

Análisis del Contenido Amilosa- Amilopectina en seis Variedades de Arroz Ecuatoriano

Denniss Germania Landires Gaspar¹, Grace Carolina Márquez Borbor², Fabiola Cornejo³
Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción
Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)
Campus Gustavo Galindo, Km 30.5 vía Perimetral
Apartado 09-01-5863. Guayaquil-Ecuador
dengland@espol.edu.ec¹, gracmarq@espol.edu.ec², fcornejo@espol.edu.ec³

Resumen

El objetivo de este proyecto de graduación es cuantificar el contenido de amilosa y amilopectina de 6 variedades de arroz ecuatoriano mediante el kit de ensayo de MEGAZYME AMYLOSE/AMYLOPECTIN, y establecer el efecto de esta relación en la temperatura de gelatinización de las harinas. Las variedades de arroz analizadas en esta investigación fueron seis: INIAP 14, 15, 16, 17 y las SFL09 y F50. Los resultados obtenidos muestran estadísticamente que las variedades de INIAP 14 y 17 son las que mayor porcentaje de amilosa tienen en su composición. La temperatura de gelatinización depende del contenido de amilosa que estas variedades posean; a mayor contenido de amilosa, menor será la temperatura de gelatinización y mejores serán los resultados obtenidos en productos procesados a base de estas harinas.

Palabras Claves: *Amilosa, Amilopectina*

Abstract

The goal of this graduation project is to find out the components of the amylose and amylopectin of 6 different varieties of Ecuadorian rice with the MEGAZYME AMYLOSE/ AMYLOPECTIN kit and establish the effect of the reaction in the temperature of the starch gelatinization. The varieties of rice analyzed in this investigation were si: INIAP 14, 15, 16, 17 and SFL09 and F50. The results obtained showed the varieties statistically of INIAP 14 and 17 are the highest percentage of amylose in its composition. The gelatinization temperature depends of the content of amylose that these varieties possesses; a higher amylose content, the lower the gelatinization temperature and the better the results obtained in processed products based in this starch.

Keywords: *Amylose, Amylopectin*

1. Introducción

Ecuador es un país privilegiado. Cuenta con tierras fértiles que son la herramienta de trabajo de muchos agricultores, y es aquí donde se siembran y cosechan los productos de primera necesidad. El arroz en el Ecuador es uno de estos productos primordiales en la dieta diaria de los ecuatorianos.

Durante años, el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) ha trabajado en la investigación, desarrollo y obtención de las diferentes variedades de arroz que hoy se comercializan en el mercado. Estas variedades han sido obtenidas siguiendo las mejores tecnologías de manejo agronómico de tal manera que produzcan un alto rendimiento. Existen factores que no han sido considerados en el estudio de las diferentes variedades de arroz. El contenido de la fracción amilosa-amilopectina en el arroz es uno de estos factores que determinan la calidad sensorial y tecnológica del arroz que consumimos.

Este proyecto investigativo presenta el análisis del contenido de amilosa y amilopectina de seis variedades de arroz ecuatoriano con el fin de identificar cuál de estas son las que nos proporcionará el porcentaje de amilosa y amilopectina adecuado para obtener productos de calidad en aplicaciones tecnológicas como la panificación.

2. Materiales y Método

2.1 Variedades de Arroz Analizadas

Las variedades de arroz analizadas en esta investigación fueron seis: INIAP 14, 15, 16, 17 y las SFL09 y F50; las cuatro primeras variedades fueron obtenidas en la Estación Experimental Boliche del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) y las dos últimas fueron adquiridas en INDIA PRONACA.

Una vez obtenido el arroz se procedió a hacer el descascarillado y pulido del grano en la piladora “EL REY INDUREY” la cual se encuentra ubicada en el cantón Juján Km 42 vía Guayaquil – Babahoyo.

Luego, en el laboratorio de Bromatología de la carrera de Ingeniería en Alimentos se realizó la molienda de los granos usando dos tipos de molinos. El primer molino modelo RPM1720-MCF permitió la trituration del grano obteniendo así la reducción del tamaño del mismo; mientras que el segundo molino modelo CYCLOTEC permitió la pulverización y

final obtención de las harinas de las seis variedades de arroz.

2.2. Cuantificación de fracciones de almidón por método enzimático

Para la cuantificación de las fracciones de almidón se utilizó el Kit de ensayo de MEGAZYME: AMYLOSE/ AMYLOPECTIN ASSAY PROCEDURE K-AMYL 04/06. (Compañía de Biotecnología MEGAZYME INTERNATIONAL, IRLANDA).

2.2.1 Protocolo para la determinación de amilosa y amilopectina en harinas en el laboratorio de bromatología de la carrera de Ingeniería en Alimentos

Este protocolo está basado en el método de MEGAZYME INTERNATIONAL y abarca el procedimiento de ensayo para la correcta determinación del contenido de amilosa – amilopectina en harinas de seis variedades de arroz ecuatoriano.

El procedimiento para la determinación de amilosa y amilopectina consta de:

- Preparación de buffer y solventes.
- Procedimiento para preparación de reactivos.
- Procedimiento de ensayo; este consta de tres pasos: 1) pre-tratamiento del almidón, 2) precipitación de amilopectina con concavalina A para la determinación de amilosa; y 3) determinación de almidón total.
- Cálculo del contenido en porcentaje de amilosa y amilopectina.

2.3 Análisis Estadístico

Para procesar los datos obtenidos en la experimentación se utilizó el programa STATGRAPHICS Centurion XVI, donde se compararon las seis variedades de arroz, analizando varias réplicas por triplicado y se determinó si existe diferencia significativa entre las medias de las muestras.

Se realizó la prueba-F en la tabla ANOVA y se ejecutó las Pruebas de Rangos Múltiples, las cuáles especifica que medias tienen diferencia significativa en comparación con otras. En caso de obtener datos

atípicos se realizó la prueba de Kruskal-Wallis, para comparar las medianas en vez de las medias.

3. Resultados

3.1 Análisis estadístico del contenido de amilosa y amilopectina de las variedades de arroz ecuatoriano.

Los resultados obtenidos es muestran en la Tabla 1

Tabla 1. Promedio en Porcentaje (\pm desviación estándar) del Contenido de Amilosa y Amilopectina de Seis Variedades de Arroz Ecuatoriano

Variedades de arroz	Contenido de amilosa	Contenido de amilopectina
INIAP 14	41,5 \pm 3,7	58,5 \pm 3,7
INIAP 15	29,2 \pm 3,2	70,8 \pm 3,2
INIAP 16	30,5 \pm 4,3	69,5 \pm 4,3
INIAP 17	65,8 \pm 1,9	29,2 \pm 1,9
SFL09	24,8 \pm 2,7	75,2 \pm 2,7
F50	26,7 \pm 2,2	73,3 \pm 2,2

ELABORADO POR: Landires & Márquez, 2013

Amilosa

Mediante la tabla ANOVA se obtuvo un valor-P $\leq 0,001$, por lo tanto existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las 6 variedades de arroz analizadas, con un nivel de confianza del 95,0%.

Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, se realizó la prueba de Múltiples Rangos de Tukey, lo cual demostró que no existe diferencia significativa entre las variedades F50 y SFL09, las INIAP 15 e INIAP 16 así como las variedades INIAP 15 y F50. En resumen, se puede decir que las variedades INIAP 14 y 17 difieren de las otras variedades. Esto se lo puede corroborar en la Tabla 2, donde, se han identificado 5 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas,

TABLA 2. Prueba de Múltiples Rangos del Porcentaje de Amilosa

Variedades	Casos	Media	Grupos Homogéneos
SFL09	8	24,75	X
F50	8	26,72	XX
INIAP 15	8	29,19	XX
INIAP 16	8	30,54	X
INIAP 14	8	41,51	X
INIAP 17	8	65,81	X

ELABORADO POR: Landires & Márquez, 2013

Por otra parte la prueba de Kruskal-Wallis evalúa las medianas de cada una de las 6 variedades y se obtuvo que el valor-P es menor que 0,05, por lo tanto se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medianas, con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles medianas son significativamente diferentes de otras, se puede observar en el Gráfico de Caja y Bigotes (Figura 3.1 (a)), que las variedades INIAP 14 y 17 son las que difieren entre ellas y con las demás variedades como se lo indicó en la prueba de múltiples rangos.

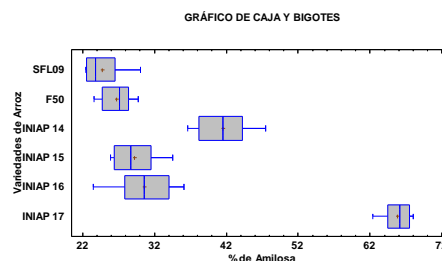


FIGURA 1.1 (a) Gráfico de Caja y Bigotes del Porcentaje de Amilosa de Seis Variedades de Arroz Ecuatoriano

ELABORADO POR: Landires & Márquez, 2013

Amilopectina

Mediante la tabla ANOVA se obtuvo un valor-P $\leq 0,001$, por lo tanto existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las variedades de arroz analizadas.

La prueba de Múltiples Rangos de Tukey demostró que las variedades que difieren de las demás variedades son: la INIAP 14 y 17. Esto se lo puede corroborar en la Tabla 3, donde, se han identificado 5 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas

TABLA 3. Prueba de Múltiples Rangos del Porcentaje de Amilopectina

Variedades	Casos	Media	Grupos Homogéneos
INIAP 17	8	34,1938	X
INIAP 14	8	58,4888	X
INIAP 16	8	69,4575	X
INIAP 15	8	70,8038	XX
F50	8	73,2813	XX
SFL09	8	75,2475	X

ELABORADO POR: Landires & Márquez, 2013

Con la prueba de Kruskal-Wallis se obtuvo que el valor-P es menor que 0,05, por lo tanto se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de las seis variedades de arroz con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles medianas son significativamente diferentes de otras, se puede observar en el Gráfico de Caja y Bigotes (Figura 3.1 (b)), que las variedades INIAP 14 y 17 poseen valores altos de amilopectina.

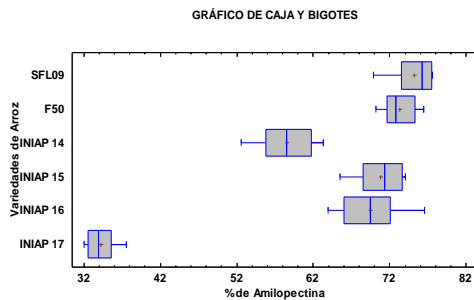


FIGURA 3.1 (b) Gráfico de Caja y Bigotes del Porcentaje de Amilopectina de Seis Variedades de Arroz Ecuatoriano
ELABORADO POR: Landires & Márquez, 2013.

3.1 Análisis de la biosíntesis del almidón en las variedades de arroz ecuatoriano.

La biosíntesis del almidón es un proceso que involucra la formación de dos moléculas: amilosa y amilopectina. La relación entre estas dos determina algunas propiedades importantes del arroz durante y después de la cocción.

Durante la biosíntesis, los porcentajes normales de amilosa están entre el 25%-30% mientras que de amilopectina están alrededor de los 75%- 70%. Los resultados obtenidos de la experimentación en base a los porcentajes de amilosa y amilopectina, muestran que las harinas de las variedades de INIAP

17 poseen un $65,8 \pm 1,9$ % de amilosa y en la INIAP 14 contienen $41,5 \pm 3,7$ % de amilosa, siendo estas dos las que mayor porcentaje de amilosa poseen.

La importancia del alto contenido de amilosa determina características físico-químicas que son cruciales al momento de elegir una variedad de arroz. La biosíntesis del almidón de arroz está determinada por el trabajo de enzimas propias del proceso. La GBSS (Granule-Bound Starch Syntase) es la enzima encargada de la formación de las cadenas lineales de amilosa. Cuando ocurre una modificación en el RNA durante la transcripción de esta enzima, se ve alterado el porcentaje de amilosa en el almidón, posiblemente esto ha ocurrido en las variedades de INIAP 14 y 17.

En la biosíntesis de amilopectina la enzima responsable de esta formación es la SSS (Soluble Starch Syntase), así mismo cuando esta enzima se ve alterada, la consecuencia que se produce es la disminución de las cadenas de amilopectina entre 8-50 glucosas. [1]

3.3 Efecto del contenido de amilosa y amilopectina en la temperatura de gelatinización de harinas.

La gelatinización es de gran importancia en muchas operaciones de procesamiento de alimentos. Los procesos como la elaboración del pan dependen de la gelatinización del almidón para producir esa textura deseada. La proporción de amilosa/amilopectina, juegan un papel importante en las propiedades térmicas de los almidones. [2]

La temperatura de gelatinización es aquella en la cual los granos de almidón empiezan a absorber agua y a hincharse en forma irreversible en agua caliente; está asociada con el contenido de amilosa, el principal determinante de la calidad culinaria del arroz, e igualmente con la dureza del grano. De acuerdo con su temperatura de gelatinización las variedades se clasifican en: bajas, aquellas con temperatura de gelatinización por debajo de 70°C ; intermedias, aquellas con temperaturas entre 70 y 75°C y altas, aquellas con temperaturas por encima de 75°C . las variedades o líneas con temperatura alta de gelatinización parecen tener bajo contenido de amilosa. No se conocen variedades que tengan alta temperatura de gelatinización y alto contenido de amilosa. [3]

En el análisis estadístico realizado se determinó que el contenido de amilosa y amilopectina de las seis variedades de arroz estudiadas difieren

significativamente. En unas de las variedades de arroz analizadas, el contenido de amilosa es más bajo que en otras y por consiguiente el contenido de amilopectina también lo es. Este contenido tiene efectos importantes sobre la gelatinización del almidón en las harinas de arroz estudiadas ya que es uno de los factores que permitirá obtener productos finales con características sensoriales y tecnológicas de calidad.

La temperatura de gelatinización (T_p) para que sea ideal, debe ser lo más baja posible y esto se lo logra con un alto contenido de amilosa, al analizar los datos obtenidos en la experimentación se tiene que las harinas de arroz con más alto contenido de amilosa son la INIAP 17, y la INIAP 14 con un contenido de amilosa en promedio de $65,8 \pm 1,9$ % y $41,5 \pm 3,7$ % respectivamente. (Tabla 1).

El análisis de la temperatura de gelatinización realizado por Coello & Garcés indica que las variedades INIAP 14 e INIAP 17 son aquellas que tienen menor temperatura de gelatinización en comparación con la variedad INIAP 15. A continuación se muestra la gráfica de las medias de las temperaturas de gelatinización de las tres variedades antes mencionadas.

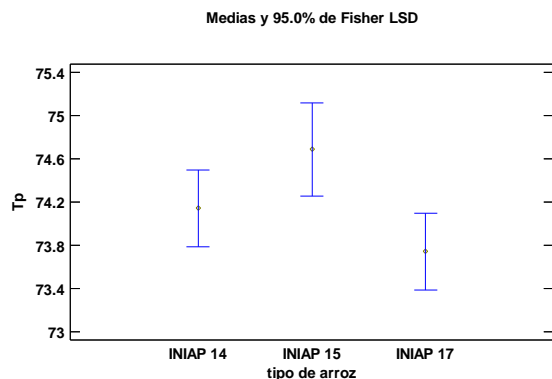


FIGURA 3.3 Gráfico de Medias de Temperatura de Gelatinización (T_p) de Tres Variedades de Arroz Ecuatoriano.

Fuente: Coello & Garcés, 2012 [4]

Se puede corroborar con los datos obtenidos en la experimentación de este proyecto que el contenido de amilosa de las variedades INIAP 14 e INIAP 17 son altos en comparación con las otras variedades analizadas, por lo tanto la temperatura de gelatinización de ambas variedades es menor como se observa en la Figura 3.3.

4. Conclusiones Y Recomendaciones

El método enzimático realizado, permitió cuantificar el contenido en porcentaje de amilosa y amilopectina de las harinas de seis variedades de arroz ecuatoriano tomando como referencia la muestra patrón incluida en el Kit de ensayo de MEGAZYME AMYLOSE/AMYLOPECTIN. Con los datos obtenidos se pudo determinar diferencias y similitudes entre las 6 variedades de arroz con respecto a la fracción amilosa-amilopectina, cuya fracción es de gran importancia ya que estos polisacáridos permitirán, analizar y determinar las características funcionales del almidón y por consiguiente la aplicación tecnológica que se le podría dar a productos de panificación.

Al analizar el contenido de amilosa y amilopectina de las seis variedades de arroz se puede concluir que las variedades que difieren son la INIAP 17 y la INIAP 14, ya que contienen mayor contenido de amilosa, y por diferencia, menor contenido de amilopectina.

El alto contenido de amilosa está determinado por la acción de enzimas que han sufrido alguna modificación durante la biosíntesis, las moléculas de amilosa son lineales pueden unirse de manera muy estrecha permitiendo de esta manera la formación de geles y mayor absorción de agua, característica de gran ventaja al momento de elegir alguna variedad. Muy contrario a lo que ocurre con la amilopectina ya que está en altos porcentajes en el arroz no forma geles y forman una mezcla pastosa lo cual no es en muchas situaciones requerido.

El contenido de amilosa influye en la temperatura de gelatinización, es inversamente proporcional, ya que a mayor contenido de amilosa, menor temperatura de gelatinización y viceversa. Por lo general, se desea arroces que tengan un contenido intermedio de amilosa ya que proporciona mejores características en productos derivados de este.

Se recomienda seguir paso a paso el protocolo realizado, ya que cualquier cambio afectará en los resultados finales, como obtener datos erróneos del contenido de amilosa/amilopectina, por lo que es recomendable trabajar siempre con la muestra patrón y analizar cualquier falla que se dé durante la experimentación.

Es importante que se siga estudiando más sobre las variedades de arroz que existen en el Ecuador, sobre todo la INIAP 17, ya que puede ser una

variedad con la que se pueda desarrollar grandes proyectos que beneficiará a mucha gente y se fomentará el trabajo.

Es significativo para los estudiantes de la carrera de Ingeniería en Alimentos, que se implemente el laboratorio con los equipos que se necesitan para realizar este tipo de experimentación, y así impulsar a desarrollar nuevos métodos de análisis, que no son aplicados con frecuencia y que ayudarán a mejorar la educación.

5. Agradecimiento

A nuestra directora de tesis, la Ing. Fabiola Cornejo, por sus enseñanzas y por brindarnos la oportunidad de culminar con éxito esta etapa de nuestras vidas.

Al Dr. Eduardo Chica y a la Ing. Janaina Sánchez García por su apoyo incondicional a lo largo de la experimentación.

6. Referencias

- [1]Schulman, A. Applications of Molecular Biothecnology. *“Chemestry, Biosynthesis, and Engineering of Starches and Other Carbohydrate”*. Chapter 12. Págs. 493-512.
- [2]Franco, M., Wenzel de Menezes, E. Carbohidratos en Alimentos Regionales en América. Editorial de la Universidad de Sao Paulo. 2006, Págs. 38-46.
- [3]Marinez, C., Cuevas, F. Evaluación de la calidad culinaria y molinera del arroz. Cali, Colombia. Págs. 22-25.
- [4]Coello V., Garcés C. *“Análisis de Propiedades Térmicas durante Gelatinización en tres variedades de arroz INIAP aplicando el Calorímetro Diferencial de Barrido (DSC)”* TESIS DE GRADO DE LA ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL. Guayaquil, Ecuador. 2012.