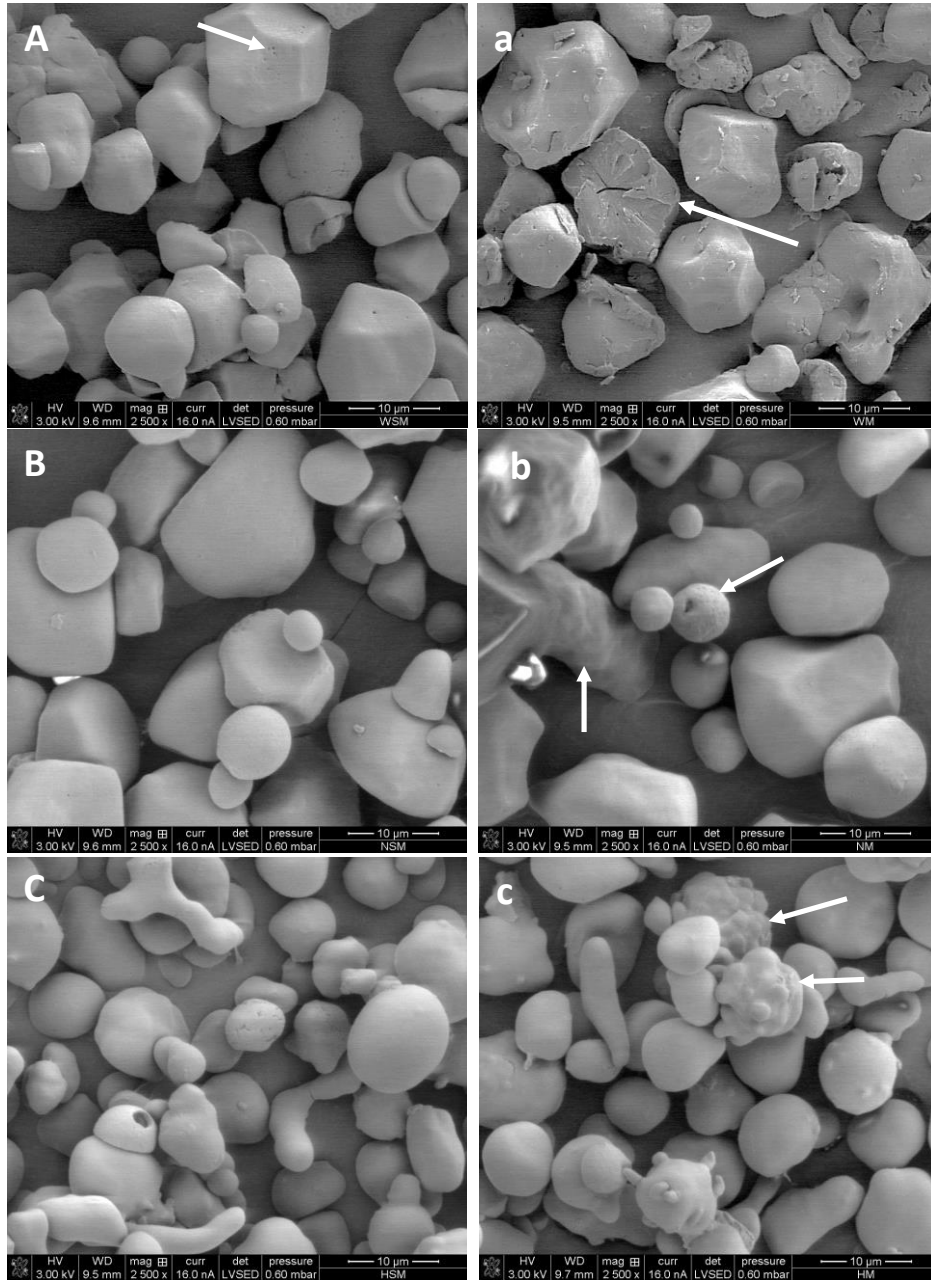


Anexo 3. Micrografías de los gránulos de maíz nativos (izquierda) y modificados (derecha) con 3 % de OSA observados bajo microscopia de luz polarizada. Waxy (A, a); normal (B, b) y Hylon VII (C,c).



Anexo 4. Micrografías electrónicas de barrido de almidón de maíz nativo (Izquierda) y modificado (derecha) con 3 % de OSA.

Waxy (A, a) las flechas señalan los poros sobre la superficie y los gránulos rotos; normal (B, b) las flechas indican las rugosidades y los poros presentes en la superficie del almidón y hylon VII (C, c) las flechas indican los aglomerados después de la esterificación.



Anexo 5. Microfotografías de la luz (A) y (B) microscopía de luz polarizada de las emulsiones estabilizadas por almidones de maíz nativo y OSA (3%) almidón modificado en siete días.

NW: nativo cerosa, MW: modificado cerosa, NN: normal nativa, MN: normal modificada, NH: nativa hylon VII, MH: modificado hylon VII. Condiciones: 550 mg/mL de aceite, 0,2 mol / L NaCl. La escala de la barra 10.

