



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**PROPIEDADES FISICO - QUIMICAS DE MOLECULAS
LINEALES NANO - ENCAPSULADAS EN
HELICES DE AMILOSA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
F I S I C O
P R E S E N T A:**

GABRIELA SANCHEZ ANDRADE



DIRECTOR DE TESIS:

DR. EDILSO REGUERA RUIZ

MEXICO, D. F.

2000

252719

Facultad de Ciencias
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY
MINISTERIO DE EDUCACION Y CULTURA



MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:
"Propiedades físico-químicas de moléculas lineales nano-encapsuladas
en hélices de amilosa"

realizado por SANCHEZ ANDRADE GABRIELA

con número de cuenta 9450355-1, pasante de la carrera de Física

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

Propietario

Propietario

Suplente

Suplente

DR. EDILSON REGUERA RUIZ

DR. CARLOS FEDERICO BUNGE MOLINA

DR. GERARDO CARMONA RUIZ

DRA. ROCIO LAUREGGI RENAUD

DR. CARLOS VILLARREAL LUJAN

E. M. R.
C. F. B. M.
G. C. R.
Rocio Laureggi Renaud
Carlos Villarreal

FACULTAD DE CIENCIAS
Consejo Departamental de Física

Patricia Goldstein M.
DRA. PATRICIA GOLDSTEIN-MENACHE
Coordinadora de Licenciatura

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
CAPITULO 1	
1.1. Concepto de almidones. Composición química. Estructura	6
1.1.1 Almidones. Origen. Importancia	6
1.1.2. Composición química de los almidones. Estructura química	7
1.1.3. Estructura cristalina de los almidones. Clasificación de los almidones de acuerdo a su estructura cristalina.	9
1.1.3.1 Estructura cristalina de los almidones	9
1.1.3.2 Clasificación de los almidones de acuerdo a su estructura cristalina	14
1.2. Concepto de lípidos. Grasas y aceites. Estructura y propiedades	17
1.2.1. Lípidos. Origen. Importancia	17
1.2.2. Grasas y aceites. Composición. Estructura	18
1.2.3. Ácidos grasos	21
1.3. Compuestos de inclusión con almidones	25
1.3.1. Clatrato de amilosa con ácidos grasos. Condiciones de formación. Propiedades.	26
1.3.2. Estructura de los clatratos de amilosa con ácidos grasos	28
1.3.3. Métodos de estudio de clatratos de amilosa con ácidos grasos. DRX, RMN, DSC, IR	29
CAPITULO 2	
2.1. Origen y preparación de las muestras	36
2.2. Métodos experimentales empleados	37
2.2.1 DRX	37
2.2.2 IR	39
2.2.3 DSC	47
CAPITULO 3	
Resultados y Discusión	53
CONCLUSIONES	74
REFERENCIAS	76

RESUMEN

Nuestro propósito en esta tesis es exponer las características generales de los lípidos y los almidones con el fin de mostrar qué influencia tienen aquellos en las propiedades físico-químicas del almidón, cuando interactúan. El estudio se concentró en la interacción particular de los ácidos grasos con la amilosa (el componente lineal de los dos que conforman al almidón) en la que forman "clatratos", compuestos de inclusión amilosa-ácido graso. Para obtener los clatratos se buscó replicar las condiciones características de la producción de alimentos ricos en almidón, de cuyos procesos se sabe muy poco. Nos enfocamos, en particular, en reproducir las condiciones en las que se lleva a cabo la nixtamalización, ya que durante la cocción alcalina del maíz ocurre la saponificación parcial de las grasas del germen dando lugar a sales de ácidos grasos los cuales reaccionan con la amilosa gelatinizada del endospermo formando compuestos de inclusión (esta es la forma en la que se ha identificado al Ca en los almidones) Así pues, la finalidad de este estudio es corroborar que en las condiciones del proceso de nixtamalización puede ocurrir la formación de clatratos entre la amilosa y las sales de ácidos grasos que resultan de la saponificación parcial de las grasas

Utilizando técnicas experimentales como DRX, IR y DSC se pudo determinar las características físicas de los compuestos de inclusión de amilosa con ácidos grasos, con entre 3 y 22 carbonos en su cadena. La DRX nos permitió monitorear las propiedades cristalinas y estructurales, la espectroscopía de absorción de IR nos dio información acerca de la configuración de los enlaces presentes en los compuestos, y las propiedades térmicas junto con la estabilidad del compuesto fueron obtenidas mediante los estudios de DSC

Encontramos que los ácidos carboxílicos de cadena corta (número de C \leq 6) no son capaces de formar compuestos de inclusión con la amilosa helicoidal, o, posiblemente, tienen una muy baja probabilidad de hacerlo, ya que si llegan a formar compuestos de inclusión con la amilosa, estos no modifican la organización o el tamaño de los cristales de la amilosa, ni sus propiedades térmicas. Por el contrario, los ácidos carboxílicos de cadenas largas (número de C \geq 10) tienen la habilidad de formar clatratos con la amilosa helicoidal. Hay un aumento en el tamaño de los cristales cuando se forman los clatratos, este crecimiento es sobre una dirección preferencial y es simultáneo al aumento de la longitud de la cadena alifática de los ácidos. Al formarse los clatratos coexisten hélices con diferente número de residuos de amilosa y diferente grado de humedad, dando diferentes grados de estabilidad. Sin embargo, puede apreciarse que la temperatura de disociación del clatrato crece al aumentar la longitud de la molécula huésped. Aparentemente hay una transición en los cristales cuando se forman los clatratos, en la que pasan de una conformación de B-amilosa a otra de V-amilosa. La explicación que se da a este fenómeno es que las moléculas de agua que inicialmente se encontraban dentro de los cristales y de la estructura helicoidal de la amilosa son desplazadas por las cadenas hidrofóbicas de los ácidos grasos al entrar a la hélice. El ácido graso, cuando forma un clatrato, se neutraliza al establecer puentes de hidrógeno entre el grupo carboxílico del ácido y los residuos glucosídicos de la amilosa, formando así una pseudo-sal.

La hélice de amilosa es capaz de asimilar irregularidades estéricas de la molécula huésped, como la no-linealidad de los ácidos grasos insaturados. Sin embargo, estas irregularidades alteran la estabilidad de la estructura cristalina, reflejándose en una disminución de la temperatura de transición donde se rompe el orden cristalino y la temperatura de disociación del clatrato.

INTRODUCCIÓN

El almidón ha sido parte fundamental de la dieta del hombre desde los tiempos prehistóricos, además de que se le ha dado un gran número de usos industriales. Después de la celulosa, es probablemente el polisacárido más abundante e importante desde el punto de vista comercial. Sin embargo, el uso principal de los almidones no es debido a su importancia nutricional sino a su capacidad estética. Es un biopolímero muy valorado por su habilidad de modificar la textura y la consistencia de la comida. El almidón influye de manera determinante en las propiedades sensoriales y reológicas de los alimentos, principalmente mediante su capacidad de hidratación y gelatinización. No solo es importante la cantidad de almidón para texturizar un producto alimenticio, el tipo de almidón es igualmente crítico. La composición y las propiedades del almidón están regidas genéticamente y varían dependiendo de la planta (tipo y edad) de origen y pueden ser modificados por medio de tratamientos físicos y químicos para desarrollar cierta funcionalidad.

Si queremos entender y controlar los atributos de textura y digestibilidad de la comida rica en almidón, es fundamental que determinemos la estructura y los cambios físico-químicos que sufre el almidón durante los procesos térmicos y durante el almacenado. Como el almidón es solo uno de los muchos componentes de los alimentos naturales y procesados, debemos de considerar la influencia de otros constituyentes en sus propiedades físicas. Las interacciones entre las moléculas de almidón con lípidos, proteínas, y otros carbohidratos deben de tener efectos significativos en propiedades tales como la gelatinización, la solubilidad y la retrogradación, y por lo tanto alteran la forma de su estado físico y la disponibilidad del almidón en los productos alimenticios.

En nuestra cultura el almidón más usado es el proveniente del maíz, representando la fuente principal de alimentación del mexicano, lo mismo en su estado natural que en forma de tortilla, o en cualquier producto derivado de la masa *nixtamalizada*. La *nixtamalización* es el proceso de cocción del maíz por medio de una base de cal Ca(OH)_2 . El *nixtamal* es molido para formar la masa, la cual puede ser usada o secada para obtener harina de maíz nixtamalizado. Sin embargo, a pesar de su gran importancia y utilización desde hace más de 8 siglos dentro de la cultura mexicana, se desconocen muchos aspectos de este proceso de nixtamalización. En realidad se sabe muy poco de cómo

sucedan los cambios físicos y químicos donde participa el almidón, hay poca información acerca de cómo interacciona el almidón con el resto de los componentes del maíz (como grasas, proteínas, vitaminas, ácidos grasos, . . .), si se modifica y cómo se modifica su estructura, los elementos que intervienen en este proceso, cual es el papel del tiempo y de la temperatura, etc.

El maíz contiene diversos nutrientes distribuidos selectivamente en alguna de las tres partes del grano: pericarpio, germen y endospermo. El pericarpio es rico en fibras: celulosa y hemicelulosa y lignina; el endospermo está formado (casi solo) por almidones: amilosa y amilopectina; y en el germe se encuentran la mayor cantidad de los lípidos, principalmente los triglicéidos.

En la nixtamalización el Ca es retenido fundamentalmente en la cubierta del grano (pericarpio) y en el germen. En este último el Ca se encuentra en forma de sal de ácido graso, resultado de una saponificación parcial de las grasas durante la cocción alcalina. Los lípidos se pueden dividir en lípidos saponificables (susceptibles a hidrólisis en un medio alcalino para formar una sal, ver Secc. 1 2.2) y lípidos no saponificables. El Ca incorporado en el endospermo durante el proceso de nixtamalización está en compuestos de inclusión de sales de Ca de ácidos grasos dentro de la estructura helicoidal de la amilosa. En la nixtamalización el medio alcalino ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) favorece la disolución parcial del pericarpio y la degradación de las paredes celulares en los gránulos de almidón, lo que facilita la entrada del medio alcalino al interior de estos gránulos. En estas condiciones puede ocurrir la neutralización de los ácidos grasos libres que se encuentran formando clatratos con la amilosa, consecuentemente formando sales de Ca que permanecerán también como complejos de inclusión. También se espera que los fosfolípidos se saponifiquen, siendo estas dos las posibles vías de incorporación de Ca al endospermo a través de los lípidos de carácter endógeno [Reguera]

El objetivo de este trabajo es simular las condiciones -específicamente las del proceso de nixtamalización- en las que naturalmente ocurren estas interacciones entre el almidón (principalmente su componente lineal, la amilosa) y los lípidos

La interacción entre almidones y lípidos se manifiesta de varias formas diferentes. Se pueden usar un gran número de técnicas experimentales para dicho fin, como métodos reológicos, microscopía electrónica de barrido (MEB), micro-análisis por espectroscopía de rayos-X (EDX), difracción de rayos-X (DRX), espectroscopía Raman e infrarroja (IR) y

calorimetría de barrido diferencial (DSC). En este caso utilizamos las técnicas de DRX, IR y DSC.

En este trabajo, para el estudio de las propiedades de los compuestos de inclusión (clatratos) de amilosa con ácidos, se utilizó. (a) el análisis de DRX para analizar las propiedades cristalinas, (b) espectros IR para encontrar las propiedades de enlace entre las dos moléculas y (c) DSC donde se puede conocer las propiedades térmicas.

CAPITULO 1

1.1 Concepto de almidones. Composición química. Estructura

1.1.1 Almidones. Origen. Importancia.

La historia del hombre ha ido siempre acompañada por la presencia del almidón como ingrediente principal de su alimentación. La importancia de este glúcido es reconocida por todas las culturas. Resulta casi imposible imaginar la vida y la alimentación de los europeos sin la papa, de los orientales sin el arroz y de los americanos sin la yuca y el maíz.

Aunado a su indiscutible importancia nutricional dentro de la dieta humana, es también un excelente material para modificar la textura y consistencia de la comida. El almidón es también ampliamente usado gracias a estas propiedades “estéticas” que sirven para manipular los productos alimenticios, sin importar tanto su valor nutricional. A tal grado llega su uso como agente modificador de la textura de otros materiales, que incluso existe el almidón comercial para darle rigidez y forma a la ropa

Este uso fundamental del almidón dentro de la vida del hombre es sólo un reflejo de su papel crucial dentro del reino vegetal. El almidón es el polisacárido de reserva más importante en las células vegetales, constituyendo entre el 20-70% de su peso [Manners, 1985]. Se encuentra en los cereales, tubérculos, raíces, hojas, semillas y en algunas frutas como polisacárido de reserva energética y su concentración varía con el estado de madurez; el caso del plátano es muy indicativo en este sentido, en estado verde o inmaduro, el almidón constituye la mayor fracción de los hidratos de carbono, ya que los azúcares son muy escasos; a medida que la fruta madura, el polisacárido se hidroliza por la acción de la amilasa, y mediante otros sistemas enzimáticos se sintetiza sacarosa y fructosa que se encuentran cuando llegan a la madurez. Por otro lado, en los tejidos de hojas donde también se encuentra, es transitorio y su contenido no excede del 1-2%

Se encuentra en la célula formando pequeños corpúsculos discretos que reciben el nombre de gránulos, los cuales son insolubles en agua. Este almacenamiento en forma de gránulos es un método conveniente ya que al ser una fuente de energía insoluble puede ser disponible gradualmente a través de la acción enzimática. En el tejido vegetal, éstos ejercen una presión osmótica muy baja, con la que la planta almacena grandes cantidades de

glucosa de una manera muy accesible sin tener que romper el balance de agua interior. Estos gránulos son microscópicos, con tamaños que van desde 3 - 8 μm de diámetro, para el almidón del maíz, y hasta 100 μm para gránulos de almidón como el de la papa [Biliaderis, 1989a]. La forma y tamaño de los gránulos es una de las características de la edad, del tipo y de la planta misma.

A pesar de estas diferencias en los tipos de almidones, todos ellos están constituidos por dos tipos de carbohidratos: la amilosa y la amilopectina. Estas moléculas sintetizadas por enzimas, dentro de la célula, en los plastos conocidos como amiloplastos y posteriormente depositados como gránulos de almidón. La mayor parte de las células vegetales tienen capacidad para sintetizar almidón, pero es especialmente abundante en tubérculos, como la papa, y en semillas como el maíz. La estructura rígida de los gránulos está integrada por capas concéntricas de amilosa y de amilopectina distribuidas radialmente. La labor de estudiar la composición y estructura de los gránulos de almidón es complicada, debido a la tendencia que tienen sus moléculas a asociarse entre ellas por medio de enlaces secundarios, como el caso del puente de hidrógeno.

1.1.2 Composición química de los almidones. Estructura química.

El almidón debe gran parte de sus propiedades y funciones (e.g., como agente engrosador, cargador de sabor, liga entre componentes de alimentos) a sus dos componentes de alto peso molecular, la amilosa y la amilopectina, y a la organización física de estas macromoléculas dentro de la estructura granular. Es por esto que la estructura del almidón debe de ser considerada desde dos niveles distintos: (i) a un nivel molecular, que se refiere a la cantidad, estructura fina, tamaño y forma de las moléculas que lo componen y (ii) la estructura supramolecular del gránulo

Químicamente el almidón es un homopolímero de α -D-glucosa, formado por dos de estos tipos de polímeros de glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$): la amilosa y la amilopectina. La amilosa, el homopolímero esencialmente lineal^a, consiste de cadenas largas no ramificadas, con un grado de polimerización (el número de residuos de glucosa por grupo reductor) del orden de varios cientos de residuos de D-glucosa conectadas por enlaces ($\alpha 1 \rightarrow 4$) (Fig.1 1) La

amilopectina, en cambio, es el polímero del almidón altamente ramificado, tiene un grado de polimerización del orden de varios cientos de miles de residuos de glucosa (Fig.1 2a) Los enlaces glucosídicos que unen residuos sucesivos de glucosa en la amilopectina son del tipo ($\alpha 1 \rightarrow 4$), pero los puntos de ramificación, que se producen cada 24 a 30 residuos, son enlaces ($\alpha 1 \rightarrow 6$) (Fig 1.2b).

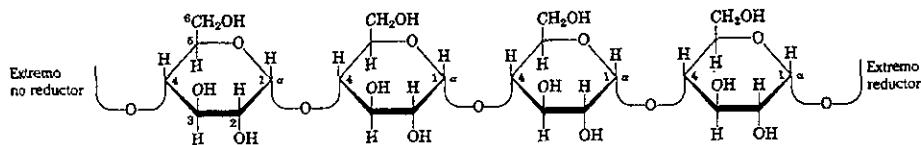


Figura 1.1. Amilosa, un polímero lineal de unidades de D-glucosa unidas por enlaces ($\alpha 1 \rightarrow 4$). Cada cadena de polímero puede contener varios miles de moléculas de D-glucosa

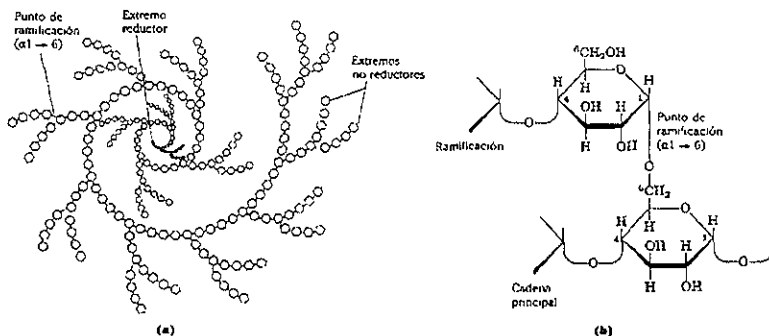


Figura 1.2.(a) Amilopectina Cada hexágono representa un residuo de glucosa Aquí se muestra sólo una pequeña parte de una molécula mucho más grande. **(b)** Estructura de un punto de ramificación ($\alpha 1 \rightarrow 6$)

Los componentes del almidón también difieren en características como: el peso molecular, la longitud de la cadena y el grado de polimerización. La amilosa tiene un peso molecular que está entre $1.5 \times 10^5 - 10^6$ u.m.a; una longitud de la cadena de

* Aunque es ya aceptado [Manners, 1985] que la amilosa no es completamente lineal (10-20 ramificaciones/molécula), sus propiedades en soluciones son típicas de un polímero lineal

aproximadamente de 10^3 residuos de glucosa en el que cada residuo de $C_6H_{10}O_5$ (glucosa) tiene un peso cercano a 162 *u.m.a.*, y un grado de polimerización de alrededor de 10^3 . La amilopectina, en cambio, tiene un peso molecular de alrededor $5 \times 10^7 - 10^8$ *u.m.a.*; de 20 - 30 residuos de glucosa a lo largo de su cadena, y un grado de polimerización de entre $10^4 - 10^5$ [Biliaderis, 989a].

La mayoría de los almidones de los cereales, están formados de aproximadamente 75-80% de amilopectina y 20-25% de moléculas de amilosa. En el caso del maíz, por ejemplo, entre el 60-80% es de amilopectina mientras que sólo un 20-40% es de amilosa. Una concentración (ligeramente) mayor de amilopectina es característica del almidón de las raíces, sin embargo, esta como caso particular el maíz ceroso ("waxy corn" y el "waxy milo starch") que consiste casi en un 100% de amilopectina

1.1.3 Estructura cristalina de los almidones. Clasificación de los almidones de acuerdo a su estructura cristalina.

1.1.3.1 Estructura cristalina de los almidones.

De acuerdo a la teoría clásica, la cristalización involucra tres pasos secuenciales. (i) nucleación, (ii) propagación del crecimiento de cristales, y (iii) el perfeccionamiento de cristales ("annealing").

En el almidón, sólo una pequeña parte del gránulo es cristalina. Se puede pensar en el gránulo como una matriz de gel en la que reposan las regiones cristalinas, siendo estos cristallitos los que dan origen a los patrones de rayos X. Por otra parte, la fase de gel (la región amorfa) es menos densa y más susceptible a modificaciones químicas y enzimáticas y también absorbe agua más rápidamente a temperaturas debajo de la temperatura de gelatinización. Entonces, la difusión de moléculas pequeñas dentro del gránulo de almidón y el hinchamiento ante hidratación son propiedades asociadas al gel o fase amorfa. Se cree que la amilopectina es la que se encuentra en la fase amorfa, mientras que la amilosa es la responsable de las zonas cristalinas. Debido a la fina y rebuscada estructura de la amilopectina, no hay una demarcación aguda entre los cristales y la zona amorfa del almidón, en cambio, hay un rango de estructuras entre los bien definidos cristales y la región totalmente desordenada.

El almidón, como otras moléculas parcialmente cristalinas, se puede encontrar en diversos estados metaestables (estados de no-equilibrio), dependiendo de su historia termomecánica. Esto se debe a la capacidad que tiene el almidón de sufrir transformaciones -a través de fenómenos propios del almidón- en su estructura, haciendolo susceptible al perfeccionamiento de los cristales. Las transformaciones dependen de diversos factores físicos como lo son la cantidad de agua, la temperatura y el tiempo de reposo.

Los fenómenos básicos del almidón son la gelatinización, el hinchamiento, y la retrogradación

HINCHAMIENTO Y GELATINIZACIÓN DE ALMIDONES

Los gránulos de almidón son naturalmente insolubles en agua cuando se encuentran a temperaturas menores a la temperatura de gelatinización. Se hinchan al hidratarlos a temperaturas bajas, aumentando su volumen de 10 a 20%, gracias a la difusión y absorción de agua en las zonas amorfas (de amilopectina). Este hinchamiento es reversible al secar (deshidratar) el almidón. Sin embargo, cuando el almidón se calienta junto con agua (en una mezcla de almidón y agua) llevándolo a temperaturas mayores la de la gelatinización, se llega a un punto en el que el hinchamiento se vuelve irreversible y desaparece el orden estructural, esto se detecta gracias a que hay una pérdida de cristalinidad y de birrefringencia. Mientras continua el aumento volumétrico de los gránulos, el estado natural de doble hélice de la amilosa va cambiando a uno de dos hélices sencillas, estas se salen (exudan) al espacio intergranular formando así una nueva fase acuosa que provoca un aumento de la viscosidad.

El grado de hinchamiento, de desintegración del gránulo y de la exudación de amilosa depende del tipo de almidón, la concentración de almidón en la mezcla almidón-agua, la temperatura, la presencia de otros solutos y la agitación (energía mecánica) aplicada durante el calentamiento.

Al proceso donde se lleva a cabo la ruptura de la estructura granular como resultado de la hidratación, el hinchamiento y la solubilización de las moléculas de amilosa (por exudación), se le conoce como *gelatinización*. La gelatinización se toma como el proceso de fusión de los cristales de almidón.

La magnitud de este proceso irreversible, la gelatinización, depende de varios factores físicos como lo son la temperatura, la cantidad de agua, la difusión del agua en el gránulo, la fusión ayudada por la hidratación de los cristales y el hinchamiento por

hidrataciones sucesivas de las cadenas poliméricas desordenadas. Sólo la fusión y el hinchamiento exhiben dependencia del tiempo

Cuando una suspensión acuosa de almidón se calientan a temperaturas menores a la de la gelatinización, se perturban las zonas de los gránulos de almidón y alteran sus propiedades físicas, sin dañar su estructura cristalina. Las alteraciones pueden ser: un aumento en la temperatura de gelatinización y un rango de temperaturas más estrecho sobre el cual ocurre la fusión de los cristales de amilosa tratados térmicamente. Esto puede ser debido a una reorganización y un perfeccionamiento de la estructura granular. Como ejemplo de esto están los tratamientos de calor-húmedo (95-100°C y contenido de agua de 18-25%) en los gránulos de almidón, a temperaturas menores a la de la gelatinización, produciendo una conversión de patrones de DRX, llevando el patrón típico de tubérculos (tipo *B*) a uno propio de cereales (el tipo *A*), cambiando también las propiedades físicas a las características de los cereales.

De acuerdo con Atwell et al. [Atwell], por definición en su "Terminología asociada con fenómenos básicos del almidón" 'la *gelatinización* es el proceso en el que se forma un gel. Hay pérdida de birrefringencia granular vista microscópicamente bajo luz polarizada. La gelatinización del almidón es la ruptura del orden molecular dentro del gránulo de almidón, manifestado en cambios irreversibles en propiedades como el hinchamiento, fusión de los cristales nativos, pérdida de birrefringencia, y solubilidad del almidón. El punto de la gelatinización inicial y el rango sobre el cual ocurre están gobernados por la concentración de almidón, tipo de gránulo y heterogeneidades dentro de la población del gránulo'.

La dinámica del proceso de gelatinización se puede establecer en base a los tres procesos constituyentes. (i) difusión y absorción de agua provocando un hinchamiento -de las zonas amorfas, de amilopectina- en el gránulo; (ii) desorden en la estructura cristalina - fusión de cristales- gracias a la hidratación de los mismos; y el (iii) hinchamiento de los gránulos, exudación y solubilización de la amilosa

GELACIÓN Y RETROGRADACION DE LOS ALMIDONES

La *gelación* (o "*pasting*") es el fenómeno subsecuente a la gelatinización, en la disolución del almidón. Involucra, tras el hinchamiento granular consecuente a la hidratación y la ruptura de la estructura granular, un estado de desorden el cual favorece la exudación

de componentes moleculares, desde el cual eventualmente hay una ruptura total del granulo [Atwell].

Cuando se enfría el almidón gelatinizado se obtiene, dependiendo de la concentración del almidón en agua, la consistencia de una pasta floja o gel. A concentraciones mayores del 6% se establece un sistema donde los gránulos hinchados (ricos en amilopectina) se empotran en una matriz continua de moléculas de amilosa enmarañadas. Este complejo compuesto de polímeros se asienta como un gel viscoelástico en el que las moléculas se asocian principalmente por medio de puentes de hidrógeno entre las cadenas, en lugar de enlaces covalentes. Tomando tal sistema bifásico, el comportamiento reológico dependerá de la cantidad y características de ambas fases (la dispersa - gránulos hinchados ricos en amilopectina- y la continua -amilosa-) y de su interacción con el agua. La gelación del almidón es una cualidad determinante en la comida procesada, como productos horneados y tratados mecánicamente y sopas entre otros.

Los geles de almidón al estar en estados metaestables, son susceptibles a sufrir transformaciones estructurales (como posteriores reorganización de cadenas y recristalización) durante el reposo. En este tiempo de reposo, la amilopectina se reorganiza y eventualmente los cristallitos de amilosa se empiezan a formar, acompañado esto hay un aumento en la rigidez y la separación de fases entre el polímero de almidón y el solvente (sinérgesis). El término *retrogradación* describe al conjunto de estos procesos, y se cree que juegan un papel determinante en la textura y la capacidad de aceptación y de digestión de la comida que contiene almidón. A pesar de que se ha investigado bastante acerca de este fenómeno, no se tiene claro aún, a nivel molecular, el mecanismo exacto de la retrogradación. No solo es éste un fenómeno complejo, sino que también depende de muchos factores como: el tipo y la concentración de almidón, los regímenes de cocción y enfriamiento, el pH y la presencia de solutos (lípidos, sales y azúcares). Por ejemplo, se cree que la repetición de ciclos de congelar-derretir aceleran drásticamente la retrogradación y la sinérgesis.

Gracias a datos experimentales de estudios de calorimetría y DRX se cree que la razón del sabor rancio del pan se debe a la retrogradación. Originalmente se pensaba que la modificación de este alimento se debía a la facilidad de la amilosa a retrogradar y formar zonas cristalinas, pero posteriormente se encontró que también la amilopectina ejerce un efecto decisivo. Durante el cocimiento del pan parte de la amilosa se difunde fuera del

gránulo y retrograda en el momento de su enfriamiento, de manera que los restos de gránulos (ahora ricos en amilopectina) se ven rodeados por moléculas de polímero lineal; se considera que el envejecimiento se debe básicamente a la asociación de las cadenas de amilopectina que permanecen en el gránulo hinchado después de haber perdido parte de la amilosa. En el pan fresco, el polímero ramificado tiene todas sus ramas completamente extendidas, mientras que en el pan duro, están retrogradadas unidas entre sí y sin el agua original.

De acuerdo a esto, se puede considerar que la retrogradación del almidón consiste de dos procesos separables: (i) la recristalización de las moléculas de amilosa exudadas de los gránulos de almidón durante la gelación, y (ii) la reorganización de la amilopectina en el gránulo. El proceso inicial de rigidez, la consistencia de los geles de almidón, fue atribuido al rápido establecimiento de la matriz de cadenas de amilosa. El aumento subsecuente en la rigidez de los geles se vincula a la reorganización de los cúmulos de cadenas cortas de amilopectina (con grados de polimerización pequeños).

La naturaleza lineal de la amilosa, hace que se le considere la principal responsable de la gelación del almidón

En resumen, la *retrogradación* es el proceso que ocurre cuando el contenido molecular se gelatiniza y el almidón se empieza a reorganizar en una estructura organizada. En su fase inicial, dos o más cadenas de almidón pueden formar un punto de unión sencilla que puede después ser desarrollada en más regiones extensivamente ordenadas. Por último, bajo condiciones favorables, aparece un orden cristalino [Atwell]

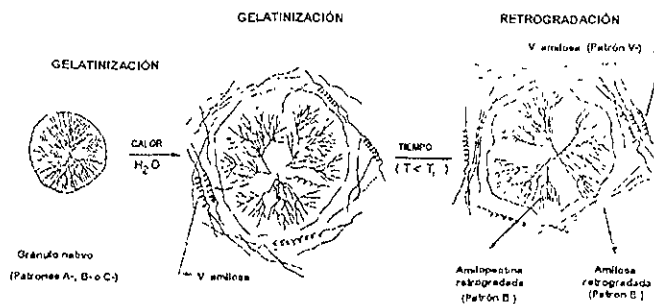


Figura 1.3. Esquematación de los procesos y estructuras observadas durante el calentamiento y reposo de suspensiones acuosas de los gránulos de almidón

1.1.3.2 Clasificación de los almidones de acuerdo a su estructura cristalina.

Los gránulos de almidón, siendo parcialmente cristalinos, dan distintos patrones de Difracción de Rayos X (DRX), conocidos desde 1930 (gracias al trabajo de Katz y colaboradores) [Katz]. Las formas polimorfas cristalinas que ocurren naturalmente en el almidón, dan origen a tres patrones de difracción de rayos X. el patrón *tipo A* que se encuentra en almidones de cereales (arroz, trigo y maíz); el patrón *tipo B* encontrado en tubérculos, fruta y almidones de maíz con alto contenido de amilosa (>40%), así como en almidón retrogradado; y un patrón *tipo C* que es intermedio entre los tipos A y B, observado en semillas leguminosas (frijol y chícharos). Aunque aún se desconoce la causa de estas diferencias estructurales en los gránulos naturales, estudios de polisacáridos monodispersos de bajo peso molecular han sugerido que el cristal de tipo A es el termodinámicamente más estable, mientras que el tipo B es la estructura favorecida cinéticamente. La amilosa A es preferida sobre la amilosa B bajo condiciones de: (i) una temperatura de cristalización más elevada, (ii) una mayor concentración del polímero y (iii) menor longitud de la cadena [Biliaderis, 1989]

En la figura 1.4 se muestran los patrones de Difracción de Rayos X de los almidones tipo A, B y C. Aquí notamos que las reflexiones principales están en los ángulos 2θ de 5.0, 17.8, 18.0 y 23.0 para el almidón tipo A, y en 5.4, 17.0, 22.0 y 24.0 para el almidón tipo B

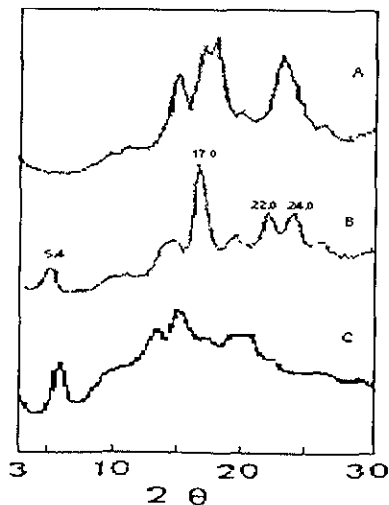


Figura 1.4. Patrones de Difracción de rayos X de los almidones tipo *A*, *B* y *C*.

La cristalinidad tipo *A* y *B* en el almidón, de acuerdo a estudios de DRX, es debido al empaquetamiento de las hélices dobles. De acuerdo a esto, la característica de linealidad de la amilosa hace más factible la atribución de la propiedad de la cristalinidad del almidón, aún más sabiendo que las zonas cristalinas del almidón son ricas en amilosa, y la naturaleza ramificada de la amilopectina le hace muy difícil la organización para formar estos arreglos cristalinos. Sin embargo, se ha detectado que los gránulos del maíz ceroso (que no contienen amilosa) también muestran regiones amorfas y cristalinas. Estas zonas cristalinas probablemente son formadas por cadenas con ramificaciones de baja densidad. La cristalización de la amilopectina es responsable por los cambios a largo plazo en la firmeza de los geles de almidón almacenados, y también la responsable por el componente térmicamente reversible en la cristalinidad de los geles de almidón.

La estructura cristalina de la amilosa tipo *A* es una tridimensional donde la celda unitaria contiene 12 residuos de glucosa en dos hélices dobles izquierdas que embonan paralelamente (Figura 1.5) y son empaquetadas dentro de la celda unitaria de forma paralela. La cohesión de las hélices dobles se mantiene a través de puentes de hidrógeno. No hay puentes de hidrógeno intramoleculares. Dentro de las hélices, la estabilización se logra sin ningún conflicto estérico por medio de ocurrencia de enlaces físicos $O_{(2)} \dots O_{(6)}$ semejantes a los puentes de hidrógeno.

El arreglo de las dobles hélices en el enrejado cristalino es casi el mismo en los dos tipos (*A* y *B*) de estructuras, excepto que la celda unitaria de la amilosa *B* contiene 36 moléculas de agua que están en el canal del centro del hexágono formado del empaquetamiento de las dobles hélices, mientras que en la amilosa *A* este canal es ocupado por otra doble hélice y las moléculas de agua (8 por celda unitaria) están distribuidas en espacios interespaciales entre hélices (Fig.1.5). Todavía hay opiniones diferidas sobre si el tipo *C* es una estructura distinta o es simplemente una mezcla de los tipos de cristales *A* y *B* [Biliaderis, 1989a; Biliaderis 1989b, Blackwell]

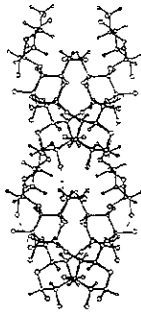


Figura 1.5. Hélice doble de la amilosa A.

Durante la gelatinización y el reposo de los geles de almidón, se desarrolla lentamente en el tiempo un patrón de difracción de rayos X del tipo B. Los geles de amilosa almacenados y la amilosa precipitada de una solución acuosa, también dan un débil patrón de difracción del tipo B. Cuando el tratamiento de hidratación y de calentamiento es insuficientes para alcanzar la gelatinización, se provoca una conversión del patrón tipo B al tipo A en almidones de tubérculos.

Existe otra estructura cristalógicamente distinta, el tipo V, típicamente observado cuando las moléculas lineales del almidón forman complejos de inclusión (llamados también *clatratos*) con varias moléculas "huésped" (que se encuentran en el interior de la hélice). El patrón V (Figura 1.6) es evidente cuando los cereales que contienen lípidos son sometidos a tratamientos de calentamiento-hidratación (o calor-húmedo) a temperaturas mayores que la de gelatinización o en sus geles recién obtenidos[Biliaderis, 1989a]. En la estructura cristalina V-, las moléculas de amilosa son hélices sencillas estrechamente empaquetadas con la molécula huésped dentro de la hélice (encapsulada por la hélice). Naturalmente el almidón de cereales no exhibe un patrón tipo V- en el análisis de rayos X. A pesar de que hay evidencia de que hay *in situ* algún complejo de inclusión formado por almidón y lípidos (lisofosfolípidos y ácidos grasos libres), existen cadenas en el gránulo de perfección insuficiente y/o limitado el ordenamiento de largo alcance, para demostrar un patrón de difracción tipo V bien definido. La falta de un patrón del tipo V, bien definido, posiblemente sea debido a la baja concentración de estos lípidos en las zonas ricas en almidón.

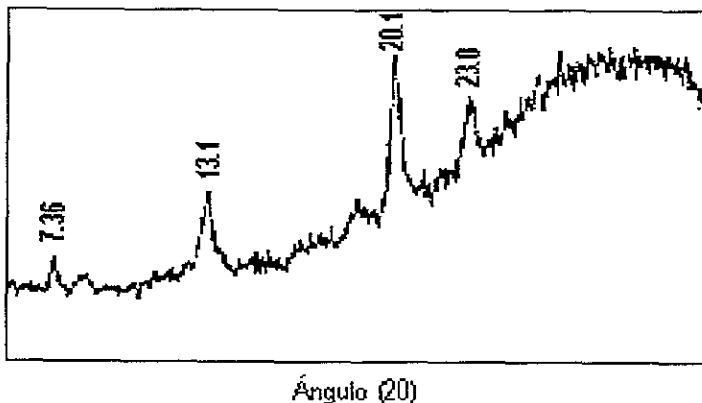


Figura 1.6. Patrón de Difracción de rayos X del almidón tipo V.

1.2 Concepto de lípidos, grasas y aceites. Estructura y propiedades.

1.2.1 Lípidos. Origen. Importancia.

Los lípidos biológicos constituyen un grupo químicamente diverso de compuestos cuya característica común y definitoria es su insolubilidad en agua, pero pueden ser extraídos con disolventes no-polares (como éter, cloroformo o benceno). Las funciones biológicas de los lípidos son igualmente diversas. Algunos lípidos son componentes estructurales de las membranas mientras que otros son formas de almacenamiento de combustible. En muchos organismos las grasas y los aceites son las formas principales de almacenamiento energético mientras que los fosfolípidos y los esteroides constituyen la mitad de la masa de las membranas biológicas. La característica arquitectónica central de las membranas biológicas es una doble capa lipídica que constituye una barrera al paso de moléculas polares e iones. Otros lípidos, aún estando presentes en cantidades relativamente pequeñas, juegan papeles cruciales como cofactores enzimáticos, transportadores electrónicos, agentes emulsionantes, hormonas y mensajeros intracelulares.

Las ceras biológicas son ésteres de ácidos de cadenas largas saturados e insaturados (de 14 a 36 átomos de carbono). Sus puntos de fusión (60 a 100°C) son generalmente más elevados que los de los triglicéridos. Las ceras también realizan diversas funciones en la naturaleza, que están relacionadas con su propiedad repelente al agua y con su consistencia firme. Ciertas glándulas de la piel de los vertebrados secretan ceras

para proteger el pelo y la piel manteniéndolos flexibles, lubricados e impermeables. Los pájaros, especialmente las aves acuáticas, secretan ceras que mantienen la repelencia al agua de sus plumas. Las ceras biológicas tienen diversas aplicaciones en las industrias farmacéutica y cosmética, utilizándolas en la fabricación de lociones, ungüentos y pulimentos.

1.2.2 Grasas y aceites

Los lípidos más sencillos obtenidos a partir de los ácidos grasos son los *triglicéridos*. Los triglicéridos que son líquidos a temperatura ambiente se llaman *aceites*, y los que son sólidos se llaman *grasas*. Los triglicéridos, llamados también ésteres de glicerol, están compuestos de tres ácidos grasos en enlace éster con un solo glicerol ($\text{CH}_2\text{OHCH}_2\text{OHCH}_2\text{OH}$) (Figura 1.7). La fórmula química general de las grasas puede escribirse como $(\text{RCO}_2)_3\text{C}_3\text{H}_5$.

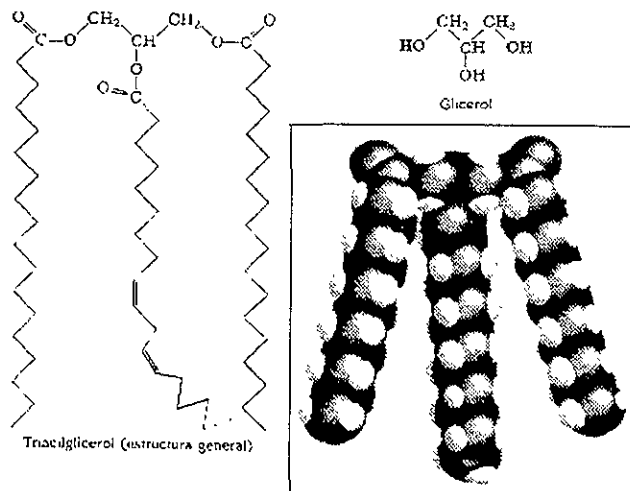


Figura 1.7 Glicerol y triacilgliceroles (triglicéridos)

Las grasas y los aceites son tipos de lípidos utilizados como formas de almacenamiento (lípidos de almacenamiento, el exceso de comida se convierte en grasa,) de energía en los seres vivos, son compuestos muy reducidos derivados de los ácidos

grasos. La mayoría de los ácidos encontrados en las grasas y los aceites contienen números pares de carbonos. La composición y tipo de grasa depende del origen del ácido graso que lo constituye. Las grasas de origen animal como el cebo y la manteca, sólidas a temperatura ambiente, son ricas en ácidos grasos saturados (mirístico, palmítico, esteárico...). En los aceites de origen vegetal como el aceite de oliva y el de maíz, triglicéridos líquidos a temperatura ambiente, predominan los ácidos grasos insaturados (oléico, linoléico, . .).

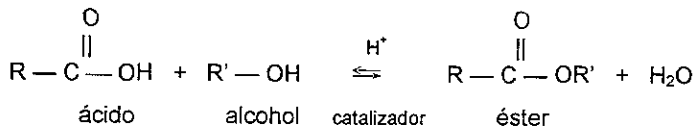
En cuestión de su función de combustible almacenado, los triglicéridos tienen dos ventajas significativas sobre polisacáridos como el glucógeno o el almidón: (i) los átomos de carbono de los ácidos grasos están más reducidos que los de los azúcares por lo que la oxidación de los triglicéridos proporciona más del doble de energía, gramo por gramo, que los glúcidos; y (ii) como los triglicéridos son hidrofóbicos y, por consiguiente, sin hidratar, el organismo que transporta combustible en forma de grasa no ha de cargar el peso extra del agua como en la hidratación asociada con los polisacáridos almacenados. Sin embargo, los glúcidos tales como la glucosa y el glucógeno ofrecen ciertas ventajas como fuentes rápidas de energía metabólica, siendo una de ellas su fácil solubilidad en agua.

En la mayor parte de las células eucarióticas, los triglicéridos sirven como depósito de combustible metabólico. Ciertas células especializadas de los vertebrados, denominadas adipocitos o células grasas, almacenan grandes cantidades de triglicéridos en forma de gotitas de grasa que ocupan casi totalmente la célula. Los triglicéridos se almacenan también en las semillas de muchos tipos de plantas, proporcionando energía y precursores sintéticos cuando germinan las semillas.

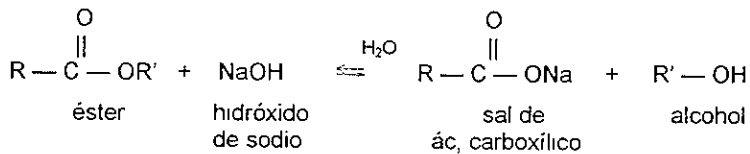
Dado que los hidroxilos polares del glicerol y los carboxilatos polares de los ácidos grasos están unidos en enlaces ésteres, los triglicéridos son moléculas apolares, prácticamente insolubles en agua, hidrofóbicas. Esto explica por qué las mezclas agua - aceite tienen dos fases, y debido a que los lípidos tienen densidades menores que el agua, el aceite flota sobre la fase acuosa.

Los enlaces ésteres de los triglicéridos son susceptibles a una hidrólisis por ácidos o bases. La hidrólisis básica de los ésteres, llamada **saponificación**, es el proceso inverso a la esterificación, en el cual se forma glicerol y sales de ácidos grasos (Fig. 1.8), llamados glicerina y jabones. El término saponificación (Latín *saponis*, jabón) significa literalmente 'fabricación de jabón'.

Para entender la saponificación es importante antes conocer el proceso de **esterificación**. Un éster es el producto que resulta de la reacción entre un alcohol (R'OH) y un ácido carboxílico^b (RCO₂H) donde el átomo de hidrógeno del grupo carboxílico (R) es sustituido por el grupo alcohilo (R'), resultando el éster (RCO₂R') y agua.

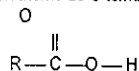


Entonces regresando a la saponificación, los esteres son susceptibles a hidrólisis para producir ácidos carboxílicos y alcoholes, representando esto la reacción inversa a la esterificación. Existen varias formas de hidrolizar los ésteres, como por ejemplo, en un medio acuoso sometiendo a la mezcla de agua-éster a altas presiones, o a presión atmosférica junto con un catalizador apropiado. Pero la forma más sencilla de hidrolizar un éster es calentándolo en una solución alcalina



^b Alcohol. Derivado de hidrocarburos que contiene uno o mas grupos hidroxilo (-OH) en lugar de atomos de hidrógeno. Su formula quimica general es ROH, donde R es un grupo alcohilo C_nH_{2n+1}

Ac. Carboxílico: Derivado de hidrocarburos con un átomo de C terminal enlazado a un hidroxilo (-OH) y un átomo de O enlazado por un doble enlace (=O)



La hidrólisis también puede tener lugar con otros hidróxidos que proporcionen la alcalinidad apropiada (como el KOH o el Ca(OH)₂, utilizados en el proceso de nixtamalización del maíz). La utilidad de los jabones estriba en su capacidad de solubilizar o dispersar materiales insolubles en agua mediante la formación de agregados microscópicos (micelas). En la Figura 1.8 se muestra la hidrólisis de una grasa con hidróxido de sodio (NaOH), formando las sales de carboxilato (R — COO⁻) de cadena larga, lo que conocemos como jabón.

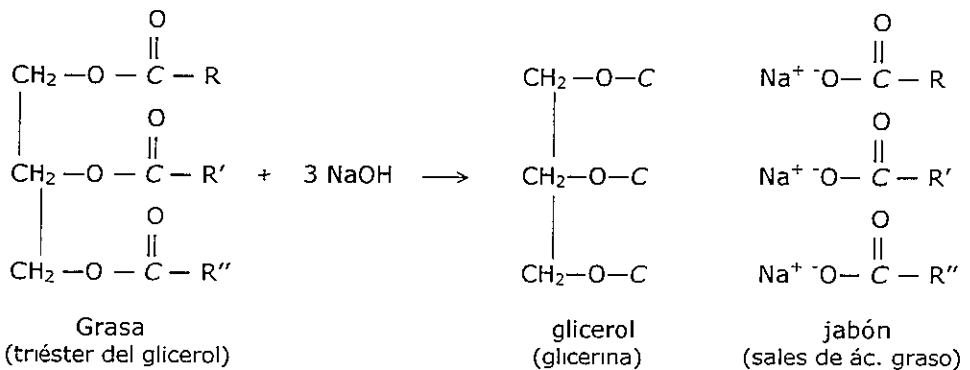


Figura 1.8 Degradación de grasas mediante hidrólisis básica, proceso de saponificación. R, R' y R'' representan cadenas alquílicas largas, las cuales pueden ser iguales o diferentes

Sin embargo, no todos los lípidos tienen la capacidad de ser hidrolizados, por lo que se pueden clasificar como lípidos saponificables (como mono-, di- y tri- glicéridos, las ceras, los fosfolípidos, los glicolípidos, las lipoproteínas y los ácidos grasos libres) y lípidos no saponificables, que carecen del grupo éster (como los carotenoides, esteroides, tocoles e hidrocarburos alifáticos). Las grasas constituyen la clase más común del grupo de los lípidos saponificables.

1.2.3 Ácidos Grasos

Sólo una pequeña fracción del total de los lípidos consiste en ácidos carboxílicos libres. La mayoría de los ácidos carboxílicos en los lípidos se encuentran como ésteres de glicerol, los triglicéridos.

Los *ácidos grasos* son ácidos carboxílicos^c con cadenas hidrocarbonadas de 4 a 36 carbonos (son ácidos alifáticos con cadenas alifáticas). Los ácidos grasos se dividen en insaturados y saturados dependiendo de los enlaces de su cadena alifática. El ácido graso es saturado si la cadena está completamente 'saturada', es decir, si no tiene dobles enlaces ni ramificaciones; y es insaturado (mono- o poli-insaturado) si en su cadena alifática contienen uno o varios dobles enlaces (Tabla 1.1). La nomenclatura simplificada de estos compuestos especifica la longitud de la cadena y el número de dobles enlaces separados por dos puntos, el ácido palmítico que tiene 16 átomos de carbono y es saturado, se abrevia 16:0 y el ácido oléico de 18 carbonos con un doble enlace es 18:1. Las posiciones de los dobles enlaces se especifican por exponentes que siguen a una Δ (delta), un ácido graso de 20 carbonos con un doble enlace entre C-9 y C-10 (C-1 es el carbono carboxílico) y otro entre C-12 y C-13, se designa 20:2(Δ^{9,12}), por ejemplo. Los ácidos grasos más abundantes tienen un número par de átomos de carbono en una cadena sin ramificar de entre 12 y 24 carbonos (Tabla 1.1).

Tabla 1.1 ácidos grasos

Esqueleto carbonado	Estructura*	Nombre sistemático ^b	Nombre común (etimología)	Punto de fusión (°C)	Solubilidad a 30 °C (mg/g de disolvente)	
					Agua	Benceno
12:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	Ácido <i>n</i> -dodecanoico	Ácido láurico (del latín <i>launus</i> , laurel)	44,2	0,363	2.600
14:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	Ácido <i>n</i> -tetradecanoico	Ácido mirístico (del latín <i>miristicus</i> , género de la nuez moscada)	53,9	0,024	874
16:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	Ácido <i>n</i> -hexadecanoico	Ácido palmítico (del griego <i>palma</i> , palmera)	63,1	0,0053	348
18:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	Ácido <i>n</i> -octadecanoico	Ácido esteárico (del griego <i>stear</i> , grasa dura)	69,6	0,0034	124
20:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	Ácido <i>n</i> -icosanoico	Ácido araquídico (del latín <i>Arachis</i> , género de legumbre)	76,3		
24:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH	Ácido <i>n</i> -tetracosanoico	Ácido lignocérico (del latín <i>lignum</i> , madera + <i>cera</i> , cera)	86,0		
16:1(Δ ⁵)	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₉ COOH		Ácido palmíticoico	-0,5		
18:1(Δ ⁷)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₉ COOH		Ácido oleico (del griego <i>oleum</i> , aceite)	13,4		
18:2(Δ ^{6,11})	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₆ COOH		Ácido α linoleico (del griego <i>linon</i> , lino)	-5		
18:3(Δ ^{6,11,14})	CH ₃ CH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₃ COOH		Ácido linoléico	-11		
20:4(Δ ^{5,8,11,14})	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₂ COOH		Ácido araquidónico	-49,5		

*También se le debe considerar en la lista de ácidos grasos saturados a los ácidos grasos ramificados, como los ácidos grasos ramificados, que la numeración de los carbonos se muestra en el carbono del grupo carboxilo.

^b El prefijo Δ indica la posición de los dobles enlaces. Por ejemplo, el ácido oleico indica que existe 12 átomos de carbono en la posición después de la posición de los enlaces ramificados. Así, el "ácido" especifica la posición inicial del carbono.

La posición de los dobles enlaces también es regular, en la mayoría de los ácidos grasos monoinsaturados, el doble enlace se encuentra entre C-9 y C-10 (Δ^9) mientras que los enlaces dobles restantes de los ácidos grasos poliinsaturados casi nunca son conjugados (alternancia de enlaces dobles y sencillos como en $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$) sino que están separados por un grupo metileno ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$). Los dobles enlaces de casi todos los ácidos grasos naturales se encuentran en la configuración *cis*.

Las propiedades físicas de los ácidos grasos y de los compuestos que los contienen son determinadas, en gran parte, por la longitud y grado de insaturación de la cadena hidrocarbonada. La cadena hidrocarbonada apolar explica la poca solubilidad de los ácidos grasos. Cuanto más larga sea la cadena acíclica grasa y menor el número de dobles enlaces, menor es la solubilidad en agua (Tabla 1.1). Si embargo, el grupo ácido carboxílico es polar (e ionizado a pH neutro) por lo que se justifica la ligera solubilidad en agua de los ácidos grasos de cadena corta.

La no solubilidad de los ácidos grasos en agua, i.e. la no solubilidad de un soluto apolar en un solvente polar es gracias a que las moléculas no polares sólo se atraen débilmente y se necesita de poca energía para separarlas, mientras que las moléculas de agua se atraen fuertemente entre sí por sus enlaces de hidrógeno. Si se disolviera una de las moléculas no polares, debería de desplazar algunos de esos enlaces de hidrógeno, pero casi no se libera energía de solvatación de la molécula no polar. De hecho, la red de puentes de hidrógeno de las moléculas de agua, excluye a las moléculas apolares.

Los puntos de fusión de los ácidos grasos y de los compuestos que los contienen están, también, muy influenciados por la longitud y grado de saturación de la cadena alifática (Tabla 1.1). A temperatura ambiente (25°C) los ácidos grasos saturados desde 12:0 a 24:0 tienen una consistencia cerosa, mientras que los ácidos grasos insaturados de estas longitudes son líquidos oleosos. En los compuestos totalmente saturados, la rotación libre alrededor de cada cadena enlace carbono-carbono confiere gran flexibilidad a la cadena hidrocarbonada; la conformación más estable (Fig. 1.9a), en la que los impedimentos estéricos entre átomos vecinos están reducidos al mínimo. Estas moléculas se pueden empaquetar estrechamente en ordenamientos casi cristalinos con átomos a todo lo largo en contacto de Van der Waals con los átomos de cadenas vecinas (Fig. 1.9c). Un doble enlace *cis* provoca un doblamiento en la cadena hidrocarbonada (Fig. 1.9b). Los ácidos grasos con uno o más doblamientos no se pueden empaquetar tan fuertemente como los ácidos grasos

totalmente saturados (Fig. 1.9c), por lo que las interacciones entre ellos son muy débiles. Dado que se necesita menos energía térmica para desordenar estos conjuntos poco ordenados de ácidos grasos insaturados, tienen puntos de fusión mas bajos que los ácidos grasos saturados de la misma longitud de cadenas (Tabla 1.1).

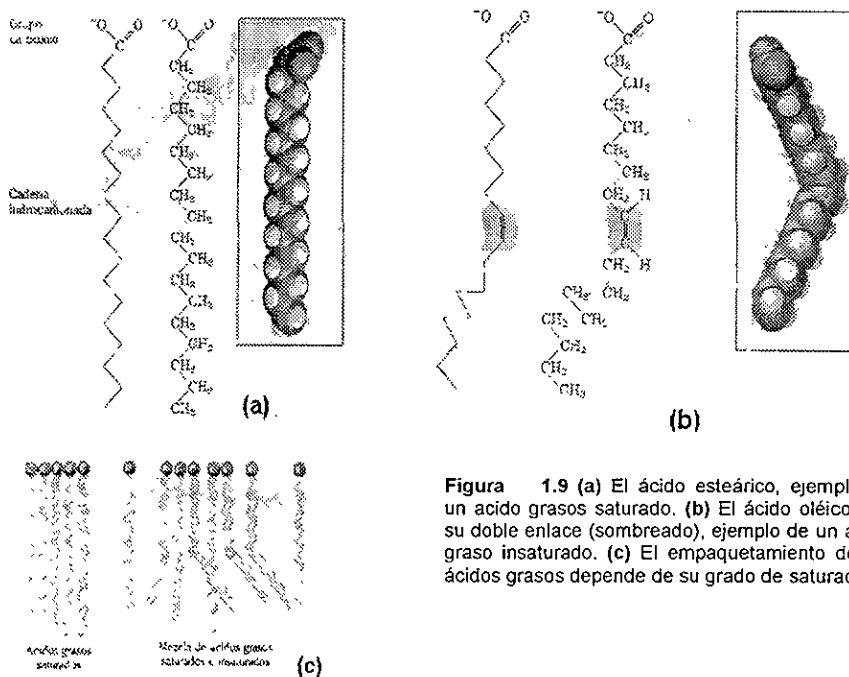


Figura 1.9 (a) El ácido esteárico, ejemplo de un ácido grasos saturado. (b) El ácido oléico con su doble enlace (sombreado), ejemplo de un ácido grasos insaturado. (c) El empaquetamiento de los ácidos grasos depende de su grado de saturación.

En los vertebrados los ácidos grasos libres (con un grupo carboxilato) circulan por la sangre unidos a una proteína portadora, la albúmina sérica. No obstante, los ácidos grasos se encuentran presentes en su mayoría en forma de derivados del ácido carboxílico tales como ésteres o amidas. Al carecer del grupo carboxilato cargado, estos derivados de los ácidos grasos son generalmente aún menos solubles en agua que los ácidos carboxílicos libres.

1.3 Compuestos de inclusión con almidones

Los almidones pueden formar compuestos de inclusión ('clatratos'), como resultado de la precipitación, con diversas moléculas lineales. El mecanismo exacto por el cual se forman estos compuestos de inclusión no es bien entendido, sin embargo, existen evidencias de que la naturaleza helicoidal de la amilosa y la linealidad de la molécula huésped favorezca este proceso. Se ha visto que las características de las moléculas de inclusión (de amilosa mono-helicoidal con molécula huésped) son muy semejantes a las conocidas para la amilosa de hélice doble. No se registra cambio en el arreglo de los cristales cuando la amilosa forma el compuesto, las distancias intermoleculares permanecen iguales, por lo que se infiere que las moléculas huésped deben de estar retenidas dentro de la cavidad (longitudinal) de la hélice, un lugar que estaba desocupado (o parcialmente ocupado por moléculas de agua).

Se ha reportado que moléculas como el yodo I_2 (también I^- o I_3^-), alcoholes lineales y alifáticos, el DMSO (dimetil sulfóxido) y ácidos grasos forman dichos compuestos de inclusión con la amilosa [Godet; Elliason, 1994; Karkalas, Mikus; Morriss, 1993] La similitud que tienen estas moléculas huéspedes es tener una estructura prácticamente lineal y un dipolo medible (excepto el yodo, que en lugar es altamente polar)

Los compuestos de inclusión del almidón son formados principalmente por el componente lineal, la amilosa, que cuenta con una buena cantidad de grupos OH para formar la hélice por medio de puentes de H. La amilopectina en cambio, a pesar de tener grupos OH, no tiene la habilidad de formar clatratos. Una causa posible de la inhabilidad de la amilopectina de formar clatratos es que tiene múltiples puntos de ramificación, que interrumpen la formación de la hélice; esto puntos son tan frecuentes que hace que la hélice tenga un dipolo pequeño y una atracción pobre para formar complejos. De aquí que la formación de los clatratos dependa también, en parte, del contenido de amilosa de el almidón.

Entonces, para explicar el proceso de la formación de los compuestos de inclusión, se debe de considerar las propiedades fundamentales de la molécula huésped y de la hospedera. La molécula hospedera -la hélice de amilosa V- tiene un momento dipolar significativo, paralelo al eje de la hélice; y las moléculas huésped tienen también un momento dipolar grande (en el caso del yodo, una polaridad grande). Se ha propuesto un mecanismo en el que la amilosa buscando una condición energética más favorable -

principio de mínima energía- y una mayor estabilidad, contrarresta su momento dipolar al formar compuestos de inclusión con las moléculas lineales, las cuales entran al centro de la amilosa con su dipolo dirigido antiparalelamente al dipolo de la hélice [Mikus]. Esta explicación es en base al modelo utilizado para explicar el clatrato de amilosa-yodo [Godet], para el cual el argumento de que el clatrato se forma con moléculas que puedan formar enlaces de hidrógeno con la amilosa, es insuficiente (ya que la amilosa *V* no puede formar puentes de H firmes).

El poder de enlace, de envolver, está en gran parte determinado por el momento dipolar y/o la polaridad del huésped. Por lo que está bien suponer que es posible formar estos compuestos de inclusión con la amilosa, utilizando moléculas que tengan estas mismas propiedades: la linealidad y el momento dipolar grande o la polaridad. Como por ejemplo, con moléculas de derivados de ésteres, aminas,....

La cavidad de la hélice es un tubo efectivamente hidrofóbico. La cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos o lípidos (no-polar) reposa inmóvil dentro de la hélice de la amilosa (no polar) y se estabilizan por contacto de van der Waals con hidrógenos de amilosa adyacentes. Esta configuración es favorecida energéticamente por la atracción no-polar – no-polar de las moléculas huésped y hospedera. Pero los extremos polares del lípido no están dentro de la cavidad de la hélice [Elliason 1985], quedan salidos de la hélice como una cabeza polar lista para reaccionar con el medio.

1.3.1 Clatrato de amilosa con ácidos grasos. Condiciones de formación. Propiedades.

La formación del complejo de inclusión entre amilosa y lípidos, como ya se comentó anteriormente, sucede durante el proceso de calentamiento e hidratación del almidón, a través de la gelatinización del almidón en presencia de lípidos. Se obtienen al combinar soluciones de amilosa y de lípidos que precipitan al formarse el clatrato, finalmente esta solución se centrifuga dejando solo al compuesto. Esto sucede gracias a la propiedad que tienen los gránulos de almidón de hincharse reversiblemente a temperaturas por debajo de la gelatinización -de acuerdo a su nivel de hidratación-; pueden, entonces, absorber lípidos monoacíclicos no provenientes del almidón (generalmente ácidos grasos libres). La amilosa apolar prefiere a la molécula huésped en lugar de la molécula de agua -altamente polar-, ya que la polaridad del huésped es menor a la del agua por lo tanto es también menor la

repulsión provocada por las moléculas polar-apolar. Por eso las moléculas hidrofóbicas pueden ser incluidas, en presencia de agua, a la cavidad apolar de la amilosa helicoidal.

El almidón en su estado natural -como el del maíz- contiene pequeñas cantidades de ácidos grasos libres y, también, existen compuestos de inclusión de amilosa y ácidos grasos [Elliasson, 1994]. Estudios de esto han mostrado que el lípido no está distribuido uniformemente a través de las fracciones de amilosa, entonces (probablemente) existen naturalmente en el almidón dos tipos de amilosa: la amilosa clatrada con lípidos (ACL) y la amilosa libre de lípidos (ALL) [Morrison, 1995]. Los pequeños aumentos en la temperatura de gelatinización del almidón se pueden atribuir al efecto del contenido de clatratos (ACL), los cuales no se disociarán a esta temperatura; mientras que la amilosa libre de lípidos (ALL) aparentemente tiene un efecto contrario al promover el desorden en el gránulo y disminuir la temperatura de gelatinización [Mikus].

Existen dos formas estructurales de complejos amilosa – lípido, descritas por Biliaderis y Galloway [Biliaderis, 1989b] térmicamente diferentes, que dependen de las condiciones de cristalinización: temperatura (T_c), tipo de ligando, etc. A estos se les conoce como clatratos del tipo I y del tipo II

Los complejos de amilosa con la mayoría de los lípidos son insolubles y amorfos (tipo I) pero pueden ser ordenado en una forma semi-cristalina (tipo II). Los complejos de tipo I, que son probablemente la forma más común en la mayoría de los almidones de cereales, predomina en bajas T_c , tienen baja T_f , (temperatura de fusión), generalmente se disocian al ser calentado en agua a 94-100°C [Raphaelides], hay una falta de patrones V- bien definidos, el patrón de rayos X es amorfo pero rápidamente va a una reorganización al ser calentada. Los complejos tipo II, originalmente encontrados en el almidón después de gelatinizado, es la forma preferencial para altas T_c . Tiene T_f elevadas [Biliaderis, 1989b], se disocia a 100-125°C, genera un patrón cristalográfico V típico. Una de las maneras por la cual se puede obtener los complejos de tipo II es manteniendo el almidón hidratado a una temperatura de 5-10°C debajo de la temperatura de gelatinización, lo cual provoca un mejoramiento en la calidad del orden cristalino (annealing). Con esto se puede aumentar substancialmente la temperatura de gelatinización.

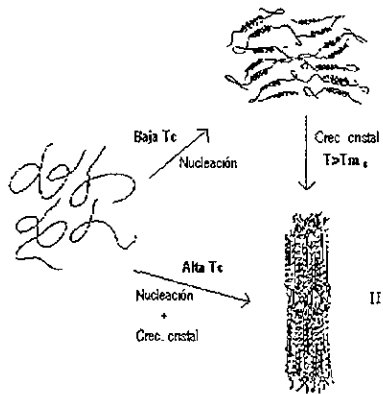


Figura 1.10 Mecanismos para la formación de clatratos térmicamente distintos, las formas I y II.

Se pueden explicar varias propiedades térmicas y físicoquímicas de estos compuestos si se postula que el tipo I es un estado termodinámico separado, con energía interna y entropía intermedia entre un sistema elástico y uno cristalino clásico, como el tipo II. La diferencia de la temperatura de fusión (T_f) entre los tipos de clatratos puede ser atribuida a diferencias en tamaño o perfección -o ambos- de sus cristales. En el tipo I la estructura tiene un grado de orden muy pobre, no existen cristales distintivos, los segmentos helicoidales individuales, no presentes en el registro cristalográfico, están aleatoriamente distribuidos en el material. Tal estructura tendrá una energía interna y una entropía que tiene un valor intermedio entre la del líquido y la del estado cristalino clásico. Entonces, el tipo I se considera como si fuera formado cuando ocurren nucleaciones rápidas y es morfológicamente descrito por una distribución aleatoria de los segmentos helicoidales, teniendo poco registro cristalográfico. (Fig. 1.10). Mientras que el tipo II es la morfología clásica de un polímero parcialmente cristalino.

1.3.2 Estructura de los clatratos de amilosa con ácidos grasos

El complejo es descrito como un compuesto de inclusión helicoidal con la amilosa, en la conformación V, formando una hélice (izquierda) sencilla alrededor de la cadena hidrofóbica del huésped. Esta hélice tiene un diámetro de alrededor de 14 Å y una longitud de 8 Å. Para complejos que involucran lípidos polares, la hélice alrededor de la cadena monoacíclica es usualmente compuesta de tres vueltas - hay registro de que menos de tres

vueltas de la hélice son posibles en el complejo [Elliason,1994]-, y cada vuelta está compuesta de 6 residuos de glucosa (pueden ser 7u 8) estabilizados por enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de los residuos de D-glucosa adyacentes (2-OH ... 3'-OH, 2-OH ... 6'-OH) localizados en la superficie externa de la hélice. Cada cadena monoacilica necesitará entonces, por lo menos 18 residuos glucosídicos en el complejo. Es por eso que la saturación será alcanzada a niveles lipídicos de alrededor de 10g por 100g de amilosa (i.e una relación de 1:10) para la mayoría de los complejos de inclusión. Niveles de lípidos mayores a este resultan en lípidos libres que no forman complejos.

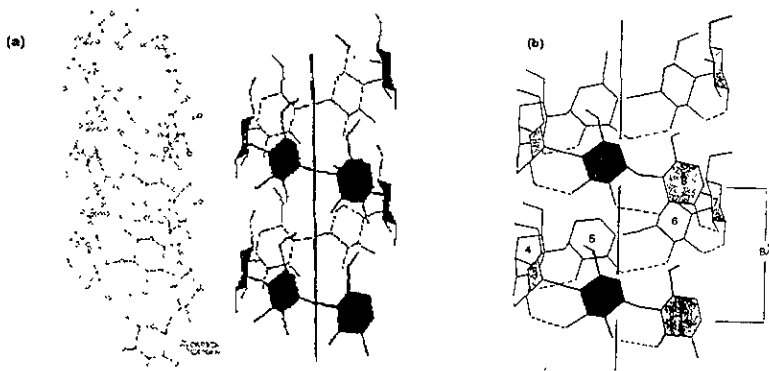


Figura 1.12 Esquema de la mono-hélice de amilosa, de (a) 6 residuos por vuelta y (b) 8 residuos por vuelta.

1.3.3 Métodos de estudio de clatratos de amilosa con ácidos grasos: DRX, DSC, IR.

La interacción entre almidón y lípidos se manifiesta de varias maneras. Gracias a esto es posible usar varios métodos para estudiar las interacciones, incluyendo análisis enzimático, métodos reológicos, análisis de difracción de rayos X, resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopías Raman y de infrarrojo y la calorimetría diferencial de barrido.

La difracción de rayos X (DRX) ha sido utilizada en gran parte para proveer información acerca de la orientación molecular, más que de la presencia de algunos grupos funcionales específicos, que causan una difracción discreta de rayos X; sin embargo, es el grupo funcional el que responde a la señal cuando se emplean técnicas espectroscópicas como RMN (Resonancia Magnética Nuclear) o IR (Espectroscopía de Infrarrojo).

DIFRACCION DE RAYOS X

La amilosa es empaquetada de la misma forma si está o no clatrada, la distancia entre las hélices no cambia (significativamente) debido a la inclusión del huésped, lo cual indica que la inclusión de la molécula huésped no altera las fuerzas -las distancias- entre las hélices. Gracias a los estudios utilizando la difracción de rayos X sabemos que la amilosa asume una conformación de hélice simple con 6, 7 u 8 residuos de glucosa por vuelta. Esta hélice tiene un diámetro de alrededor de 14Å y una longitud de 8Å.

La DRX junto con la microscopía electrónica de transmisión y de difracción de electrones, sobre fibras cristalinas o monocristales [Rundle; Yamashita; Zobel], han servido para determinar algunas de las estructuras de los clatratos; donde se indica que la amilosa clatrada forma cristales con patrón V. En estos cristales las cadenas helicoidales de amilosa están orientadas antiparalelamente a través de un doblaje de aproximadamente 75 - 100 Å para formar cristales laminares. Los ejes de la hélice de la amilosa están orientados perpendicularmente a la superficie laminar [Karkalas]. A pesar de lo que se sabe, se desconoce la estructura cristalina precisa del compuesto amilosa V-acido graso, ya que no ha sido posible preparar fibras cristalinas o monocristales con tales compuestos orgánicos.

Se han encontrado dos formas distintas de patrones de amilosa V que dependen de la cantidad de moléculas de agua que contengan, una V_a amilosa anhídrica y la otra hidratada V_h . Estos estudios de DRX han servido para determinar que los cristales del patrón V -del complejo de amilosa con ácidos grasos- tienen una celda unitaria ortorrómbica con dimensiones de $a=13.7\text{Å}$, $b=23.8\text{Å}$, y $c=8.05\text{Å}$ para el complejo monohidratado (una molécula de agua por un residuo de glucosa) y $a=13.0\text{Å}$, $b=23.0\text{Å}$, y $c=8.05\text{Å}$ para el complejo anhídrico [Mikus; Yamashita]. En las celdas pseudo-hexagonales hay cuatro hélices, dos en la celda unitaria dirigidas en direcciones opuestas. Los tubos casi circulares están estrechamente empaquetados. Para la amilosa parcialmente deshidratada (monohidratada, una molécula de agua por glucosa) la hélice tiene un diámetro de 13.7Å y para la amilosa anhídrica el diámetro es de 13.0Å (el tamaño de la celda unitaria disminuye aproximadamente un 8% al secar, deshidratar). La distancia entre hélices no depende de la longitud de la cadena del ácido graso.

La estructura V_a se puede convertir, por humectación, en una amilosa más hidratada conocida como amilosa tipo V_h (i.e. amilosa tipo-V hidratada), al parecer ambas tienen la misma conformación helicoidal de 6 residuos [Zobel], pero con la diferencia de que la hidratación aumenta la separación entre las hélices de 13.0 a 13.7Å -debido a la inclusión

de moléculas de agua entre las cadenas- Una subsiguiente humectación, seguido por una saponificación en agua, lleva a la formación de la estructura B-, con tipos-A y -C que se observan como intermedios algunas veces. La estructura propuesta para la B-amilosa [Blackwell] tiene cadenas con 6 residuos por vuelta, repitiéndose en 10.4Å. Se ha sugerido que el mecanismo para la conversión de V-amilosa a B-amilosa involucra estirar la hélice, por lo que romper el enlace interno de hidrógeno, que se reforma al colocar moléculas de agua entre el grupo hidroxil, como se muestra en la Figura 1.13.

En la Fig. 1.13 se muestra una proyección cilíndrica de esta hélice, donde se han sugerido que, de los tres grupos hidroxilo, dos están involucrados en enlaces-hidrógeno, y el tercero podría estar enlazado por el hidrógeno a una molécula de agua dentro de la cavidad central de la hélice [Blackwell].

El distintivo patrón V -detectado en clatratos con yodo, alcoholes y ácidos grasos- [Billaderis, 1989] tiene una reflexión principal (o primaria) en $20.1^\circ_{2\theta}$ y dos picos de reflexiones secundarias en 7.36° y $13.1^\circ_{2\theta}$ (en el estado hidratado).

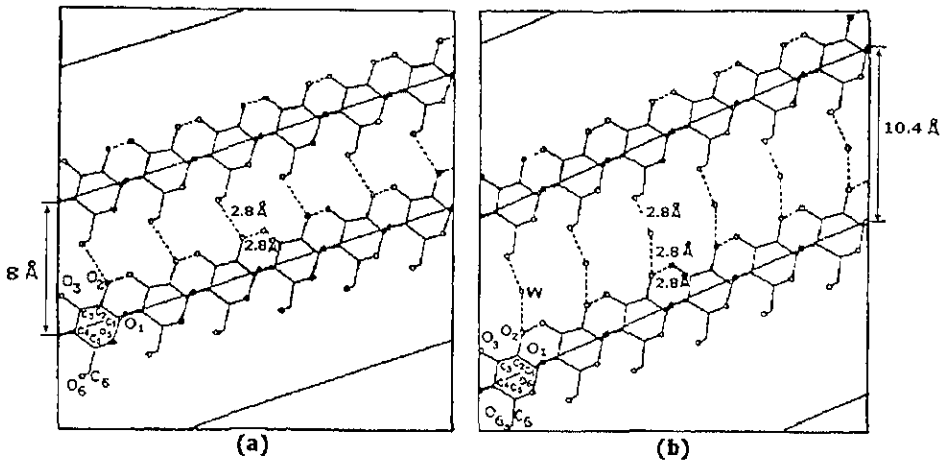


Figura 1.13 (a) Proyección cilíndrica de la amilosa V. (b) Proyección cilíndrica de la hélice de la amilosa B, mostrando la inclusión de moléculas de agua, W, entre vueltas susceptibles

Los patrones de rayos X, en algunos casos, se usan para detectar cambios en la cristalinidad, resultando de tratamientos físicos o químicos, de los gránulos de almidón. Este método se ha utilizado como herramienta para medir la extensión de la gelatinización.

CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

Antes de mencionar la información que nos ofrece los estudios realizados con la Calorimetría Diferencial de Barrido, es importante conocer las características térmicas de los sistemas de almidón.

TRANSICIONES DE FASE Y ESTABILIDAD DE SISTEMAS DE ALMIDON

El comportamiento de la transición de fase en materiales poliméricos semi-cristalinos, como el almidón, está regido por dos transiciones características que están definidas por un aumento en la movilidad de las moléculas de almidón: (i) una transición, de segundo orden, vítreo-elástica de la fase amorfa en T_g (temperatura de gelatinización); (ii) una transición de primer orden que es la fusión de los cristales en T_f (temperatura de fusión). Debajo de la T_g el material está en su estado vítreo (rígido), con movilidad restringida; mientras que a temperaturas superiores a la T_g el material se vuelve elástico, como goma (móvil). El aumento de movilidad en las zonas amorfas, con temperaturas mayores a T_g , lo deja susceptible a que ocurran transformaciones estructurales. Las moléculas de almidón se encuentran en estados estables, presas dentro de los cristales, hasta que se alcanza una temperatura (T_m) en la que se rompe todo el orden de la estructura cristalina (fusión). Las temperaturas T_g y T_f definen los límites en el que la cristalización, la fusión de los cristales metaestables, y la reorganización de las cadenas (el perfeccionamiento de los cristales o 'annealing'), ya que a temperaturas menores que T_g el crecimiento de cristales es despreciable, mientras que para temperaturas mayores que T_f la rapidez de fusión es mayor a la rapidez de cristalización. Según la cinética de cristalización, la rapidez de nucleación y del crecimiento de cristales dependen de distinta manera de la acción de la temperatura. La velocidad de la nucleación se ve favorecida a temperaturas menores.

Ya que la gelatinización es un proceso endotérmico, es de gran interés su estudio por medio de métodos de análisis térmicos, en particular la Calorimetría Diferencial de Barrido (differential scanning calorimetry, DSC). El DSC puede proveer las temperaturas características y entalpías de varias transiciones al igual que permite las mediciones sobre un amplio rango de concentraciones de almidón.

Los eventos moleculares que dan origen a la transición endotérmica, no están completamente entendidos, pero se cree que involucran la fusión de la estructura cristalina

del complejo así como la disociación del lípido y la amilosa. Cuando se enfría, el complejo se forma otra vez, y ocurre una recristalinización. Se han visto efectos de histéresis entre la fusión y la recristalinización.

Se han estudiado los efectos de los diferentes grupos funcionales en la formación de complejos, de lo que se sabe que los derivados de ácidos carboxílicos exhiben el mismo comportamiento que los alcoholes. Para una longitud de cadena dada, T_f es diferente para grupos funcionales iónicos y no iónicos, pero la naturaleza específica de estos grupos no tiene efecto significativo.

La presencia de complejos de amilosa-lípido en sistemas de almidón se revela por transiciones endotérmicas a temperaturas bien abajo de la endoterma de fusión de los cristales del almidón (95-130°C), estas transiciones son debido a la disociación del clatrato. Los clatratos tipo I (encontrados principalmente en cereales) se disocian al sobrehidratarlos y calentarlos a temperaturas entre 95-100°C; los clatratos tipo II (encontrados en almidones gelatinizados, 60-70°C) se disocian a temperaturas entre 100-125°C

ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS (IR)

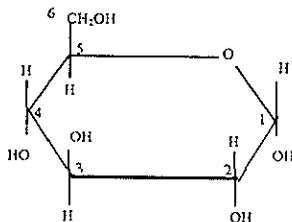


Figura 1.14
Esquema de la α -D-glucosa.

El uso efectivo de la espectroscopía Infrarroja, para investigar la estructura y conformación de los carbohidratos, requiere un entendimiento del origen vibracional de las frecuencias observadas. Una completa asignación de las vibraciones observadas en las moléculas de los carbohidratos, es una difícil tarea, sobre todo en la región inferior a 1500 cm^{-1} . En el trabajo de Vasko, et al [Vasko, 1971] hicieron estudios de los espectros de D-glucosa, celulosa y maltosa, que pueden servir como compuestos modelos de polisacáridos

del tipo glucagón. E identificaron, por métodos de deuteración^d, algunas bandas debido a deformaciones de C-O-H y C-H.

Debido a que la molécula de glucosa no tiene simetría, todos los 66 ($3N-6 = 66$) modos vibracionales son activos en IR y Raman. Por lo que los dos espectros tienen líneas a la misma frecuencia, pero, en general, tienen diferentes intensidades relativas. Los 66 modos no son observados en el espectro de la α -D-glucosa debido a la extensión inherente de las líneas y la superposición consecuente. Solo se pueden detectar las líneas mas intensas, o las mas débiles que no se superponen.

El estudio de soluciones acuosas de carbohidratos por medio de espectroscopia IR se hace difícil por la intensa absorción del agua en regiones importantes del espectro Sin embargo, identificaron frecuencias relacionadas con la vibración de CH₂ y CH, usando tres glucosas C-deuteradas (poniéndolas en solución D₂O) : D-glucosa-6, 6-d₂, D-glucosa-1d₁, y D-glucosa-1,2-d₂. Se compararon los espectros de IR del estado sólido de estas D-glucosas, C-deuteradas, con los de la α - D-glucosa. La asignación de los enlaces fueron hechas en base a las diferencias entre estos dos espectros.

Como resultado del trabajo de Vasko et al [Vasko, 1971] se llegó a la asignación de los siguientes enlaces Las bandas 1457, 1337, 1219, y 1011 cm⁻¹ se deben probablemente a la vibración del grupo CH₂. Seis bandas, en 1360, 1250, 1076, 1047, 911, y 863 cm⁻¹, son asignadas al modo vibracional del dobléz de C1-H. La banda en 1402 cm⁻¹ se piensa que corresponde al modo de deformación de C2-H, que da una banda débil

Vasko et al [Vasko, 1971] hicieron también cálculos de las frecuencias de las vibración de los diferentes enlaces. En la Tabla 1.2 se muestra una tabla de las frecuencias observadas y calculadas (usando el programa de análisis, de coordenadas normales, hecho por Boerio y Koenig [Boenio]) junto con las bandas (enlaces) asignados.

La mayoría de los modos son vibraciones acoplados, por lo que (en los enlaces asociados provenientes de las frecuencias calculadas) la contribución a las bandas de absorción provienen de uno o varios enlaces Por ejemplo, la frecuencia calculada 1469 cm⁻¹ tiene una porcion mayor del grupo CH₂, pero también tiene contribución de otras estructuras como OCH.

^d La duteración es la substitución de un hidrogeno por un deutenio, por ejemplo la D-glucosa-6, 6-d₂ quiere decir que fue en el C6 donde se substituyeron los dos H por dos D.

Tabla 1.2 Las frecuencia vibracionales (observadas y calculadas) y los enlaces asignados de la α -D-glucosa.

Frecuencia observada	Frecuencia calculada	Enlace asignado	Contribución de enlaces
1457 f	1469	CH ₂	OCH
1360 f	1360	C-H	CCH, OCH, COH
1337 m	1337	CH ₂	CCH, CO, OCH
1250 d	1256	C-H	OCH, CCH
1219 m	1216	CH ₂	CCH, OCH, COH, CO
1076 m	1075	C-H	CO, CC, COH
1047 m	1051	C-H	CO, CC
1026 s		C-H	
911 m		C-H	
863 s	863	C-H	CO, CCH, CC

Hasta el momento no se ha utilizando el método experimental de Absorción de Infrarrojo (IR) para estudiar los compuestos de inclusión de la amilosa helicoidal con moléculas lineales, como alcoholes, yodo o ácidos grasos. Sin embargo existen estudios de carbohidratos, utilizando IR para obtener información de la conformación de las cadenas y la estructura de los cristales de varios glucanos. También se ha asignado la banda de absorción cercana a 1295cm^{-1} , a vibraciones de los cristales de V-amilosa.

Existe también el trabajo realizado por Cael et al [Cael], donde menciona a la amilosa V (hidratada y deshidratada), a la amilosa B y hace una interpretación de la propuesta del mecanismo de conversión de la forma V- a la forma B-. Encuentra que, por ejemplo, las absorciones que ocurren en 1263 y 946cm^{-1} en la amilosa V, se corren a 1254 y 936cm^{-1} en la conversión a la amilosa B.

CAPITULO 2

PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Origen y preparación de las muestras

Los compuestos de inclusión de amilosa con ácidos grasos se hicieron utilizando almidón comercial derivado del maíz, con 70% de amilosa (A7043SIGMA); a una proporción de 1:10 (ácido graso:amilosa).

Para la formación de los clatratos, primero se mantuvo en agitación constante una solución de amilosa con agua (2g de amilosa en 200ml de agua) a una temperatura cercana a 85°C, durante aproximadamente 30 minutos; a esto se le agregaron 0.2g del ácido graso, continuando la agitación durante 30 minutos más. Esta nueva solución se dejó enfriar a temperatura ambiente, durante 24 horas en las cuales precipitaron los compuestos de inclusión que formó la amilosa con el ácido graso. Una vez precipitado el clatrato, se decantó el agua y se filtró el resto de la solución junto con los clatratos; el sólido que se recogió fue después lavado con tetracloruro de carbono --para retirar el excedente de ácidos libres, que no se clatrato--. Finalmente la muestra resultante se dejó secar a temperatura ambiente. Los polvos para el análisis de DRX, IR y DSC, se obtuvieron triturando las muestras hasta obtener un tamaño de partícula inferior a 0.1mm, realizándose la molienda bajo inmersión en nitrógeno líquido (77K) para minimizar el daño estructural por efectos mecánicos.

Para las muestras de DSC se preparó una mezcla de agua-clatrato con una relación en peso de 2:1, depositándola en cápsulas de alta presión selladas herméticamente, para evitar alguna pérdida de muestra durante la medición debido a la evaporación del agua.

2.2 MÉTODOS EXPERIMENTALES

2.2.1 DIFRACCIÓN DE RAYOS-X (DRX)

Los difractogramas de DRX se registraron en un difractómetro de polvo *Siemens D-500* usando radiación $CuK\alpha$ (1.5469\AA) a $30kV$ y $20mA$. Las mediciones se hicieron en el rango de $4 - 40^\circ 2\theta$, a una velocidad de $0.01^\circ/\text{seg}$ con un tiempo de toma de muestra (por punto) de 5 seg.

Una de las propiedades más importante de los rayos-X es su fuerte poder de penetración. La capacidad de penetración del haz de rayos-X en la substancia, depende de la naturaleza de los rayos-X y la substancia. Otra propiedad importante es que a ciertos ángulos y longitudes de onda un cristal reflejará fuertemente un haz de rayos-X. El efecto es el de una difracción de onda.

Los rayos-X, que son radiaciones electromagnéticas, tienen longitudes de onda varios miles de veces menores que la luz visible, por esto los métodos normales de espectroscopia no pueden ser usados para medir la longitud de onda o la frecuencia de los rayos-X. Sin embargo, en 1912 se descubrió que los cristales actúan como gradillas de difracción de rayos-X; la difracción ocurre gracias a que los rayos-X tienen longitud de onda de 10^{-8} y 10^{-9} cm, mientras que la distancia promedio entre los átomos de un sólido es de 10^{-7} y 10^{-8} cm. Además un cristal tiene alguna unidad atómica o molecular arreglada de forma repetitiva, la cual resulta en la simetría cristalina observada. Las propiedades de los rayos-X y los cristales resultan en condiciones análogas a las que ocurren cuando la luz visible atraviesa una gradilla óptica (discontinuidades regularmente espaciadas, separadas por distancias de varias veces la longitud de onda de la radiación incidente). Es posible, entonces, usar la difracción de los rayos-X en un cristal para hacer una medida cuantitativa de las distancias interplanares del cristal. La relación para hacer esto fue dada por Bragg.

Bragg encontró que se podía calcular esta distancia interplanar, conociendo la posición del haz difractado producido por un cristal en un haz de rayos-X, utilizando un simple modelo que asume que los rayos X son reflejados especularmente por los varios planos de átomos en un cristal. Los haces difractados se pueden encontrar, solo bajo condiciones especiales, cuando las reflexiones de planos paralelos de los átomos interfieren constructivamente

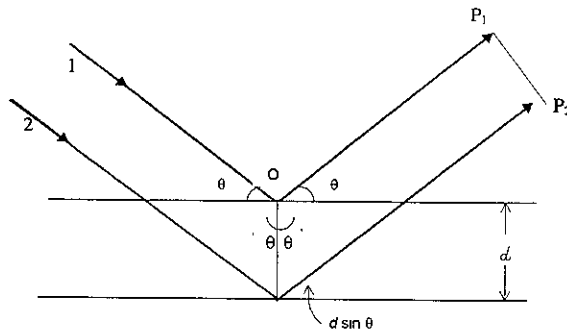


Figura 2.1. La reflexión de los rayos-X por un cristal, ilustrando la deducción de la ecuación de Bragg $n\lambda = 2d \sin \theta$; donde d es la distancia entre los planos atómicos (o moleculares) y $2n\pi$ es la diferencia en fase entre las reflexiones de planos sucesivos.

La condición para obtener un máximo de la reflexión de rayos-X, la ecuación de Bragg, puede ser obtenida analizando la Fig. 2-1. Considerando en el cristal una serie de planos atómicos (o moleculares) que suponemos reflejan parcialmente la radiación con longitud de onda λ y que están igualmente espaciados por una distancia d . La radiación incide sobre el plano del cristal. La diferencia de trayectorias de los rayos reflejados por planos adyacentes es $2d \sin \theta$. Habrá un refuerzo de la radiación reflejada de planos sucesivos, cuando la diferencia de trayectoria es un número entero n de la longitud de onda. La condición para que haya una reflexión constructiva es que

$$2d \sin \theta = n\lambda \quad \text{con } n = 1, 2, 3, \dots$$

Esta es la Ecuación de Bragg. Con esto podemos conocer la distancia entre los diferentes planos del cristal, que es

$$d = \frac{n\lambda}{2 \sin \theta}$$

Debemos enfatizar que la ec. de Bragg resulta de la periodicidad fundamental de la estructura, y que no se refiere a la composición o arreglo de los átomos asociados con los planos reflejantes. Esta última consideración, sin embargo, afecta la intensidad de la radiación difractada y determina la intensidad relativa de los diferentes órdenes n de difracción.

La intensidad de las líneas espectrales de DRX tiene dos contribuciones principales: (1) la dispersión de haces por la distribución electrónica en cada átomo (o molécula) de la celda unitaria, y (2) la dispersión de haces por la densidad electrónica total de la celda unitaria como si esta densidad estuviese en el origen de la celda

Una importante consecuencia de la ec. de Bragg es que, para que ocurra la reflexión de Bragg es necesario que

$$\lambda \leq 2d.$$

En nuestro caso, por ejemplo, la longitud de onda de la línea de radiación incidente de $\text{CuK}\alpha$ es de 1.54\AA . Por lo que $d \geq \frac{1}{2}\lambda = 0.77\text{\AA}$. De acuerdo con lo antes reportado para los cristales de amilosa tipo B y V, las distancias d están entre los valores 2.5 y 10, mayores a $\frac{1}{2}\lambda$; por esto un rango adecuado para el valor de 2θ es $4\text{-}40^\circ$.

En el método de polvo, una muestra de polvo cristalino se coloca en una posición fija en un haz monocromático. La radiación monocromática incidente choca con la muestra fina de polvo (o policristalino granulado) contenida en un cilindro con paredes pequeñas. Entre la distribución de orientaciones cristalinas, habrá algunos para los cuales el ángulo de incidencia satisfaga la ley de Bragg. Los rayos difractados salen de cristales individuales que están orientados con planos, haciendo un ángulo θ con el haz, satisfaciendo la ley de Bragg.

2.2.2 Espectroscopía de Absorción Infrarroja

Para los espectros de absorción de IR, registrados en el rango de $400 - 1200\text{ cm}^{-1}$, se empleó un espectrómetro *Attí Mattson (Serie Génesis)* mediante la técnica del disco prensado de KBr

La *espectroscopía de absorción* es la medición de la cantidad de luz absorbida por un compuesto en función de la longitud de onda de la luz. En general se irradia una muestra por medio de una fuente luminosa, y se mide la cantidad de luz transmitida en varias longitudes de onda mediante un detector. A diferencia de las pruebas químicas, las técnicas espectroscópicas son no destructivas. La *espectroscopía infrarroja* observa las vibraciones de enlaces y proporciona evidencias de los grupos funcionales presentes

ORÍGEN DEL ESPECTRO MOLECULAR

Como una primera aproximación, es posible separar la energía de una molécula en tres componentes aditivos asociados con: (1) la rotación de la molécula como un todo, (2) las vibraciones de los átomos constituyentes, y (3) el movimiento de los electrones en la molécula^a. La energía de translación va a ser ignorada en esta discusión. La base de la separación recae en el hecho de que la velocidad del electrón es mucho mayor a la velocidad vibracional del núcleo, que a su vez es mucho mayor a la velocidad de rotación de la molécula. Si una molécula se coloca en un campo electromagnético (e.g. luz), ocurrirá una transferencia de energía del campo a la molécula, sólo cuando se cumplen ciertas condiciones. Las ondas electromagnéticas viajan como fotones, la energía de un fotón es proporcional a su frecuencia, e inversamente proporcional a su longitud de onda^b. Un fotón de frecuencia ν o longitud de onda λ , tiene su energía dada por:

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (1)$$

donde h es la constante de Plank, 6.62×10^{-37} kJ·seg.

Bajo ciertas condiciones, una molécula golpeada por un fotón puede absorber la energía de este. En este caso, la energía de la molécula aumenta en una cantidad igual a la energía del fotón. Entonces. La transferencia de energía ocurrirá cuando se cumple la condición de frecuencias de Bohr: $\Delta E = h\nu$, donde ΔE es la diferencia entre dos estados cuantizados. Si

$$\Delta E = E'' - E' \quad (2)$$

donde E'' es un estado cuantizado de mayor energía que E' , la molécula absorbe radiación cuando es excitado de E' a E'' y emite radiación de la misma frecuencias que en la ecuación (1) cuando se revierte de E'' a E'

^a Aquí la palabra molécula puede representar un ion

^b La frecuencia, ν , se convierte en el número de onda, ν , o el numero de onda, λ_w . A través de la relacion

$$\nu = c\nu = \frac{c}{\lambda_w}$$

donde c es la velocidad de la luz. Para fines teóricos, ν y ν , son más convenientes que λ_w , ya que son proporcionales a la energía de la radiación.

Debido a que los niveles rotacionales son relativamente cercanos entre sí, las transiciones entre estos niveles ocurren a frecuencias bajas (longitudes de onda grandes). De hecho, un espectro puro de rotación aparece en el rango de $1 - 10^2 \text{ cm}^{-1}$. La separación entre los niveles de energía vibracional es mayor, y la transición ocurre a frecuencias mayores (longitudes de onda menores) que en las que ocurren las transiciones rotacionales. Como resultado, un espectro puro de vibración se observa en el rango de $10^2 - 10^4 \text{ cm}^{-1}$. Finalmente, los niveles de energía electrónicos generalmente están bastante alejados, y el espectro electrónico se observa en el rango de $10^4 - 10^6 \text{ cm}^{-1}$. Estos espectros rotacionales, vibracionales y electrónicos, puros, son observados generalmente en las regiones de microondas y de infrarrojo lejano, en el infrarrojo, y en el visible y ultravioleta, respectivamente. La división en tres regiones es de alguna forma arbitraria, ya que un espectro rotacional puro puede aparecer en la región del infrarrojo cercano ($1.5 \sim 0.5 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$) si están involucradas transiciones a estados más excitados, y transiciones puramente electrónicas pueden aparecer en la región del infrarrojo cercano si los niveles están cercanamente espaciados.

En este trabajo solo se tratará el espectro vibracional, sin mencionar más acerca de los espectros rotacionales y electrónicos. A pesar de que los espectros vibracionales se observan experimentalmente como espectros Raman o Infrarrojo, el origen físico de estos dos tipos de espectros es diferente. El espectro infrarrojo se origina en transiciones entre dos niveles vibracionales de la molécula en el estado base y generalmente se observan como *espectros de absorción* en la región infrarroja. Por otro lado, el espectro Raman se origina en la polarización electrónica causada por luz visible o ultravioleta, cuando hay una dispersión de la luz con un corrimiento de la longitud de onda de la radiación monocromática incidente.

En el efecto Raman hay una dispersión de la luz de un gas, líquido o sólido con un corrimiento de la longitud de onda de la radiación monocromática incidente. Si la polarizabilidad de una molécula cambia cuando rota o vibra, la frecuencia de la radiación incidente, de acuerdo a la teoría clásica, debe de producir una dispersión de la radiación, con la frecuencia, ν , inalterada en la parte más intensa de la radiación (dispersión de Rayleigh) y unas líneas nuevas de menor intensidad y de frecuencias $\nu \pm \nu_k$, donde ν_k es la frecuencia molecular de vibración o rotación.

Para determinar la actividad de las vibraciones en el espectro infrarrojo y en el Raman, se debe de aplicar la regla de selección a cada vibración normal. Si la molécula tiene N átomos, entonces tendrá $3N-6$ modos normales de vibración, sólo de movimiento. Desde un punto de vista de mecánica cuántica, una vibración es activa en el espectro infrarrojo si el momento dipolar de la molécula cambia durante la vibración, y el resto de las vibraciones son activas en el espectro Raman cuando la polarización de la molécula cambia durante la vibración. Cambios en el momento dipolar o en la polarización no son obvios con una inspección de los modos normales de vibración, en la mayoría de las moléculas poliatómicas. La aplicación de la teoría de grupos da una solución clara y concisa a este problema. Por ejemplo, en una molécula que tiene centro de simetría, las vibraciones antisimétricas con respecto al centro de simetría son activas en el infrarrojo y no son Raman activas.

La espectroscopía Infrarroja, al igual que la Raman, es un método para determinar los modos del movimiento molecular, especialmente los vibratorios. Su uso en el análisis se basa en la especificidad de estas vibraciones. Los métodos son predominantemente aplicables al análisis cuantitativo y cualitativo de moléculas unidas por enlaces covalentes, en lugar de estructuras iónicas.

La *región del infrarrojo* del espectro corresponde a frecuencias que van desde valores inferiores a las frecuencias del visible hasta valores que colindan con frecuencias más altas de microondas y de radio. longitudes de onda desde unos $8 \times 10^{-5} \text{ cm}$ hasta $1 \times 10^{-2} \text{ cm}$ (en esta tesis trabajamos con el espectrómetro en la región de 8×10^{-4} a $2.5 \times 10^{-3} \text{ cm}$ /400 a 1200 cm^{-1}). Aunque los fotones infrarrojo no tienen suficiente energía para provocar transiciones electrónicas, pueden hacer que vibren grupos de átomos con respecto a los enlaces que los unen. Al igual que las transiciones electrónicas, estas transiciones vibratorias corresponden a energías específicas, y las moléculas sólo absorben radiación infrarroja a ciertas longitudes de onda y frecuencias.

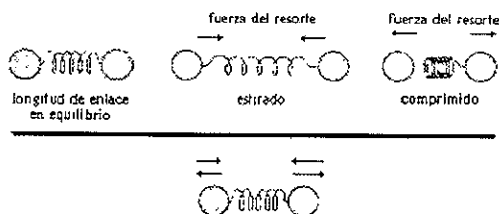


Figura 2.2. Representación de un enlace covalente de dos átomos por medio de la analogía de un resorte.

Antes de describir las absorciones infrarrojas características, se debe de comprender algo de la teoría sobre las energías vibratorias de las moléculas. En la Figura 2.2 se muestra el enlace covalente entre dos átomos por medio de la analogía de un resorte. Si se estira el enlace, una fuerza de restauración jala entre sí a los dos átomos hacia la longitud del enlace en equilibrio. Si se comprime el enlace, la fuerza de restitución empuja los dos átomos, apartándolos. Si se estira o comprime el enlace y después se suelta, los átomos vibran.

La frecuencia de la vibración de tensión depende de dos cantidades. las masas de los átomos y la rigidez del enlace. Los átomos mas pesados vibran más lentamente que los más ligeros. Por ejemplo, un enlace C—D tiene una frecuencia característica menos que un enlace C—H. En un grupo de enlaces con energías similares de enlace, la frecuencia disminuye con el peso atómico.

Los enlaces más fuertes por lo general son más rígidos y necesitan de mayor fuerza para extenderlos o comprimirlos. Por ello, vibran más rápidamente que los enlaces más débiles (suponiendo que los átomos tengan masas semejantes). Por ejemplo, los enlaces O—H son más fuertes que los C—H y los anteriores vibran a mayor frecuencia. Los triples enlaces son más fuertes que los dobles enlaces, y por lo tanto, vibran a mayor frecuencia. Igualmente los dobles enlaces vibran a mayores frecuencias que los enlaces sencillos. En un grupo de enlaces que tienen átomos de masas semejantes, la frecuencia aumenta con la energía del enlace.

De la observación del espectro infrarrojo de un gran número de compuestos que tienen en común a un cierto grupo de átomos, se encontró que, sin importar el resto de la molécula, este grupo en común absorbe en un estrecho rango de frecuencias, conocidas como *frecuencias de grupo*. Por ejemplo, las frecuencias del grupo metil son 3000-2860,

1470-1400, 1380-1200 y 1200-800 cm^{-1} . Se han encontrado las frecuencias de grupo para un gran número de grupos orgánicos e inorgánicos, y han sido compendiadas en las *Tablas de Frecuencias de Grupo*, que son de gran utilidad en la identificación de grupos atómicos a partir de espectros infrarrojos. El concepto de las frecuencias de grupo recae en la suposición de que las vibraciones de un grupo en particular sean relativamente independientes al resto de la molécula.

Aun en el caso de los compuestos simples, los espectros infrarrojos contienen muchas absorciones diferentes, y no solo una absorción por cada enlace. Muchas de estas absorciones se originan en las vibraciones de tensión de la molécula como un todo, o por vibraciones de flexión. En una vibración de flexión, las longitudes de los enlaces permanecen constantes, pero los ángulos de enlace vibran con respecto a sus valores de equilibrio.

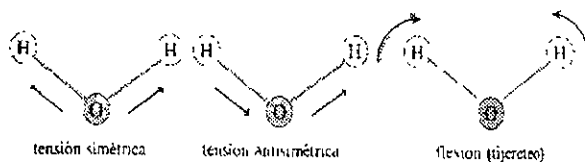


Figura 2.3. Una molécula no lineal con n átomos tiene $3N-6$ modos de vibraciones fundamentales. El agua tiene $3(3)-6=3$ modos. Dos de ellos son modos de tensión y uno de ellos es modo de flexión.

Consideremos los dos tipos de vibración fundamentales de una molécula de agua (Fig.2.3). Los dos enlaces O—H se pueden tensionar en fase entre sí (tensión simétrica), o se pueden tensionar fuera de fase (tensión antisimétrica). El ángulo de enlace H—O—H también puede variar en una vibración de flexión, porque se tiene un movimiento como el de las tijeras.

Una molécula no lineal con N átomos tiene por lo general $3N - 6$ modos fundamentales de vibración. También se observan combinaciones y múltiplos de estos modos simples o "fundamentales" de vibración. Como se puede ver, el número de absorciones en un espectro infrarrojo puede ser bastante grande, aun para moléculas sencillas.

Es poco probable que dos compuestos diferentes tengan las mismas frecuencias para todas sus vibraciones complejas. Por este motivo, se considera que el espectro infrarrojo da una "huella dactilar" de una molécula. Por esto, la región del espectro infrarrojo

que contiene la mayor parte de estas vibraciones complejas ($600 - 1400 \text{ cm}^{-1}$) se llama normalmente *región dactilar* del espectro

Como las vibraciones de tensión simple son las más características y predecibles, el estudio de la espectroscopía infrarroja se concentra más en ella.

VIBRACIONES ACTIVAS E INACTIVAS EN INFRARROJO

No todas las vibraciones moleculares absorben radiación infrarroja. Para comprender cuáles lo hacen y cuáles no, se necesita tener en cuenta cómo interacciona un campo electromagnético con un enlace molecular (i.e., depende de la interacción del momento dipolar, en el enlace molecular, con algún campo electromagnético externo). Visualizando al enlace con momento dipolar, como una carga positiva y una negativa separadas por un resorte; al colocar este enlace en un campo eléctrico (Fig.2.4) este se estira o se comprime, dependiendo de la orientación del campo

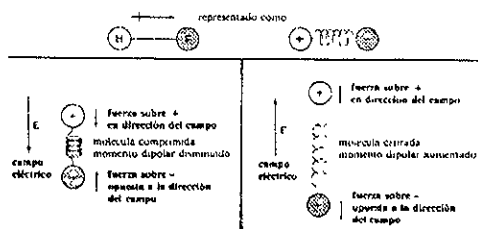


Figura 2.4. Un enlace con un momento dipolar (como por ejemplo en HF) puede estar estirado o comprimido por un campo eléctrico, dependiendo de la dirección de éste. Note que la fuerza en la carga positiva se aplica en la dirección del campo eléctrico (E), y la fuerza sobre la carga negativa, en la dirección opuesta

Al someter al enlace polar a la acción de una onda electromagnética, el componente del campo eléctrico (E) (que periódicamente invierte su sentido) hace que el enlace se extienda y se comprima alternadamente, como se muestra en la Figura 2.4. Cuando E está en la misma dirección que el momento dipolar, se comprime el enlace y disminuye su momento dipolar. Cuando el campo se opone al momento dipolar, el enlace se estira y aumenta su momento dipolar. Si estas compresiones y extensiones alternadas del enlace, debido a la onda electromagnética, ocurren a la misma frecuencia que la velocidad natural de vibración de la molécula, entonces esta absorberá energía. Las vibraciones de enlaces

con momentos dipolares generalmente ocasionan absorciones infrarrojas y se dice que son *activas en infrarrojo*.

Si un enlace es simétrico tal que su momento dipolar es cero, el campo eléctrico **E** no interacciona con él. Por ejemplo, el triple enlace del acetileno ($\text{H} - \text{C} \equiv \text{C} - \text{H}$) tiene momento dipolar cero, y sigue siendo cero si se estira o se comprime. Ya que la vibración no produce cambio en el momento dipolar, no puede haber absorción de energía. Se dice que esta vibración es inactiva en infrarrojo, y que no se observa su frecuencia característica en el espectro infrarrojo. La clave de una vibración activa en el infrarrojo es que la vibración debe de cambiar el momento dipolar de la molécula

En general, si un enlace tiene un momento dipolar diferente de cero, su frecuencia de tensión origina una absorción en el espectro infrarrojo. Si, en cambio, el enlace es simétrico y tiene momento dipolar cero, su vibración de tensión es débil o está ausente en el espectro. Los enlaces con momentos dipolares cero a veces producen absorciones (generalmente débiles) debido a las colisiones moleculares, rotaciones y otras vibraciones que las hacen asimétricas durante parte del tiempo.

MEDICIONES DEL ESPECTRO INFRARROJO

Un *espectrómetro infrarrojo* mide las frecuencias de la luz infrarroja que absorbe un compuesto. En un instrumento típico, se emplean dos rayos de luz. El *rayo de muestra* pasa a través de la celda de la muestra, que la mantiene en forma de capa delgada, o en disolución. El *rayo de referencia* pasa a través de una celda de referencia que contiene sólo el solvente. Un espejo rotatorio permite que la luz de cada rayo llegue en forma alternada al monocromador.

El monocromador emplea prismas o rejillas de difracción para permitir el paso de solamente una frecuencia de luz hacia el detector. Recorre el rango de frecuencias del infrarrojo, haciendo mover una plumilla a lo largo del eje x de una gráfica donde se indican las frecuencias correspondientes. La señal del detector es proporcional a la diferencia en la intensidad de la luz de los rayos de muestra y de referencia. El rayo de referencia compensa cualquier absorción por el aire o por el solvente.

2.2.3. CALORIMETRÍA DE BARRIDO DIFERENCIAL (DSC)

Los estudios de calorimetría (DSC) se realizaron en un equipo *Perkin Elmer: Pyris-1* calibrado con Indio, utilizando un rango de 45-160°C con un barrido de 10°C/min.

Cuando un material sufre un cambio de estado físico, como cambios de fase, la fusión o la transición de una forma cristalina a otra, o cuando reacciona químicamente (oxidación, reducción, deshidratación, recombinación química, descomposición...), siempre se libera o se absorbe calor. Estos cambios de energía pueden ser detectados y medidos, y los datos obtenidos pueden ser utilizados para identificar distintos materiales. Muchos de los procesos pueden ser iniciados con tan solo aumentar la temperatura del material.

Los calorímetros diferenciales de barrido, están diseñados para determinar las entalpías de estos procesos midiendo (diferencialmente) el flujo de calor necesario para mantener una muestra del material y un material inerte de referencia a la misma temperatura. Normalmente esta temperatura es programada para hacer un barrido sobre el rango de temperatura, aumentando linealmente a una razón de cambio predeterminada

En general, el objetivo de los sistemas térmicos diferenciales es grabar las diferencias entre los cambios de entalpía que ocurren en una muestra y los que ocurren en un material (inerte) de referencia, cuando ambos son calentados. Los sistemas que realizan esto pueden clasificarse en tres tipos: (1)DTA^c clásico, (2) DTA "Boersman", y (3) DSC. Las diferencias mas importantes entre estos tres tipos de sistemas están ilustrados en la Figura 2 5. [Perki-Elmer Corp., No 9] La ventaja de estos métodos es que utilizando aparatos relativamente sencillos se puede obtener información que no otros procesos analíticos no brindan.

En estos sistemas se graban las reacciones exotérmicas y endotérmicas como desviaciones positivas y negativas de la línea base.

^c DTA: el Análisis Térmico Diferencial

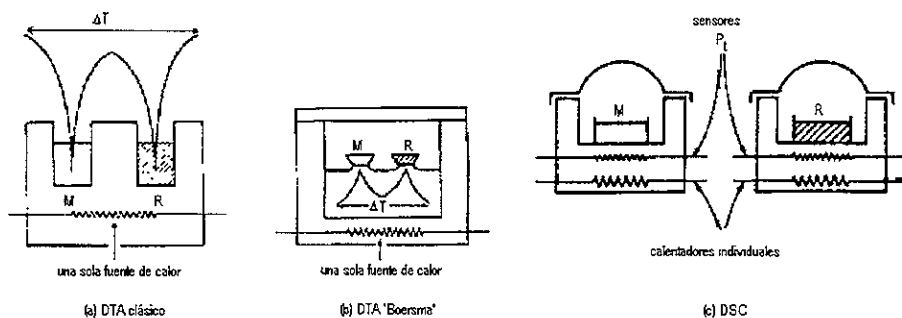


Figura 2.5. Representación esquemática de los tres principales sistemas de análisis térmico.

En los sistemas de DTA clásico y Boersma, la muestra y la referencia son calentados por una sola fuente de calor. Las temperaturas son medidas por sensores puestos dentro de los materiales de muestra y de referencia (clásico), o pegados a las cazuelas que contienen el material (Boersma). El aparato mide la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia como función de la temperatura, y presenta los datos en una gráfica de ΔT vs. T . La magnitud de ΔT , en cualquier T (o tiempo ya que se puede programar para que caliente a un ritmo constante de cambio de temperatura, dT/dt) es función de: (1) el cambio en la entalpía, (2) la capacidad calórica, y (3) la resistencia total al flujo de calor, R . La resistencia térmica al flujo de calor depende de la naturaleza de la muestra, la forma en que fue empacada en el recipiente, y la extensión del contacto térmico entre el recipiente y el soporte del mismo. La resistencia térmica, y por lo tanto la constante de calibración del aparato, está en función de la temperatura. Con ninguno de los dos sistemas de DTA se puede hacer una conversión simple del área del pico de la gráfica de ΔT vs. T , a unidades de energía. Esto es debido a: (a) la necesidad de conocer la capacidad calórica y (b) las variaciones de R , y por lo tanto la constante de calibración, con la temperatura. Es por esto que los sistemas de DTA no son apropiados para mediciones calorimétricas.

En los sistemas de DSC la muestra y la referencia están provistos de calentadores independientes (permitiendo que la medición sea llevada sin diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia), las temperaturas son medidas por termopares conectados a los recipientes de la muestra y de la referencia.

Suponiendo que el sistema está dividido en dos circuitos de control, como se muestra en la Figura 2.6. Una es para el control de la temperatura promedio, para que la temperatura

(T_p) de la muestra y de la referencia puedan aumentar a una rapidez predeterminada, que es grabada. El segundo circuito asegura que si la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia aumenta (por reacciones exotérmicas o endotérmicas en la muestra), el poder del suministro de entrada se ajusta para remover esta diferencia. Entonces, con ajustes continuos y automáticos de la potencia del calentador, la temperatura del soporte de la muestra se mantiene siempre igual a la del soporte de la referencia. Con esto llega a la grabadora una señal proporcional a la diferencia entre el suministro de calor a la muestra y el de la referencia, dH/dt .

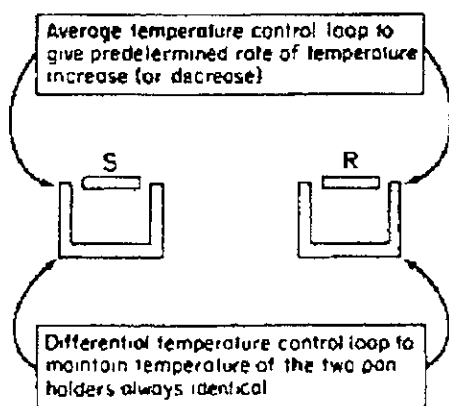


Figura 2.6. Representación esquemática de los circuitos de control del DSC.

En la Figura 2.7 se muestra un termograma, o registro diferencial del suministro de calor idealizado, dH/dt , contra la temperatura T (o el tiempo t , en el mismo eje). En general, los instrumentos de DSC tienen un sensibilidad de 0.1 mcal s^{-1} para una deflexión de escala completa, y son normalmente usados con cantidades de miligramos de la muestra. Y el rango de la temperatura de operación es de -175 a $+725^\circ\text{C}$.

Para que los datos obtenidos de esta técnica sean confiables hay que tener en cuenta aspectos importantes de la teoría y del diseño de los calorímetros diferenciales de barrido, como los siguientes.

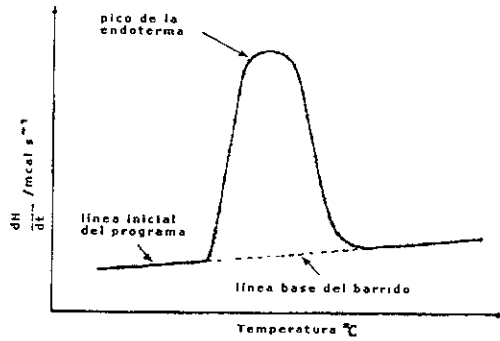


Figura 2.7. Termograma de DSC idealizado

La masa térmica de los soportes de la muestra y de la referencia se lleva a un mínimo, la resistencia térmica se reduce lo mas posible y el circuito de control de poder (el segundo circuito que se mencionó) debe de ser un de alto circuito de 'ganancia'. Estas medidas de control aseguran que la respuesta del sistema sea corta. Consecuentemente, la suposición de que los soportes de la muestra y de la referencia están siempre a la misma temperatura T_p , es válida. La respuesta del sistema depende de la resistencia térmica entre el soporte y los alrededores, R (Fig. 2.8), pero no se ve afectado por un cambio en la muestra. También, para muestras de peso chico en contacto cercano con el recipiente de la muestra, la resistencia térmica del recipiente y de la muestra, R_m , es muy pequeña usando una rapidez de barrido moderada comparada con la resistencia entre el recipiente y el soporte, R_0 .

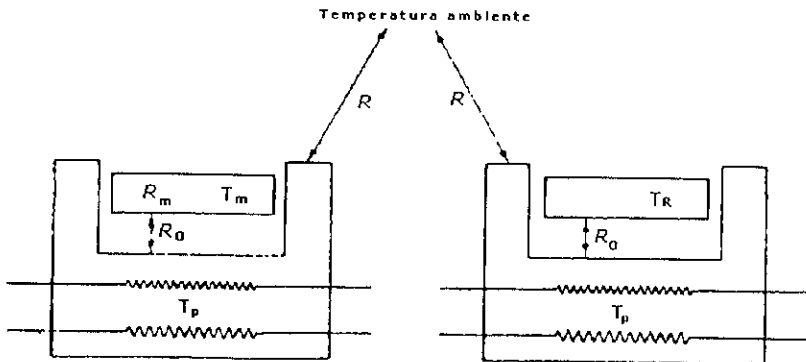


Figura 2.8. Resistencia Térmica en el sistema del DSC

Antes de realizar cualquier medición, el calorímetro debe de ser calibrado para obtener una constante de calibración en unidades de mcal (unidad de área)⁻¹ y para fijar la escala. En la calibración generalmente se usan metales de gran pureza que tienen entalpías de fusión bien conocidas. El calibrador que se usa más comúnmente, y el cual se utilizó en esta tesis, es el Indio, que tiene $\Delta H(\text{fusión}) = 6.80 \text{ cal g}^{-1}$ y p.f. 156.4°C. La cazuela del calibrador (con 5 o 10 mg de Indio) se pone en el lugar de la muestra y se corre una muestra utilizando una rapidez de calentamiento, dT_p/dt , una sensibilidad (rango de temperatura) y una rapidez de registro, programado por la computadora, para obtener el termograma con el pico de fusión. La computadora obtiene el área entre la línea base y el pico, con este dato se puede obtener la constante de calibración, k , en mcal (unidad de área)⁻¹ de la relación

$$k = \frac{\Delta H(\text{fusión}) \times m_c}{A_c} \quad [k] = \text{mcal (unidad de área)}^{-1}$$

donde $\Delta H(\text{fusión})$ es la entalpía de fusión del calibrador en mcal g⁻¹, m_c es la masa del calibrador en miligramos y A_c es el área del pico del termograma de calibración.

El valor de k puede ser usado para encontrar los valores de la entalpía ΔH_m , de otra muestra, usando la relación

$$\Delta H_m = \frac{k \times C_m \times r_c \times M \times A_m}{C_c \times r_m \times m_m} \times 10^{-3} \text{ (kcal mol}^{-1}\text{)}$$

donde C_c y C_m son las velocidades de registro de la toma de la calibración y de la muestra, respectivamente, r_c y r_m son la sensibilidad (el rango), en mcal s⁻¹, usados para la corrida de la calibración y de la muestra, respectivamente; M es el peso molecular de la muestra; m_m es la masa de la muestra en miligramos; y A_m es el área del pico del termograma de la muestra. Es importante para obtener resultados precisos, asegurarse que la velocidad de calentamiento usada para calibrar sea la misma que la utilizada para la muestra, para asegurar que R_o se mantiene constante.

Como la muestra y la referencia se encuentran a la misma temperatura, la constante de calibración del instrumento es independiente de la temperatura (esto simplifica las técnicas experimentales ya que la calibración se tiene que hacer solo para un material). Debido a que la muestra y la referencia tienen cada uno un calentador independiente, la diferencia del flujo de calor en la muestra y la referencia para mantener temperaturas iguales se puede medir directamente. Entonces, los datos son obtenidos en forma diferencial del suministro de calor (dH/dt) vs. temperatura (o tiempo, ya que es constante la razón de calentamiento que se usa). Estos datos pueden ser usados para obtener la temperatura y la entalpía de transición.

Es también de gran importancia considerar el calor específico ya que, cuando una muestra de material está sujeta a un aumento lineal de temperatura, la razón de cambio del flujo de calor en la muestra es proporcional a su calor específico instantáneo. Tomando esta razón de cambio del flujo de calor como función de la temperatura y comparándola con un material estándar bajo las mismas condiciones, podemos obtener el calor específico C_p [Perki-Elmer Corp., No. 3]. Esto se puede hacer usando la relación siguiente

$$\frac{dH}{dt} = mC_p \cdot \frac{dT_p}{dt}$$

donde m es la masa de la muestra en gramos, C_p es el calor específico en cal g^{-1} y dT_p/dt es la rapidez programada para el aumento de temperatura

El uso del DSC empezó desde principios de 1970. A pesar que el DSC proporciona datos más cuantitativos y aplicables a la interpretación teórica que la técnica del DTA, no ha sido tan ampliamente utilizado como el segundo. La técnica de DSC ha sido aplicada a diversos tipos de compuestos, productos derivados del petróleo, plásticos, sistemas biológicos y compuestos metálicos. El área que ha utilizado la técnica de DSC con más detalle ha sido la de investigación de polímeros.

CAPITULO 3

RESULTADOS Y DISCUSION

El fenómeno de las interacciones entre almidón y lípido, es bien conocido en la industria alimenticia, es bien sabido que al añadir lípidos a alimentos que contienen almidón se logra modificar la textura de estos productos. Los efectos de los lípidos en las propiedades del almidón se han explicado por medio de la formación del complejo (clatrato) amilosa-lípido. Gracias a la capacidad que tienen de alterar las propiedades de los alimentos al formar los clatratos, se han utilizado los lípidos para aumentar el tiempo de anaquel del pan (retrazando la rigidez y retrogradación del almidón) , para disminuir lo pegajoso de la pasta y de las hojuelas de papa y de los productos ricos en almidón y para controlar la textura de los alimentos. Los lípidos pueden incluso afectar la gelatinización y el comportamiento reológico del almidón.

A pesar de que se les atribuye a los lípidos estas propiedades, no se conoce con precisión lo que ocurre a nivel molecular. Esto es debido a que resulta difícil hacer una descripción de los procesos y de la organización molecular de estos compuestos (que contienen almidón y lípidos) porque la amilosa puede existir en varios estados de agregación, dependiendo de la historia termomecánica del sistema. Aunado a esto, para complicar más las cosas, están las variantes de las propiedades de los clatratos que aportan los lípidos (características como el tamaño, el comportamiento de la fase en la que se encuentra y, también, la proporción en la que se usa). Es por esto que resulta más fácil estudiarlo haciendo una simplificación del fenómeno, tratando de reproducir lo mejor posible lo que ocurre en los procesos reales

Resulta lógico pensar en atacar el problema aislando una característica de los lípidos dejándola como variable única, para así ver cómo está afecta las propiedades y la formación de los clatratos. Sin embargo, existen pocos trabajos con estudios sistemáticos de este tipo [Biliaderes, 1989; Kowalsky]

Teniendo esto en cuenta y sabiendo que bajo el tratamiento alcalino de la nixtamalización ocurre la saponificación de las grasas del maíz, se hizo el trabajo que aquí se presenta; un estudio de las propiedades físicas de los clatratos de amilosa formados con ácidos grasos (moléculas simples de cadenas alifáticas) de diferentes longitudes. Se

variaron de 2 a 21 el número de carbonos de la cadena alifática de los ácidos grasos. Estos diferentes compuestos fueron comparados cualitativamente, tomando a la amilosa gelatinizada como 'control', por medio de tres técnicas experimentales: difracción de rayos-X (DRX), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y espectroscopía de infrarrojos (IR).

DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Por medio de la difracción de rayos X (DRX) se conoce la forma de los cristales de la amilosa gelatinizada, ya reportado en numerosos trabajos⁹. Con base en esto podemos analizar el comportamiento de los cristales de la amilosa helicoidal formando compuestos de inclusión con los ácidos grasos.

Antes de analizar los difractogramas es importante recordar como se vió en el Capítulo 2 la intensidad de los picos de DRX tienen dos contribuciones principales: (1) la dispersión de haces por la distribución electrónica en cada átomo (o molécula) de la celda unitaria, y (2) la dispersión de haces por la densidad electrónica total de la celda unitaria como si ésta densidad estuviese en el origen de la celda. Entonces, cualquier aumento en la intensidad de las reflexiones de los difractogramas la podemos atribuir al aumento de la densidad electrónica de alguna de estas contribuciones.

En la Figura 3 1 se muestra el espectro de DRX de la amilosa gelatinizada y reposada (difractograma 'control'), el cual muestra las reflexiones más intensas en los valores de 2θ de 7, 17.2, 20, 22.4 y 24.3°, equivalentes a distancias interplanares de $d \approx 14.5, 5.21, 4.44, 4.03, 3.4 \text{ \AA}$. Este patrón de difracción se asemeja al patrón de la B-amilosa que ubica sus picos cerca de 6, 15, 17, 20, 22.5 y 24.5° 2θ . En los dos casos la reflexión primaria -la más intensa- cae en 2θ cercano a 17° y la forma de las intensidades relativas, en ambos patrones guardan una relación similar. Podemos, entonces, suponer que inicialmente la amilosa se encuentra en una fase de la amilosa B, por lo que se espera que la distribución atómica dentro de los cristales sea parecida a la reportada para la amilosa B. La diferencia entre los difractogramas de la amilosa gelatinizada y la amilosa B se puede atribuir al proceso de obtención de la amilosa comercial, en el que primero el almidón es

⁹ véase And, Bear, Biliadens 1989a, Blackwell, Evans, Imberty, Lund, Kregger, Mervin, Murphy, Vainshtin, Zobel

tratado con butanol, precipitando así el compuesto de amilosa-butanol del cual posteriormente se extrae el butanol de la amilosa.

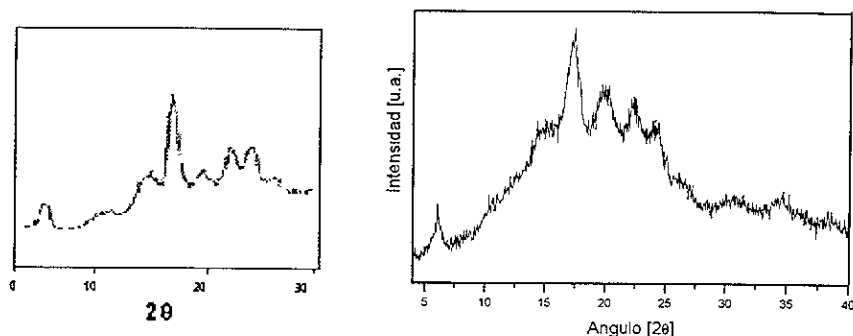


Figura 3.1 Espectros de DRX: (a) amilosa tipo B, (b) amilosa comercial. Mostrando P_A , el primer pico de reflexión.

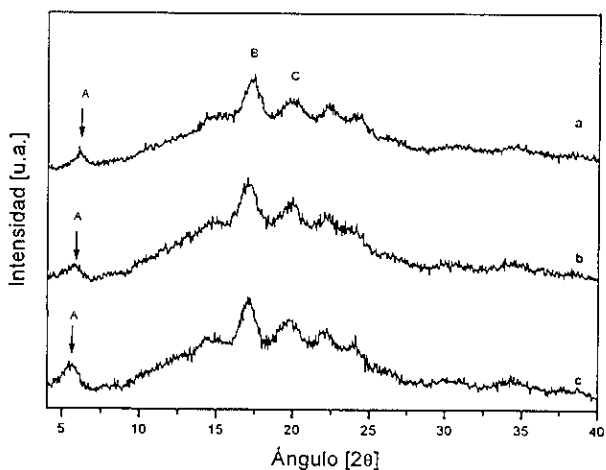


Figura 3.2 Espectros de DRX de (a) amilosa comercial y precipitados de (b) amilosa-ácido butírico (e) amilosa-ácido caprónico.

Como ya se dijo anteriormente se toma como patrón de referencia, 'control', el difractograma de rayos X obtenido de la amilosa gelatinizada, con el cual se analizan las diferencias observadas en los difractogramas de los precipitados de amilosa-ácido graso

Este análisis se hará siguiendo un orden creciente de la cadena alifática de los ácidos grasos, empezando por el precipitado de amilosa con ácido propiónico (3:0) y finalizando con el clatrato de ácido behénico (22:0).

En la Tabla 3.1 están los valores de las distancias interplanares (d) obtenidas en los difractogramas (Figuras 3.1 y 3.2) de la amilosa comercial y los 4 compuestos de inclusión con ácidos de cadenas cortas.

Tabla 3-1.- Distancias interplanares observadas e intensidades de las reflexiones de los cristales de amilosa y ácidos propionico, butírico, valérico y caproico

Acido del compuesto de inclusión	d_A	d_B	d_C	d_D	d_E
Intensidad	fuerte	muy fuerte	medio-fuerte	medio	medio
Amilosa gel.	14.5	5.21	4.44	4.03	3.7
Propiónico (3:0)	15.92	5.12	4.39	3.96	3.70
Butírico (4:0)	15.40	5.24	4.45	4.04	3.68
Valérico (5:0)	15.40	5.18	4.44	3.97	3.70
Capróico (6:0)	15.92	5.20	4.45	3.99	3.69

En términos generales podemos decir que la estructura y el arreglo de los cristales de estos primeros clatratos -con cadenas de hasta 6 átomos de carbono- se conservan similares a los de la amilosa comercial gelatinizada, a la amilosa *B*.

Cabe aquí la pregunta: Cómo puede resultar un DRX de amilosa *B* (forma natural del almidón), si en el proceso de obtención de la amilosa comercial se trata el almidón con butanol, precipitando así el compuesto de amilosa-butanol al cual posteriormente se le extrae el butanol de la amilosa. Entonces -por definición- ¿deberíamos de obtener un patrón de amilosa *V*?

De acuerdo con Blakwell *et al* · "...la amilosa que precipitó al formar clatratos con el butanol, presenta el patrón de DRX de la amilosa *V*; al remover la molécula huésped -utilizando metanol- el difractograma resultante es el de la amilosa V_a (a : anhídrica, a pesar de que más tarde se vió que esta estructura sí presenta algunas moléculas de agua). Esta amilosa V_a está formada por mono-hélices de amilosa formadas por 6 residuos de glucosa por vuelta, con un periodo de 8Å . La estructura V_a se convierte, por humidificación, primero en un hidrato más elevado conocido como amilosa V_h (h : hidratada), la cual tiene la misma conformación helicoidal de 6 residuos por vuelta, pero la separación entre las hélices aumenta de 13.0Å a 13.7Å debido a la inclusión de moléculas de agua entre las cadenas. Una humidificación consecutiva lleva a la formación de la estructura *B*-amilosa. La estructura de la amilosa *B* tiene cadenas de 6 residuos por vuelta y un periodo de 10.4Å . Se

sugirió después que el mecanismo de conversión de la forma *V*- a la forma *B*- involucra un estiramiento de las hélices, rompiendo los enlaces de hidrógeno internos, que se vuelven a formar gracias a la inserción de una molécula de agua entre dos grupos hidroxil, como se muestra en la Figura 1.13...”

Con esto podemos suponer que inicialmente se tenía una amilosa *V* la cual, al ser sometida al proceso para formar clatratos, fue humectada convirtiéndola primero en amilosa V_n y finalmente en amilosa *B* (mono-hélices de amilosa). Este proceso de conversión de la estructura *V*- a la *B*- puede ser la razón de las diferencias entre los difractogramas de estos clatratos --incluyendo a la amilosa comercial gelatinizada-- y el patrón reportado para la amilosa *B*.

En la Figura 3.2 vemos como desde el compuesto de inclusión con ácido caprónico (6:0) la forma del difractograma cambia, ligeramente, percibiéndose un incremento en la intensidad del primer pico (P_A). Hay un ligero salto al pasar de la cadena con 5 a la de 6 carbonos, ya que aumenta la intensidad de P_A . Por lo que se puede pensar que desde que la cadena del ácido graso tenga 6 átomos de carbono, se inicia una reorganización de la densidad electrónica dentro de los cristales; va habiendo una mayor concentración electrónica.

A partir del ácido decanoico (cáprico, 10:0) hay marcadas diferencias en el difractograma de los precipitados con ácidos de cadena 'larga':

- (i) aparece una nueva reflexión en la región de 2θ entre 6° y 10° (al que llamaremos P_o , Figuras 3.3 y 3.4),
- (ii) el primer pico (P_A) se va corriendo hacia ángulos menores conforme aumenta la longitud de la cadena alifática
- (iii) hay un cambio en las intensidades relativas, la reflexión de 20° (P_c) aumenta de intensidad convirtiéndose en la reflexión primaria -el pico de mayor intensidad-

En la Tabla 3.2 están los valores (tomados de las Figuras 3.3 y 3.4) de las distancias interplanares de los picos de reflexión que sufren cambios en este nuevo tipo de difractograma de los precipitados en los que se forman clatratos con ácidos grasos de cadenas 'largas' (de 10 a 22 átomos de carbono: decanoico, láurico, mirístico, palmítico, heptadecanoico, oleico, esteárico y behénico). Los espectros tienen en común las reflexiones con $d \approx 5.2, 4.45, 4.00$ y 3.76 Å (lo que equivale a $2\theta \approx 17, 20, 21, 24^\circ$), las cuales no están señalados en la Tabla 3-2 ya que no cambian, sólo tienen pequeñas

variaciones en los valores de d que pueden ser debido a los diferentes grados de cristalización y a errores experimentales debido al montaje de las muestras.

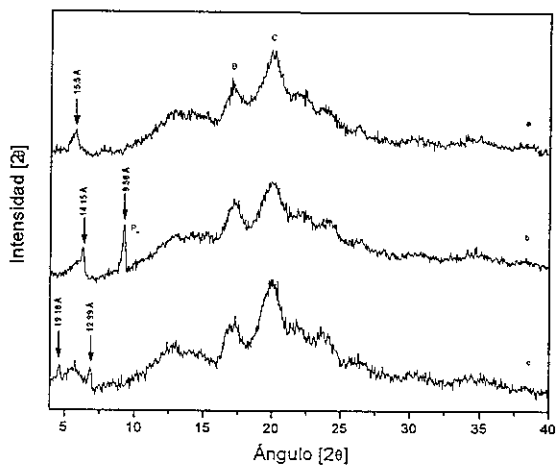


Figura 3.3 Espectros de DRX de precipitados de (a) amilosa-ácido oléico (b) amilosa- ácido decanóico (c) amilosa-ácido mirístico. Mostrando P_0 , la reflexión característica los clatratos.

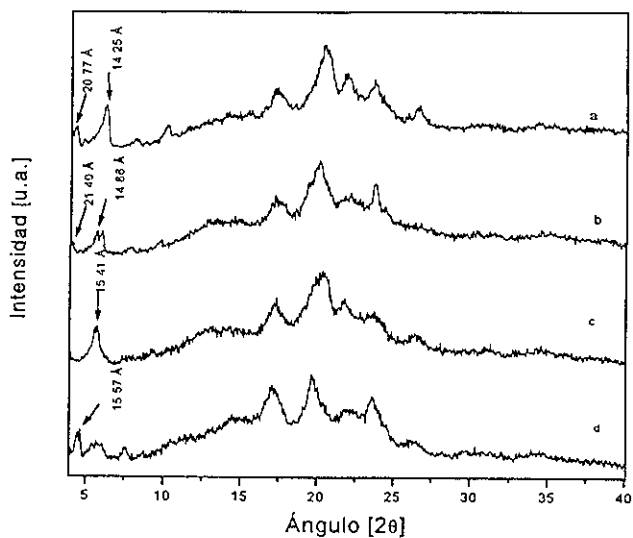


Figura 3.4 Espectros de DRX de precipitados de (a) amilosa-ácido palmítico (b) amilosa-ácido heptadecanóico, (c) amilosa-ácido esteárico, (d) amilosa-ácido behénico. Mostrando P_0 , la reflexión característica de los clatratos.

Tabla 3-2. Distancias interplanares observadas e intensidades de las principales reflexiones de los cristales de amilosa con los ácidos grasos: decanoico, laurico, mirístico, palmítico, heptadecanoico, esteárico, oleico y behénico.

Acido del compuesto De inclusión	d_A [Å]	d_o [Å]
Intensidad	medio-fuerte	Fuerte
Decanoico (10:0)	14.15	9.579
Láurico (12:0)	16.45	11.27
Mirístico (14:0)	19.18	12.99
Palmítico (16:0)	20.77	14.25
Heptadecanoico (17:0)	21.40	14.86
Esteárico (18:0)		15.41
Oleico (18:1)	15.50	
Behénico (22:0)		15.57

Los cambios sufridos en los difractogramas de los clatratos, a partir de 10 átomos de C en la cadena acíclica, los llevan a un patrón semejante al de la amilosa V (con picos en 7.36 , 13.1 y 20.1 2θ); convirtiéndolos así, en alguna fase de la amilosa V. Ya que, (i) la aparición del pico nuevo cae en la zona (entre $6-10^\circ$ 2θ) donde se reporta el primer pico principal (7.36°) de la amilosa V, y (ii) el aumento en la intensidad del pico P_D ($2\theta \approx 20^\circ$) coincide con el valor de $2\theta \approx 20.1^\circ$ de la reflexión más intensa de la amilosa V.

Las variaciones en la intensidad de los picos nos habla de un cambio en la densidad de electrones del medio dispersor. Por lo que al aumentar la densidad sabemos que está aumentando la cantidad de electrones en un plano determinado. Sin embargo, la forma del espectro continua siendo la misma -sin considerar la aparición del P_D , lo que nos dice que la estructura de los cristales se mantiene y que hay solo una diferente distribución (densidad) de las moléculas dentro de los mismos.

Se sabe que dentro de los cristales hay moléculas de agua ocupando un volumen y que al crecer la cadena alifática aumenta la cantidad de átomos de carbono por clatrato. Por lo que se puede pensar que los clatratos van ocupando este lugar donde se encontraban las moléculas de agua, al suceder esto aumenta la cantidad de electrones del medio dispersor de los rayos X y consecuentemente aumenta la intensidad del pico en el difractograma. Pero este aumento en la intensidad de los picos no es homogénea, por lo que hay una zona preferencial en donde se acomodan las moléculas.

Utilizando una vez más los resultados de los estudios realizados por J.J Cael *et al* y los de J. Blackwell donde encontraron que la amilosa B es la forma hidratada de la amilosa

V, entonces, la diferencia entre el patrón de la B- y amilosa V coincide con lo anteriormente dicho, que las moléculas de agua salen del cristal para hacerle lugar a la creciente molécula de amilosa-ácido graso, dando así una reflexión mayor (un pico más intenso).

Sabemos que para los ácidos grasos a medida que aumenta la longitud de la cadena alifática y que disminuye el número de enlaces dobles, disminuye la solubilidad en agua. Consecuentemente hay un aumento en la hidrofobicidad al aumentar la longitud de la cadena de los ácidos grasos, al aumentar la hidrofobicidad, en el momento de formarse los clatratos, la molécula de ácido graso va desplazando cada vez más moléculas de agua que se encontraban junto con la amilosa. Por lo que –las cadenas pequeñas de ácidos grasos desplazan muy pocas moléculas de agua– siendo predominante la cantidad de agua en la amilosa helicoidal, dan como resultado un patrón de difracción característico de la amilosa hidratada, la B-amilosa. Conforme va creciendo la cadena del ácido, va desplazando más agua, al reducirse la cantidad de agua (deshidratación) la amilosa va tomando la forma de la amilosa V.

A mayor longitud de la cadena del ácido, mayor es la cadena de amilosa que la envuelve. Tomando en cuenta que por cada vuelta de la amilosa hay 6 residuos de glucosa y que cada vuelta tiene un grosor aproximado de 8Å; para el ácido láurico (de 19Å de largo) hay 17.6 residuos de glucosa lo que da una longitud de la amilosa de 23.5Å; para el ácido palmítico (que mide 24Å) hay 22.6 glucosas, dando una longitud de la amilosa de 30Å; y para el oléico (de 27Å) hay 25 glucosas dando una longitud de la hélice de la amilosa de 33Å [Manners, 1985]. Esto refuerza el hecho de que los picos P_o y P_A se corran a distancias interplanares mayores, conforme aumenta la cadena del ácido.

De esto podemos decir que las cadenas cortas de ácidos grasos llegan a formar compuestos de inclusión con la amilosa helicoidal, sin embargo, por su pequeño tamaño y baja hidrofobicidad es poca la cantidad de moléculas de agua –que inicialmente se encuentran junto con la amilosa– que desplaza. Por esta razón el papel de las moléculas de agua sigue siendo predominante a la hora de obtener el patrón de difracción de rayos X, dando como resultado un patrón de la amilosa B (amilosa hidratada); ya que las moléculas de estos ácidos no modifican en nada la estructura de los cristales de la amilosa, ni tampoco modifican el diámetro o la longitud de la hélice de amilosa. Por otro lado, los ácidos grasos con cadenas de 10 o más átomos de carbono fácilmente forman compuestos de inclusión con la amilosa helicoidal, dando lugar a un espectro de DRX semejante al de la amilosa V

como resultado del desplazamiento de las moléculas de agua por la molécula hidrofóbica del ácido graso. El espectro de difracción muestra una alta cristalinidad de estos clatratos formados con cadenas largas de ácidos grasos.

A la hora de analizar la formación de los clatratos también hay que tomar en cuenta que al aumentar el tamaño de la cadena, aumenta la superficie, por lo que se ve favorecida la fuerza de Van der Waals.

En la Figura 3.3 vemos cómo el patrón de DRX del clatrato hecho con ácido oléico corresponde a una V-amilosa de baja cristalinidad, comparando este espectro con el del clatrato con ácido esteárico (18:0) vemos que disminuye la cristalinidad —del clatrato de ácido oléico—, haciendo pensar que la habilidad de formar clatratos con ácidos insaturados es menor a la habilidad que tienen los ácidos saturados para formar estos compuestos de inclusión. En general, los ácidos grasos insaturados tienen poca habilidad de formar compuestos de inclusión con la amilosa helicoidal; lo cual resulta en un espectro de baja cristalinidad. Sin embargo, ya que la mono-hélice de la amilosa puede formar clatratos con moléculas que no son completamente lineales, como el ácido oléico, sabemos que la amilosa es capaz de ajustarse a ciertas las irregularidades esteáricas de las moléculas huésped para poder incluirlas totalmente. Es también notorio que la distancia interplanar de P_A y P_o de los cristales de clatratos de ácidos grasos insaturados es menor a la del ácido graso saturado con la misma cantidad de átomos de carbono. Esto se entiende al saber que la molécula del ácido insaturado no es lineal ya que tiene un doblez en el lugar del doble enlace, lo que hace que ocupe un menor espacio longitudinal.

En la Figura 3.5(a) se muestra la relación entre la distancia interplanar del primer pico P_A del espectro de difracción de rayos X, contra el número de carbonos de la cadena de los ácidos grasos 'largos'. La relación entre la distancia interplanar d_o (de la reflexión que surge como resultado de la modificación de los cristales de la amilosa al complejarse con ácidos grasos de cadena larga) con el número de C del ácido graso se muestra en la Figura 3.5(b). La variación de las distancias interplanares va aumentando gradualmente conforme aumenta la longitud de la cadena, sin embargo este aumento es más lento para las cadenas acíclicas que tienen de 17 a 22 átomos de C.

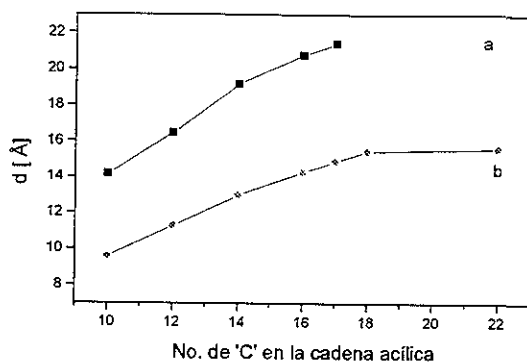


Figura 3.5 Influencia del número de C en la cadena acídica en las distancias interplanares (a) d_A y (b) d_o .

ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS

La espectroscopia de infrarrojo es muy útil como técnica complementaria para el análisis de moléculas orgánicas, ya que nos sirve para investigar la estructura y conformación de las moléculas en estudio. En el capítulo 1 se presentaron los resultados de los espectros obtenidos de carbohidratos como la amilosa y de los ácidos grasos, por lo que aquí no clasificaremos cada pico de absorción en los espectros obtenidos. Simplemente se hará una comparación del comportamiento de los diferentes clatratos, tomando como referencia (control) el espectro de absorción de IR de la amilosa.

La figura 3-6(a) muestra el espectro de absorción de la amilosa, en el que se reconocen picos en las bandas de absorción de los grupos C-H, CH₂OH, el enlace α-D (1→4), C-O-H... Aquí se ven, también, los espectros de absorción de los primeros cuatro clatratos (propiónico, butírico, valérico y caprónico). En estos espectros no es posible encontrar diferencias significativas entre los precipitados de amilosa con ácidos grasos de cadenas cortas y la amilosa. Los cuatro ácidos grasos no modifican el espectro de la amilosa ya que las regiones de absorción de estos coinciden con las de la amilosa, el área de algunos picos aumenta, pero no aparece ninguna nueva banda de absorción. Al no aparecer alguna región nueva de absorción se piensa que no hay interacción alguna entre

la amilosa y la cadena lineal del ácido. Es decir, que no se forman clatratos con la amilosa y los ácidos grasos de cadena 'corta'.

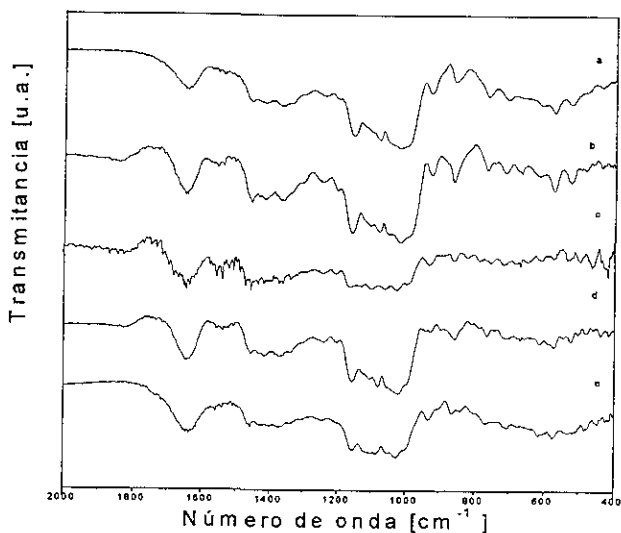


Figura 3.6 Espectros de IR (a) amilosa comercial y precipitados de (b) amilosa- ácido acético, (c) amilosa-ácido propiónico, (d) amilosa-ácido butírico, (e) amilosa-ácido valérico y (f) amilosa-ácido caprónico.

Sin embargo, en los espectros de los precipitados de amilosa helicoidal con ácidos grasos de cadenas de 10 o más carbonos, aparece claramente un doblete en la región 1500 - 1600 cm^{-1} , el cual corresponde a la región de vibración del grupo *carboxilato* CO_2^- (1530-1600 cm^{-1}). En la Figura 3.7 y 3.8 se pueden observar las líneas de este doblete, marcadas con flechas

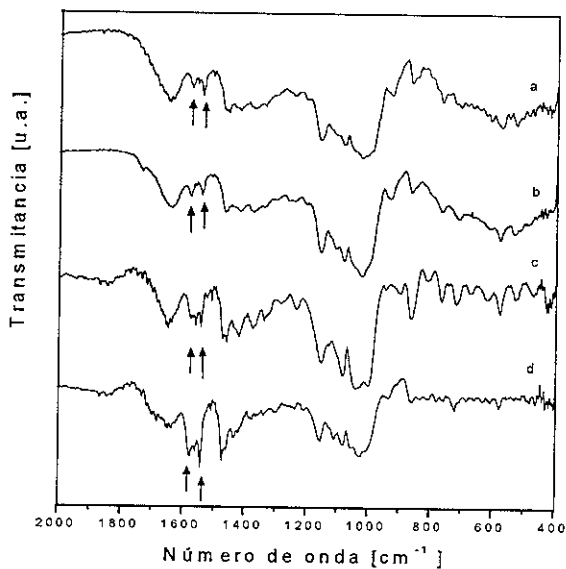


Figura 3.7 Espectros de IR de los precipitados de (a) amilosa-ácido oléico (b) amilosa-ácido cáprico, (c) amilosa-ácido láurico, (d) amilosa-ácido mirístico.

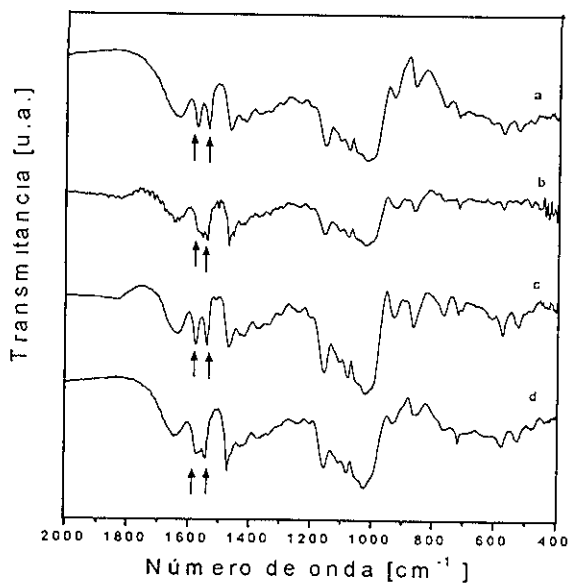


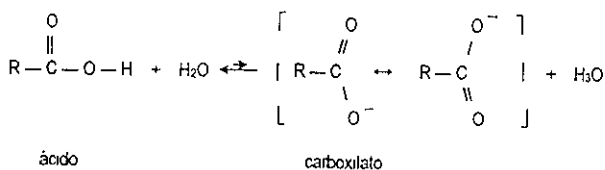
Figura 3.8 Espectros de IR de los precipitados de (a) amilosa-ácido palmítico, (b) amilosa-ácido heptadecanóico, (c) amilosa-ácido esteárico, y (d) amilosa-ácido behénico

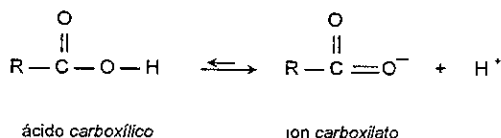
Analizando con más detalle esta zona, en los espectros de la amilosa y de los primeros cuatro clatratos encontramos, también, absorción en la zona entre 1500-1600 cm^{-1} . Los picos aquí son muy pequeños. En el caso de la amilosa (en donde son casi despreciables) se pueden atribuir a la absorción del agua que esta junto con ella. Para los clatratos de cadenas cortas de ácidos grasos, esta absorción es también muy pequeña ya que la formación de clatratos es poco probable y las moléculas de agua siguen teniendo un papel dominante. Como se dijo en los resultados de DRX, las moléculas de ácidos grasos con cadenas cortas que llegan a formar complejos de inclusión no alcanzan a desplazar suficientes moléculas de agua como para reducir la absorción de éstas y hacer representativas las propias. Sin embargo, al comparar la intensidad de estos picos en el espectro de la amilosa con la de los espectros de los primeros clatratos, vemos que desde el primer clatrato hay, aunque pequeño, un aumento en la intensidad de los picos en esta región. Esta intensidad se conserva casi igual en estos primeros cuatro clatratos, indicándonos que la habilidad de estos ácidos para formar clatratos es muy poca, casi despreciable.

A pesar de que en los espectros de IR de clatratos con ácidos de cadena corta (Figura 3.6), podemos apreciar los picos en la región de 1500 - 1600 cm^{-1} que puede ser, en parte, debido a la absorción del agua y a algún clatrato formado, estos picos son muy poco mayores a los de la amilosa (en la que también se detectan) Sin embargo el ligero aumento en la intensidad de este doblete no es representativo de la formación de clatratos con estos ácidos grasos

La absorción en esta región (1500 - 1600 cm^{-1}) revela la presencia del grupo carboxilato, señalando un cambio en el ácido graso, donde su grupo *carboxilo* se convierte en grupo *carboxilato*^b

^b Un ácido carboxílico se puede disociar en agua para dar un protón y un ion carboxilato. Esta disociación implica la ruptura de un enlace O-H, dando un ion carboxilato con la carga negativa repartida por igual sobre dos átomos de oxígeno. Esta carga deslocalizada le da estabilidad al carboxilato.





Este cambio en el grupo funcional implica la formación de un puente de hidrógeno entre la cabeza polar del ácido⁶ y la hélice de la amilosa. Estos puentes de hidrógeno son entre los O de OH carboxílicos y los OH — C(6) glucosídicos. Lo que hace suponer que la interacción entre la amilosa y la cadena lineal del ácido graso -la estabilidad del compuesto de inclusión- no es exclusivamente de tipo dipolar e hidrofóbico, sino que también hay la formación de un enlace hidrógeno, el ácido graso comparte un hidrógeno con la amilosa. Hay un cambio en la simetría del sistema, y hay también un cambio en la estructura del compuesto. Se tiene ahora una cabeza muy polar capaz de interactuar con el medio.

Para conocer la estabilidad de la configuración que adopta el clatrato, estos se trataron con una solución acuosa de HCl con $pH \approx 4.5$ y con una solución acuosa de NaOH con $pH \approx 12$. Los patrones de los clatratos tratados con el ácido y la base no mostraron cambios con respecto al clatrato original. De esta información podemos concluir que el tratamiento ácido no es capaz de romper los puentes de H para compensar los protones perdidos por el grupo carboxílico de los ácidos, porque de haber sucedido estarían presentes las vibraciones del grupo carbonilo en el espectro de IR (en la región entre $1800-1740 \text{ cm}^{-1}$). El tratamiento alcalino tampoco logró romper los puentes de H, para formar la respectiva sal de Na, ya si lo hubiera hecho el doblete de CO_2^- estarían corridas hacia frecuencias menores, indicando que la configuración original del grupo correspondería a un estado energético meta-estable. Esta prueba muestra el importante papel que desempeñan los grupos hidroxilo en la estabilidad del sistema.

Esta disponibilidad de interacción de la cabeza polar se ve en el caso de la nixtamalización del grano de maíz, en donde la cabeza polar del grupo carboxilato se enlaza con el átomo de calcio, formando las sales de calcio del ácido graso. Esto ha sido estudiado y reportado por E. Reguera et al [Reguera]:

En el proceso de nixtamalización (cocción en una solución alcalina de $\text{Ca}(\text{OH})_2$) el Ca es retenido fundamentalmente en la cubierta del grano (pericarpio) y en el germen. En este último el Ca se encuentra en forma de las sales de los ácidos grasos, resultado de una saponificación parcial de las grasas durante la cocción alcalina. Las evidencias experimentales indican que el Ca incorporado en el endospermo durante el proceso de nixtamalización está en compuestos de inclusión de sales de Ca de ácidos grasos dentro de la estructura helicoidal de la amilosa.

Suponiendo que hay un enlace de este tipo entre la amilosa y el ácido graso por cada clatrato formado, la intensidad (el área de los picos) del doblete debido a la absorción del grupo carboxilato nos puede decir, de forma aproximada y relativa, cuantos clatratos se formaron. Y así podemos conocer las probabilidades relativas de la formación de clatratos con las distintas longitudes de cadena de los ácidos grasos.

A medida que aumenta el número de carbonos en la cadena del ácido graso, el área del doblete va aumentando también. El tamaño de este doblete (y de su área) empieza a ser considerable a partir del ácido decanoico; esto coincide con los resultados de DRX.

No se descarta la formación de los compuestos de inclusión con ácidos de menos de 10 carbonos en su cadena, simplemente se reconoce que la probabilidad de que esto suceda es baja. Esto refuerza lo antes dicho para la DRX, en que para los ácidos grasos con cadenas cortas ($\leq 6 \text{ C}$) la habilidad para formar los compuestos de inclusión con la amilosa es baja; y que en estos compuestos el papel de las moléculas de agua -que están junto con la amilosa- sigue siendo dominante ya que la cantidad de agua desplazada por estas cadenas hidrofóbicas cortas es poca.

En el espectro de los primeros cuatro clatratos (acético, propiónico, butírico, valérico; Fig. 3-6) vemos que la intensidad relativa del pico de absorción localizado en la zona de $1600 - 1700 \text{ cm}^{-1}$ es grande; las moléculas de agua también absorben en esta región por lo que podemos decir que el contenido de agua de estos clatratos es alto. En concordancia con la idea de que es baja la probabilidad de formar clatratos con ácidos grasos de cadenas cortas y que los que llegan a formar los compuestos desplazan poca cantidad de moléculas

* el ácido se encuentra en un estado semejante a una pseudo-sal

de agua, vemos bastante absorción en esta región. El tamaño relativo de este pico se conserva hasta el clatrato formado con ácido caproico, pero desde el ácido decanoico se ve cómo disminuye la intensidad relativa de la absorción en el rango de $1600 - 1700 \text{ cm}^{-1}$. En los compuestos de inclusión con cadenas de ácidos grasos de 10 o más carbonos la intensidad de este pico disminuye con respecto a la intensidad del pico los picos de absorción en el rango de $1000 - 1200 \text{ cm}^{-1}$, comparando esta relación en los compuestos con ácidos de cadenas cortas. Al disminuir la absorción en esta zona, nos sugiere la idea de que la cantidad de moléculas de agua ha disminuido ya que al formarse la molécula de inclusión, el ácido graso con cadena larga desplaza gran cantidad de moléculas de agua, dando como resultado un patrón de difracción de rayos X, semejante al de la V-amilosa.

El doblete de absorción del grupo *carboxilato* es aún más pronunciado en los clatratos con cadenas largas, por lo que de acuerdo a las intensidades relativas de las bandas de IR vemos que es más probable la formación de clatratos cuando el ácido graso que interviene tiene una cadena igual o mayor a 10 carbonos. Tal es la habilidad de formar compuestos de inclusión, que se detecta otra estructura cristalina a la hora de hacer la espectroscopia de DRX. Es decir, los resultados de DRX se corresponden con las evidencias de IR.

Los ácidos grasos insaturados son menos hábiles para formar complejos de inclusión con la mono-hélice de amilosa. En nuestro caso, el ácido insaturado es el ácido oléico (18:1), que al compararlo con el ácido saturado de la misma longitud de la cadena, el ácido esteárico (18:0), vemos que a pesar de que claramente aparece el doblete de absorción del grupo carboxilato, el área de estos picos es pequeña comparada con el clatrato de ácido oléico. También, en este clatrato la intensidad relativa del pico de absorción de la región de $1600 - 1700 \text{ cm}^{-1}$ es grande, semejante a la de los primeros ácidos poco hábiles para formar clatratos

CALORIMETÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

En los termogramas obtenidos (Figuras 3.9, 3.10 y 3.11) de los estudios de calorimetría diferencial de barrido (DSC) vemos señales comunes para la amilosa y para todos los precipitados, estas señales están relacionadas a las transiciones de la amilosa y al ruido captado durante la medición

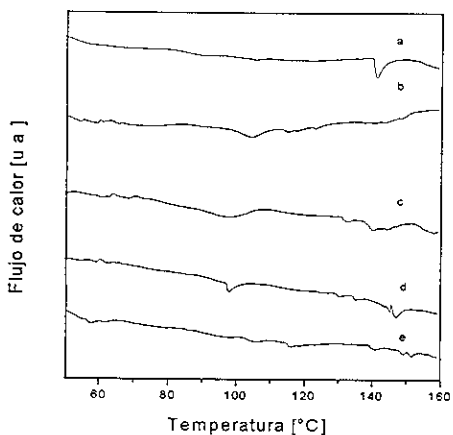


Figura 3.9 Espectros de DSC de (a) amilosa comercial y precipitados de (b) amilosa- ácido propiónico, (c) amilosa-ácido butírico, (d) amilosa-ácido valérico y (e) amilosa-ácido caproico.

En el caso de la amilosa y de los precipitados con ácidos de 3, 4, 5, y 6 átomos de carbono no se percibe alguna otra transición fuera de las propias del almidón. Sin embargo, para los clatratos con ácidos grasos de cadenas mayores (número de C ≥ 10), se aprecian nuevas transiciones (Figs. 3.10 y 3.11) en el rango de temperaturas de 90 a 130° C. La señal ocurre en una temperatura T_f que marca la temperatura en la que ocurre la transición de disociación del clatrato, i.e. cuando se separa la molécula huésped (ácido graso) de la hélice de la amilosa.

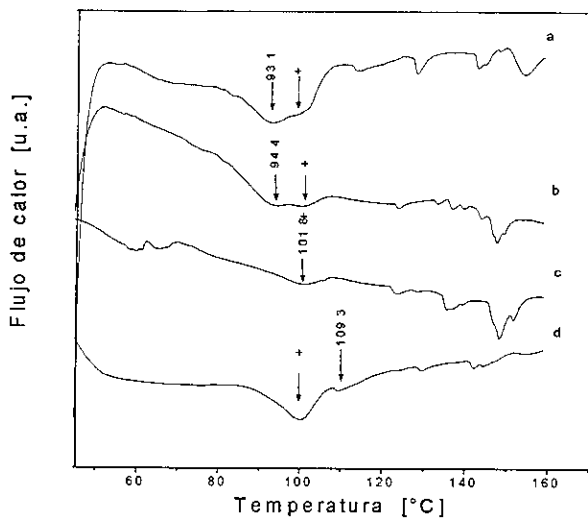


Figura 3.10 Espectros de DSC de los precipitados de (a) amilosa-ácido oléico (b) amilosa-ácido cáprico, (c) amilosa-ácido láurico, (d) amilosa-ácido mirístico.

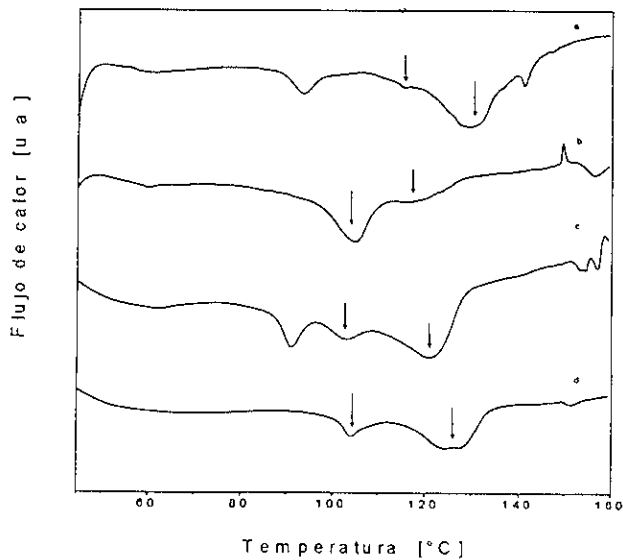


Figura 3.11 Espectros de DSC de los precipitados de (a) amilosa-ácido palmítico, (b) amilosa-ácido heptadecanoico, (c) amilosa-ácido esteárico, y (d) amilosa-ácido behénico

En la Tabla 3.2 se señalan las temperaturas en las que suceden las principales transiciones de los precipitados de amilosa con ácido graso que se estudiaron.

Tabla 3.3. Temperaturas de transición de los compuestos de inclusión de amilosa con ácido graso

Ac. del compuesto	T_{f1}	T_{f2}
Amilosa	105.2	--
Propiónico (3:0)	104.4	--
Butírico (4:0)	98.1	--
Valénico (5:0)	98.0	--
Caprónico (6:0)	104.6	--
Decanoico (10:0)	94.4	101.1
Láurico (12:0)	101.1	101.2
Mirístico (14:0)	100.6	109.3
Palmítico (16:0)	103.7	114.8
Heptadecanoico (17:0)	104.5	116.4
Esteárico (18:0)	103.5	121.2
Behénico (22:0)	104.1	127.1
Oléico (18:1)	92.9	101.3

Para cada clatrato formado con una cadena larga de ácido graso se pueden apreciar varias endotermas a distintas T_f , señalando múltiples transiciones. Para entender esto, regresemos a la estructura que Blackwell propuso para la V-amilosa. En esta estructura existen puentes de hidrógeno entre los O(2)-H — O(3') adyacentes que dan la conformación de hélice izquierda, estas hélices son estabilizadas por enlaces O(6)-H — O(2) entre residuos de vueltas sucesivas. La conversión de V- a B-amilosa^d (las cadenas de B-amilosa son hélices izquierdas con 6 residuos por vuelta y un periodo aprox. de 8.0 Å) sucede en la humectación, rompiéndose los enlaces de hidrógeno O(6)-H — O(2) y formándose nuevos enlaces O(6)-H — (H₂O) — O(2), haciendo que la hélice se estabilice teniendo un periodo de 10.4 Å. En la Figura 1.13 se muestra una proyección cilíndrica de esta conformación.

Utilizamos este trabajo [Blackwell] para suponer que puede ocurrir el proceso inverso a esta transformación (como se hizo para el análisis de DRX), uno donde la B-amilosa cambia a V-amilosa como resultado de una deshidratación provocada por la acción

^d La facilidad con la que se desarrolla esta transformación constituye una evidencia indirecta de que la V- y B-amilosa tienen la misma quiralidad

hidrofóbica del ácido graso al ser incluido. Entonces, al formarse el clatrato, el ácido graso no sólo desplaza las moléculas de agua que inicialmente estaban dentro de la cavidad de la hélice, sino que también desplaza a las moléculas que estaban en la cadena de amilosa --enlazadas entre las glucosas. Como consecuencia de esto la conformación de la hélice se vuelve más estrecha, dando mayor estabilidad al compuesto. Como en el interior de la hélice el ácido es estabilizado por medio de contactos de Van der Waals entre los hidrógenos de la cadena alifática y los H-C(5) de la amilosa [Godet], si se reduce el periodo --que pasa de 10.4Å a 8Å-- también se necesitan más residuos para cubrir la longitud del ácido. Así teniendo mas residuos glucosídicos interactuando con la cadena alifática aumenta el número de contactos de Van der Waals provocando un incremento en la estabilidad el compuesto que se refleja en una mayor temperatura de disociación del compuesto.

Pueden, entonces, coexistir hélices de amilosa con diferentes grados de hidratación dependiendo de la molécula huésped y de su hidrofobicidad, al momento de formarse el clatrato. Tener cadenas de diferentes grados de hidratación implica tener cadenas con diferente número de residuos glucosídicos disponibles para los contactos de Van der Waals que dan estabilidad al compuesto. Esto da como resultado varias endotermas a distintas temperaturas de fusión del clatrato para un mismo ácido graso.

Observando los termogramas de los clatratos con ácidos de cadena larga con más detalle, se puede distinguir una que va aumentando su T_f conforme aumenta la longitud de la cadena de la molécula huésped (Tabla 3.3). Una explicación de esto es que estas moléculas tienen un grado de hidratación similar y sólo aumentan su estabilidad al aumentar el número de C de la cadena alifática. Las primeras transiciones (con T_H), son entonces las moléculas más hidratadas.

La presencia de endotermas que marcan la disociación del clatrato con ácido oléico, un ácido insaturado, muestra la flexibilidad de la amilosa al ser capaz de asimilar irregularidades estéricas de la molécula huésped. La no linealidad de la cadena del ácido graso insaturado altera la estabilidad del compuesto, por eso la temperatura de disociación T_H del clatrato formado con ácido oléico es menor que su contraparte de ácido graso saturado (ácido esteárico).

Tabla 3.4. Longitud de la cadena alifática del Ácido Graso.

Acido Carboxílico	Long. Cadena Alifática [Å]	Acido Carboxílico	Long. Cadena Alifática [Å]
Saturados			
Propiónico (C ₃ H ₅ CO ₂ H)	3.81	Láurico (C ₁₁ H ₂₃ CO ₂ H)	15.09
Butírico (C ₄ H ₇ CO ₂ H)	5.01	Mirístico (C ₁₃ H ₂₇ CO ₂ H)	17.60
Valérico (C ₅ H ₉ CO ₂ H)	6.31	Palmitico (C ₁₅ H ₃₁ CO ₂ H)	20.11
Caproico (C ₆ H ₁₁ CO ₂ H)	7.57	Estéarico (C ₁₇ H ₃₅ CO ₂ H)	22.61
Decanóico (C ₉ H ₁₉ CO ₂ H)	12.58	Behénico (C ₂₁ H ₄₃ CO ₂ H)	27.63
Insaturado			
Oléico (C ₁₇ H ₃₃ CO ₂ H)	21.45		

Tomando en cuenta la longitud de la cadena de los ácidos grasos (Tabla 3.4), no es sino hasta el ácido decanóico donde la longitud de la cadena permite que la amilosa cumpla una vuelta rodeando a la cadena alifática. Esto le da más estabilidad y aumenta la probabilidad de se forme el compuesto. Se tiene así una explicación más de por qué no es sino hasta el ácido decanóico que se forman los clatratos estables. El ácido caproico con 7.59Å de longitud casi alcanza a cubrir la vuelta de 8Å de la hélice glucosídica. Es por esto que en los precipitados con este ácido se empiezan a observar características de los clatratos.

Además, gracias al trabajo de Eliasson [1994] sobre la interacción amilosa-lípidos (donde reportó que dependiendo de la especie de la molécula huésped y de la temperatura de formación del clatrato detectaba transiciones de fusión a temperaturas bajas, altas o en una combinación de ellas) sabemos que podemos encontrar diferentes temperaturas de fusión para el mismo clatrato. Godet donde menciona la existencia de cadenas de amilosa con 6, 7 u 8 residuos glucosídicos por vuelta, al momento de clatrarse. Estas cadenas con diferente número de residuos da diferente número de contactos de Van der Waals. Aunado a ello el ruido producido en la muestra al realizar la medición, podemos explicar la presencia de varias endotermas^e. También vemos finalmente que los resultados obtenidos del DSC se corresponden con los de la DRX e IR

^e Las muestras para DSC fueron preparadas con un exceso de agua y antes de tomar la muestra se dejaron reposar por un tiempo tal que permitiera la difusión homogénea del agua en el clatrato. Con esto se puede despreciar efectos posibles de procesos térmico parciales ocasionados por la insuficiencia de agua [Lund]

CONCLUSIONES

Buscando replicar las condiciones de la nixtamalización se lograron obtener compuestos de inclusión de amilosa con ácido graso. Esto corrobora que durante la cocción alcalina se pueden formar clatratos entre la amilosa y los ácidos grasos que resultan de la *saponificación parcial de las grasas del maíz*

En el proceso de formación de compuestos de inclusión se utilizaron temperaturas bajas de aprox. 85°C, colocandolos así dentro de la clasificación de clatratos Tipo I. Se encontró que estos compuestos tienen un patrón de cristalización definido, lo cual anteriormente no había sido detectado para los clatratos de Tipo I.

Con el conjunto de resultados obtenidos de técnicas experimentales analíticas, difracción de rayos X (DRX), espectroscopía infrarroja (IR) y calorimetría diferencial de barrido (DSC), podemos conocer el comportamiento y las propiedades físicas de los compuestos de inclusión de la amilosa helicoidal con ácidos carboxílicos de cadenas alifáticas lineales.

Los resultados de este estudio evidencian que los precipitados de amilosa con ácidos grasos de cadena 'corta' (No. de C \leq 6) no tienen la habilidad (o es muy poca) de formar compuestos de inclusión, sin embargo los ácidos grasos de cadena 'larga' ($10 \leq$ No. de C \geq 22) si logran formar complejos con la amilosa helicoidal.

Del estudio con DRX, el patrón que se obtuvo para la amilosa y para los clatratos de cadenas cortas es semejante al de la B-amilosa. Este patrón puede obtenerse a partir de la V-amilosa (estructura que presenta la amilosa comercial) por medio de un proceso de hidratación. Se duda que los 'ácidos cortos' logran formar compuestos de inclusión ya que no modifican el espectro de DRX de la amilosa; la poca habilidad de los ácidos para desplazar las moléculas de agua y por lo tanto el papel decisivo de éstas en el espectro de difracción podría ser una de las explicaciones de que se mantenga el patrón de la B-amilosa hidratada. Por medio de DSC se muestra que no hay ácidos grasos libres en los cristales de la amilosa, por lo que si hay ácidos grasos presentes estos están en forma de compuestos de inclusión con la amilosa, a pesar de que no modifiquen la temperatura de fusión de los cristales. Finalmente en los estudios de IR para estos ácidos de cadena corta la formación de compuestos es poco probable o nula.

Para los ácidos grasos de cadena larga (≥ 10 carbonos), las evidencias de la formación de clatratos son concisas:

1. Los patrones de DRX claramente muestran la presencia de otro medio dispersor que modifica parcialmente los cristales de amilosa. El cambio de las distancias interplanares señala el crecimiento sobre una dirección preferencial, al aumentar el tamaño de la molécula huésped. La forma cristalina que presenta el compuesto corresponde a la *V-amilosa* (anteriormente reportada como la forma deshidratada de la *B-amilosa*), la cual resulta del desplazamiento de las moléculas de agua debido a la cadena hidrofóbica del ácido graso. La flexibilidad de la hélice de amilosa se hace notar al formar clatrato con el ácido oléico, superando así las irregularidades estéricas de la cadena insaturada.
2. Los estudios de IR muestran que la formación y estabilidad de los compuestos de inclusión no son sólo resultado del momento dipolar del ácido graso dirigido antiparalelamente al momento dipolar de la amilosa y de los contactos de Van der Waals entre la cadena alifática y la cavidad amilósica, sino que también surge un puente de hidrógeno entre la cabeza del ácido y las unidades glucosídicas de la amilosa.
3. Y finalmente los resultados de DSC revelan que la formación de estos compuestos da lugar a diferentes formas de molécula de inclusión, dependiendo de su grado de deshidratación. La temperatura de disociación del clatrato determina la estabilidad del ácido dentro de la amilosa. A pesar de que se reportaron varias formas de estructura helicoidal, se vio que mientras mayor sea la cadena del ácido graso mayor será la estabilidad térmica del compuesto de inclusión.

REFERENCIAS

1. AND, M.A., et. al. *X-Ray Diffraction of Starches Isolated from Yellow Corn, Sorghum, Sordan and Pearl Millet*.
2. ATWELL, W.A., L.F. HOOD, D.R. LINEBACK, *Terminología asociada con fenómenos básicos del almidón*. Cereal Food World 306, march 1988, vol.3, No.3
3. Badui Dergal, Salvador. *Química de los alimentos*. tercera. ed. México: Pearson Education 1993.
4. BEAR, R.S. and DEXTER, F., *The Significance of X-Ray Diffraction Patterns Obtained from Starch Granules*. 63 (1941) 2298-2305
5. BILIADERIS, C.G., *The Structure and Interactions of Starch with Food Constituents*, Can. J. Physiol. Pharmacol, 69 (1989a) 60-78
6. BILIADERIS C.G. and G. GALLOWAY, *Crystallization Behavior of Amylose-V Complexes: Structure-Property Relationship*, Carbohydrate Research, 189 (1989b) 31-48
7. BLACKWELL, J., A.SARKO and R.H. MARCHESSAULT, *Chain Conformation in B-Amylose*, Journal of Molecular Biology, 42 (1969), 379-383.
8. BOENIO, F.J. and J.L. KOENIG, *J. Polim. Sci A-2*, 9 (1971) 1517
9. CAEL, J.J., J L KOENIG, and J BLACKWELL, *Infrared and Raman Spectroscopy of Carbohydrates. Part III Raman Spectra of the Polyformic Forms of Amylose*. Carbohydrate Research, 29 (1973) 123-134
10. CONSIDINE, D.M. ed *Van Nostrand's Scientific Encyclopedia*. 5th. Edition. New York. Van Nostrand Reinhold Co. 1976. PERKIN-ELMER CORPORATION: NORWALK CONN.
11. ELIASSON, A.C and N KROG, *Physical Properties of Amylose-Monoglyceride Complexes*. J. of Cereal Science 3 (1985) 239-248.
12. ELIASSON, A.C, *Interactions Between Starch and Lipids Studied by DSC*, Thermochemica Acta, 246 (1994) 343-356
13. EVANS I.D. and D R. HAISMAN, *The Effect of Solutes on the Gelatinization Temperature Range of Potato Starch*. Starch/Starke 34 (1982) 7, 224-231.
14. FRENCH, A.D and V MURPHY, *Computer Modeling in the Study of Starch*. Cereal Foods World 22 (1977) 2, 61-70.
15. GODET, M.C., V. TRAN, M.M DELAGE and BULEÓN, A., *Molecular Modelling of the specific interactions Involved in the Amylose Complexation by Fatty Acids* Int. J Biol Macromol. 15 (1993) 11-16.

16. HIBI, Y., T. MATSUMOTO and S. HAGIWARA, *Effect of High Pressure on the Crystalline Structure of Various Starch Granules*. *Cereal Chemistry*, 70 (1993) 6, 671-675.
17. Holden, Alan. *The Nature of Solids*. New York, 1965. Columbia University Press.
18. IMBERTY, A, *et.al. The Double-helical Nature of the Crystalline Part of A-Starch*. *J. Mol. Biol.* 201 (1988), 365-378
19. KARKALAS, J., S. RAPHAELIDES, *Quantitative Aspects of Amylose-Lipid Interactions*, *Carbohydrate Research*, 157 (1986) 215-234
20. KATZ, J.R.Z., *Phy. Chem. Abt. A*. 1930. 150. 37.
21. KOWALSKY, M, *Calorimetric Investigation of Inclusion Complexes of Amylose with Long-Chain Aliphatic Compounds Containing Different Functional Groups*, *Macromolecules* 18 (1985) 1776-1770
22. KREGER, D.R., *The Configuration and Packing of the Chain Molecules of Native Starch as Derived from X-Ray Diffraction of Part of a Single Starch Grain*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 6 (1951) 406-425
23. LEHNINGER, A.L., D.L. NELSON y M.M. COX, *Principios de Bioquímica*. 2 ed. Ediciones Omega. Barcelona 1995
24. LUND, D, *Influence of Time, Temperature, Moisture, Ingredients, and Processing Conditions on Starch Gelatinization* *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 20, 4, 249-272
25. Mc NAUGHTON, J.L. and C T MORTIMER, *Differential Scanning Calorimetry*. Cambridge University Press 1987.
26. MANNERS D.J, *The Structure and Metabolism of Starch* (In 'Essays in Biochemistry', Vol. 1; P.N. Campbell and F. Dickens, eds., Academic Press Inc, New York, 1974.), pp 37-71
27. MANNERS, D.J., *Some Aspects of the Structure of Starch* *Cereal Foods World*, 30, 7 (1985) 461-467
28. MERVIN, J. *et al The Roles of Amylose and Amylopectine in the Gelation and Regradation of Starch*. *Carbohydrate Research*, 135 (1985) 271-281.
29. MIKUS, F F., R.M. HIXON and R.E. RUNDLE, *Complexes of Fatty Acids with Amylose*, *J. Am. Chem. Soc.* 68 (1946) 1115-1123.
30. MORRISON, W.R., R.V. LAW and C.E. SNAPE, *Evidence for Inclusion Complexes of Lipids with V-amylose in Maize, Rice and Oat Starches*, *Journal of Cereals Sciences*, 18 (1993) 107-109

31. MORRISON, W.R., *Starch Lipids and How They Relate to Starch Granule Structure and Functionality*. Cereals Food World, 40,5 (1995) 437-446
32. MURPHY, V.G. and FRENCH, A D., *The Structure of V Amylose Dehydrate: A Combined X-Ray and Stereochemical Approach*. Biopolymers, 14 (1975), 1487-1501.
33. PERKIN-ELMER CORPORATION: NORWALK CONN. Thermal Analysys Newsletter, No. 9.
34. PERKIN-ELMER CORPORATION: NORWALK CONN. Thermal Analysys Newsletter, No. 3.
35. RAPHAELIDES, S.R. and J. KARKALAS. *Thermal dissociation of amilose-fatty acid complexes*. Carbohydr. Res. 172 (1988) 65
36. RAPPENECKER, G. and P. ZUGENMAIER, *Carbohydrate Research*, 89 (1981) 11-19.
37. REGERA, E., *et al*, *Estudio Espectroscópico del Estado del Calcio en Granos de Maíz Nixtamalizados*
38. RUNDLE, R.E. and D FRENCH, *The Configuration of Starch-Iodine Complex. II. Optical Properties of Crystalline Starch Fractions*, J. Am. Chem. Soc. 65 (1943) 558-561.
39. SENTI, F.R. and L P. WITNAUER. J. Am Chem. Soc. 70 (1948) 1438
40. SUNDARARAJAN, P.R. and V.S.R. RAO, *Studies on the Helical Conformational of Amylose and Possible Interconversions*. Biopolymers 8 (1969) 313-323.
41. VAINSHTIN, B.K., V.M FRIDKIM, V L INDENBOM. *Modern Crystallography II, Structure of Crystals*. Springer Series in Solid-State Sciences 21. New York: Springer Verlag 1982
42. VALLETA, R.M. *et al*. *Amylose "V" Complexes: Low Molecular Weight Primary Alcohols*. J. Polymer Sc. Part A, 2 (1964) 1085-1094
43. VASKO, P.D., J BLACKWELL, and J.L. KOENING, *Infrared and Raman Spectroscopy of Carbohydrates Part I: Identification of O-H and C-H-Related Vibrational. Modes for D-glucose, Maltose, Cellobiose, and Dextran by Deuterium-substitution Methods*. Carbohydrate Research, 19 (1971) 297-310
44. VASKO, P.D., J. BLACKWELL, and J.L. KOENING, *Infrared and Raman Spectroscopy of Carbohydrates. Part I: Normal Coprdinate Analysis of α -D-glucose*. Carbohydrate Research, 23 (1972) 407-416
45. VASKO, P.D., J. BLACKWELL, and J.L. KOENING, *Infrared and Raman Spectroscopy of Carbohydrates Part II: Normal Coordinate Analysis of α -D-glucose*. Carbohydrate Research, 23 (1972) 407-416

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

46. WADE, L.G., *Química Orgánica* 2 ed Prentice-Hall Hispanoamericana, S.A. México 1993
47. YAMASHITA, Y., *Single Crystals of Amylose V Complexes*, Journal of Polymer Science: Part A, Vol. 3, (1965) 3251-3260
48. ZASLOW, B. and R.L. MILLER, *Hydration of the "V" Amylose Helix*, J. Am. Chem. Soc. 83 (1961) 4378-4381.
49. ZOBEL, H.F., A.D. FRENCH, and M.EM. HINKLE, *X-Ray Diffraction of Oriented Amylose Fibers. II. Structure of V Amylose*. Biopolymers, 5 (1967) 837