



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
Campus Tuxtepec

**Efecto de la modificación química dual del
almidón de plátano (*Musa paradisiaca* L.) sobre las
propiedades térmicas, morfológicas y estructurales**

T E S I S

Presentado por

BRENDA ZORAYDA VERGARA MÉNDEZ

Para obtener el título de:

LICENCIADA EN CIENCIAS QUIMICAS

Dr. Andrés Aguirre Cruz

Director de Tesis

Dra. Roselis Carmona García

Co-director de Tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca

Septiembre 2012

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento:

A mis directores de tesis, el Dr. Andrés Aguirre Cruz (UNPA) y la Dra. Roselis Carmona García (ITTUX), por brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza y amistad, fundamentales en el desarrollo de este trabajo.

A mi comité tutorial, Dr. Mario Valera Zaragoza, M. C. Roxana Martínez Pascual y M. C. Aurelio Ramírez Hernández, por las observaciones realizadas para el mejoramiento de este trabajo de investigación.

Al ITTUX y la UNPA por las facilidades brindadas para desarrollar la parte experimental de esta tesis en sus laboratorios.

Al personal y alumnos de la Universidad del Papaloapan que estuvieron apoyándome durante el aislamiento del almidón, modificación química, y los análisis físicos y químicos.

Al Dr. Omar Viñas Bravo por la ayuda otorgada en la realización de los estudios de los almidones en resonancia magnética nuclear (RMN).

Al Dr. Mario Valera Zaragoza por la ayuda otorgada en el manejo del equipo de análisis termogravimétrico (TGA).

A cada uno de los profesores que contribuyeron a mi formación académica, gracias por compartir sus conocimientos y experiencias.

A los amigos que me acompañaron a lo largo de este camino, porque siempre se aprende algo nuevo de cada una de las personas que se encuentran alrededor: Alejandra, Asunción, Conchita, Christofer, Fernando, Heidy, Jade, Jair, Josefina, Mariazel, Narelle y Rubén.

Por último agradezco a todas las personas que contribuyeron con un granito de arena al desarrollo de esta tesis, maestros y alumnos de la Universidad del Papaloapan.

DEDICATORIAS

A *Dios* por permitirme lograr una meta más, por enseñarme que cuando se tiene Fe los sueños se convierten en realidad.

A mis maravillosos padres *Albertano y Victoria* quienes siempre han estado ahí, con su apoyo incondicional y han sabido guiarme con sus sabios consejos durante toda mi vida, gracias por la confianza y su gran amor.

A mi novio *Arturo* que compartió conmigo este proceso, alentándome en cada momento, gracias por tu amor y cariño.

A mi Tutor el *Dr. Guillermo Ramírez Galicia* quien estuvo conmigo durante todo este camino, le agradezco los consejos que me hicieron seguir al pie del cañón cuando las cosas estaban difíciles, gracias por su confianza y comprensión.

A *Mariazel* por su amistad y porque siempre me motivó a seguir adelante, además de su apoyo incondicional en todo momento.

A todos aquellos que durante cinco años de una u otra manera han estado conmigo, gracias por sus consejos y palabras de apoyo que hicieron este camino agradable.

RESUMEN

Almidón aislado a partir de plátano (*Musa paradisiaca* L) fue utilizado para ser modificado dualmente mediante un proceso continuo (entrecruzamiento y carboximetilación) y fueron evaluadas sus propiedades térmicas, morfológicas y estructurales. El almidón entrecruzado carboximetilado (AMEC) presentó un grado de sustitución (GS) de grupos carboximetilos de 0.168%. El contenido de humedad y cenizas encontrado en el AMEC fue significativamente mayor (17.69% y 43.82%, respectivamente) comparado con el observado para el almidón nativo (8.42% y 0.09%, respectivamente), el aumento en el contenido de humedad puede deberse a la introducción de grupos carboximetilos (CH_2COONa) que incrementan el carácter hidrofílico del almidón, con respecto al contenido alto de cenizas puede atribuirse a la inclusión de moléculas de sodio (Na) en la estructura química del almidón. El AN mostró un espectro de absorción de IR característico, observando las bandas correspondientes a los enlaces O-H ($3600\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$), C-H (2929 cm^{-1}), agua adsorbida (1640 cm^{-1}) y la región conocida como la huella dactilar ($400\text{ a }1250\text{ cm}^{-1}$). Por otro lado en el espectro de absorción de IR del AMEC se observó una nueva señal a los 1426 cm^{-1} , que corresponde a la presencia de grupos carboximetilos, lo que indica que la modificación se llevó a cabo. La modificación fue corroborada por $^{13}\text{CRMN}$, los espectros mostraron un pico a 100.7 ppm (entrecruzamientos) y 176.77 ppm (carboximetilación). El AN presentó un patrón de difracción tipo A, mientras que el AMEC presentó disminución en su cristalinidad, esto provocado principalmente por la introducción de grupos pendants voluminosos (CH_2COONa) que interrumpen el orden molecular de los componentes del almidón. Las propiedades térmicas (T_g y ΔH_g) del AN fueron también afectadas con la modificación dual realizada, observándose un aumento en la T_g y valor de la ΔH . Este aumento se debe principalmente a la introducción de enlaces cruzados que inhiben la fusión de los cristales y hacen que se necesiten de más energía para desestabilizar el sistema (ΔH). Por lo tanto podemos concluir que la modificación dual del almidón fue llevada a cabo exitosamente.

ÍNDICE

	Página
AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	iii
ÍNDICE	iv
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABLAS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	vii
I INTRODUCCIÓN	1
II ASPECTOS TEÓRICOS	3
2.1 El Plátano	3
2.2 Almidón	4
2.2.1 Aspectos generales del almidón	4
2.2.2 Almidón de plátano	5
2.2.3 Composición química del almidón	6
2.2.3.1 Amilosa	7
2.2.3.2 Amilopectina	8
2.2.4 Cristalinidad del almidón	9
2.3 Almidones modificados	11
2.3.1 Tipos de modificaciones químicas del almidón	13
2.3.2 Entrecruzamiento del almidón	15
2.3.2.1 Tipos de agentes entrecruzantes	15
2.3.2.1.1 Entrecruzamiento con oxiclورو de fosforo (POCl ₃)	16
2.3.2.1.2 Entrecruzamiento con trimetafosfato de sodio (STPM)	17
2.3.2.1.3 Entrecruzamiento con epiclorhidrina (EPI)	18
2.4.3 Adición de grupos funcionales: Carboximetilación del almidón	20
III ANTECEDENTES	22
3.1 Estudios realizados sobre almidón de plátano químicamente modificado	22
IV JUSTIFICACIÓN	24
V HIPÓTESIS	25
VI OBJETIVOS	26
6.1 Objetivos generales	26
6.2 Objetivos específicos	26
VII METODOLOGÍA	27
7.1 Aislamiento del almidón de plátano	27
7.2 Modificación química del almidón	27
7.2.1 Entrecruzamiento del almidón con epiclorhidrina	27
7.2.2 Carboximetilación del almidón entrecruzado con cloroacetato de sodio	28

7.3	Grado de sustitución (GS) del almidón entrecruzado carboximetilado	28
7.3.1	Grupos carboximetilos	28
7.4	Composición química del almidón nativo y modificado	29
7.4.1	Humedad	29
7.4.2	Cenizas	29
7.4.3	Lípidos	29
7.4.4	Proteínas	29
7.4.5	Almidón total	30
7.5	Estudios moleculares de almidón nativo y modificado	30
7.5.1	Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)	30
7.5.2	Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (¹³ C-RMN)	31
7.5.3	Difracción de rayos X (DRX)	31
7.6	Estudios morfológicos del almidón nativo y modificado	32
7.6.1	Determinación de tamaño de partícula (DTP)	32
7.6.2	Microscopía Óptica	33
7.7	Estudios térmicos del almidón nativo y modificado	33
7.7.1	Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	33
7.7.2	Análisis térmico gravimétrico (TGA)	34
VIII	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
8.1	Caracterización química del almidón modificado	35
8.1.1	Grado de sustitución (GS)	35
8.1.2	Análisis químico	35
8.2	Estudio molecular del almidón modificado	37
8.3	Comportamiento cristalino del almidón modificado	41
8.4	Estudio térmico del almidón modificado	42
8.5	Estudio morfológico del almidón modificado	46
IX	CONCLUSIONES	50
X	PERSPECTIVAS	51
XI	REFERENCIAS	52

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
Figura 1	Micrografía electrónica de barrido del almidón de plátano.	6
Figura 2	Unidad α -D-Glucopiranososa.	7
Figura 3	Estructura química de la amilosa.	8
Figura 4	Estructura química de la amilopectina.	9
Figura 5	Patrones de difracción de rayos X de almidones: tipo A, B y C.	10
Figura 6	Celda unitaria (sección marcada) y arreglo de las dobles hélices: a) Tipo A (monoclínica), b) Tipo B (hexagonal).	11
Figura 7	Métodos de modificación química del almidón.	14
Figura 8	Reacción de entrecruzamiento del almidón con oxiclورو de fosforo. a) Transformación del tricloruro de fósforo a di-cloruro de fósforo b) Transformación del di-cloruro de fosforo a di-almidón fosfato	16
Figura 9	Reacción del STPM con el almidón.	17
Figura 10	Formación del DAMF y del MAMF	18
Figura 11	Reacción de entrecruzamiento del almidón con epiclorhidrina.	19
Figura 12	Formación de Di almidón glicerol y Mono almidón glicerol.	20
Figura 13	Reacción de carboximetilación del almidón. (a) Alcalización, (b) Eterificación.	21
Figura 14	Reacciones de entrecruzamiento y carboximetilación del almidón.	21
Figura 15	Espectros obtenidos por FTIR del almidón nativo (AN) y el almidón modificado (AMEC).	38
Figura 16	Espectros de ^{13}C -RMN del almidón nativo (AN).	39
Figura 17	Espectro de ^{13}C -RMN del almidón modificado (AMEC)	40
Figura 18	Patrones de difracción de rayos X del almidón nativo (AN) y el almidón modificado (AMEC).	41
Figura 19	Curvas de pérdida de peso obtenidas por análisis termogravimétrico del almidón nativo (AN) y el almidón modificado (AMEC).	44
Figura 20	Transiciones térmicas por DTA de almidón nativo (AN) y almidón modificado (AMEC).	45
Figura 21	Microfotografías del almidón nativo AN (a-d) y el almidón modificado AMEC (e-h), con objetivos en 200x y 300x, en campo claro y obscuro.	47
Figura 22	Perfil de distribución de tamaño de partícula de almidón nativo (AN) y almidón modificado (AMEC)	49

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
Tabla 1	Composición química del almidón de plátano macho (<i>Musa paradisiaca</i> L.).	5
Tabla 2	Composición química (%) del almidón nativo y modificado químicamente.	36
Tabla 3	Valores de temperatura y entalpia de gelatinización, para AN y AMEC.	43

LISTA DE ABREVIATURAS

AMEC	Almidón modificado: entrecruzado carboximetilado
AN	Almidón nativo
°C	Grado centígrado
cm ³	Centímetro cúbico
CMS	Carboximetil almidón (por sus siglas en inglés)
¹³ C-RMN	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
Da	Daltons
DAMF	Di almidón mono fosfato
DMSO _{de}	Dimetilsulfoxido deuterado
DRX	Difracción de rayos X
DSC	Calorimetría diferencial de barrido (por sus siglas en inglés)
EPI	Epiclorhidrina
FDA	Administración de alimentos y medicamentos (por sus siglas en inglés)
FTIR	Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier
g	Gramo
GP	Grado de polimerización
GPn	Grado de polimerización promedio en número
GS	Grado de sustitución
h	Hora
HCl	Ácido clorhídrico
ΔH _g	Entalpía de gelatinización
KOH	Hidróxido de potasio
MAMF	Mono almidón mono fosfato

DAMF	Di almidón mono fosfato
min	Minutos
mL	Mililitros
NaOH	Hidróxido de sodio
nm	Nanómetros
ppm	Partes por millón
POCl ₃	Oxicloruro de fósforo
p/p	Peso/peso
rpm	Revoluciones por minuto
SEM	Microscopía electrónica de barrido (por sus siglas en inglés)
SM	Sustitución molar
SOP	Fosfato mono sódico
STMP	Trimetafosfato de sodio
STPP	Tripolifosfato de sodio
T _c	Temperatura final
TGA	Análisis termogravimétrico (por sus siglas en inglés)
T _{deg}	Temperatura de degradación
T _{di}	Temperatura de descomposición inicial
T _{dmáx}	Temperatura de descomposición máxima
T _{evap}	Temperatura de evaporación
T _o	Temperatura inicial
T _p	Temperatura pico
v/v	Volumen/volumen
μL	Microlitro

I. INTRODUCCIÓN

El almidón constituye una de las más importantes acumulaciones de materia seca en los sistemas de las plantas después de la celulosa y la quitina (Tharanathan, 2005). Se encuentra formado por una mezcla de dos homopolisacáridos de diferente estructura, la amilosa (polisacárido lineal) y amilopectina (polisacárido ramificado). Las moléculas de amilosa se encuentran constituidas por cadenas compuestas de residuos de glucosa unidas por enlaces covalentes. La amilopectina presenta una estructura más complicada con cadenas ramificadas y su contenido va del 30 al 100%.

El almidón no solo es la principal fuente alimenticia de los humanos, si no también se considera como una fuente renovable que puede ser utilizada en muchas aplicaciones industriales. El almidón es comúnmente aislado de cereales (arroz, trigo, maíz), tubérculos (papa, camote) y leguminosas (frijol, chicharos) (Singh *et al.*, 2007). Sin embargo en México la producción de cereales no es suficiente, ya que es utilizado para alimentación animal y uso industrial, por esta razón estos granos tiene que ser importados para satisfacer la demanda en el país. Por lo que ha sido necesario buscar fuentes alternativas o no convencionales que sirvan como materia prima para el aislamiento del almidón. En nuestra región el plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) representa una fuente potencial para el aislamiento del almidón ya que en estado verde o inmaduro contiene aproximadamente 70%.

Con el uso de los almidones nativos se encontraron algunos inconvenientes debido a las condiciones del proceso (ejemplo: temperatura, pH, presión, esfuerzo cortante, etc.) los cuales limitan sus usos en diversas aplicaciones industriales. Estos inconvenientes pueden ser superados por modificaciones, utilizando métodos químicos, físicos y/o enzimáticos (Fleche, 1990).

Los métodos más comunes para modificar las propiedades del almidón son los métodos químicos, es decir, el tratamiento del almidón nativo con reactivos químicos específicos. Dentro de esta definición se incluyen la oxidación, eterificación, esterificación, entrecruzamiento, sustitución, etc. Dentro de los métodos empleados para la modificación química de los almidones se han propuesto las modificaciones químicas duales, las cuales son combinaciones de sustituciones y entrecruzamientos, en donde ya se ha demostrado que proveen de estabilidad al almidón contra condiciones ácidas, degradaciones térmicas, mecánicas y el retraso en la retrogradación durante el almacenamiento (Jane, 1997; Wurzburg 1986a, 1986b).

El objetivo del presente trabajo fue realizar la modificación química dual (entrecruzamiento y carboximetilación) del almidón de plátano con epíclorhidrina y cloroacetato de sodio en reacción continua, caracterizando químicamente el material obtenido y evaluando sus propiedades térmicas, morfológicas y estructurales.

2. ASPECTOS TEÓRICOS

2.1 El Plátano

El plátano es un término general que involucra un número de especies o híbridos del género *Musa* de la familia *Musaceae*. Casi todos los cultivos de plátanos comestibles surgieron a partir de dos especies diploides, *Musa acuminata* y *Musa balbisiana*, las cuales son nativas del sureste de Asia. El plátano se considera una de las principales fuentes de energía para las personas y el cuarto cultivo alimentario más importante del mundo, después del arroz, trigo y maíz (Robinson, 1996; Stover and Simmonds, 1987). Es un fruto climatérico, lo que significa que una vez que se corta del árbol, inicia un proceso de maduración acelerado, ocasionando que cada año se pierda del 30 al 50% de la cosecha (FAOSTAT 2001).

Los principales países productores de plátano en el 2010 fueron India (23, 204,800 Ton), Filipinas (8, 687,624 Ton), China (8, 042,702 Ton), representando a su vez el 25.6%, 9.2% y el 9% del total de la producción mundial. El cultivo de plátano tiene una producción mundial de aproximadamente 90, 643,750 toneladas. México ocupa el octavo lugar con una producción de 2, 159,280 toneladas, con un 2.4% del total mundial (FAOSTAT, 2010). En México, el principal tipo de plátano producido es el enano gigante (1, 322,556.79 Ton), el segundo es el plátano Macho (332, 242.43 Ton) y el tercero es el plátano Tabasco (159, 662.4 Ton). Los principales estados productores de plátano macho en México son Chiapas (165,650 Ton), Veracruz (48,291 Ton), Tabasco (37,996 Ton) y Oaxaca (35,107 Ton) (SIAP-SAGARPA, 2010).

Debido a su alto contenido de almidón (70% en base seca) el plátano es procesado para obtener este polisacárido, con el interés de ofrecer una posible fuente importante no convencional con aplicaciones en la industria de alimentos, entre otras. Esto representa una alternativa tecnológica para el aprovechamiento de este recurso sub-utilizado (Waliszewski *et al.*, 2003; Manrique-Quevedo *et al.*, 2007).

Algunos estudios acerca del aislamiento del almidón de plátano a nivel laboratorio y su caracterización, han sugerido que pueden tener características fisicoquímicas y funcionales interesantes (Faisant *et al.*, 1995; Bello-Pérez *et al.*, 1998 y 1999). Flores-Gorosquera *et al.*, (2004) desarrollaron la metodología para el aislamiento de almidón a partir de plátano a nivel planta piloto, reportando un rendimiento de 71% y 91% de pureza.

2.2 Almidón

2.2.1 Aspectos generales del almidón

El almidón es el principal polisacárido de reserva sintetizado por las plantas superiores. Es un componente importante de un gran número de productos agrícolas como los cereales (maíz, trigo, arroz, cebada) en los cuales el contenido de almidón es del 30-80%, leguminosas (frijoles, chicharos, habas) con 25–50%, tubérculos (papa, yuca) con 60–90%, y algunos frutos en estado fisiológico inmaduro (mango, plátano) los cuales pueden contener hasta un 70% en base seca de este carbohidrato (Bello-Pérez *et al.*, 1999; Thomas and Atwell, 1999). En México, la principal fuente de obtención del almidón ha sido el maíz; sin embargo, actualmente se ha dado atención a la extracción de este polisacárido de fuentes no convencionales como son el amaranto, la yuca, el sorgo y frutos en estado inmaduro, en los cuales el almidón constituye el segundo componente en importancia después del agua. En este sentido, diversos grupos de investigadores han buscado fuentes alternas para la obtención de almidón a bajo costo de producción (Bello-Pérez *et al.*, 1999). Es importante mencionar que la funcionalidad del almidón depende del contenido de amilosa y amilopectina, de la estructura química y tamaño molecular, así como de sus propiedades y de los otros componentes presentes en los gránulos de almidón (proteínas y lípidos). Los gránulos de almidón se encuentran en la naturaleza organizados en partículas muy pequeñas cuya morfología, composición química y arreglo relativo de las macromoléculas en estado sólido son características especiales de cada especie.

El diámetro de partícula es una de las características que más afectan a las propiedades funcionales de los gránulos de almidón. Se ha reportado que los gránulos pequeños presentan mayor solubilidad y una alta capacidad de adsorción de agua (Singhal and Kulkarni, 1988). Los gránulos de almidón pueden presentar diversas formas: alargados, esféricos o aplanados con un surco longitudinal, como es el caso del trigo, la cebada y el centeno (Donald, 2001; Smith, 2001). El tamaño de los gránulos de almidón va de 0.1 a 100 μm . Los gránulos más grandes que se han reportado son del almidón de papa (15 a 100 μm) (Lineback, 1984) y los más pequeños en el amaranto, los cuales van de 0.8 μm a 2.5 μm) (Paredes-López *et al.*, 1989).

2.2.2 Almidón de plátano

El almidón de plátano tiene una mayor estabilidad que otros almidones en estado nativo, además de presentar comparablemente una baja solubilidad y poder de hinchamiento, lo que refleja una estructura fuertemente organizada (Zhang *et al.*, 2005). La funcionalidad de los almidones es dependiente de la proporción de sus componentes (amilosa y amilopectina), tamaño molecular y estructura, las propiedades de los gránulos del almidón y su composición química (lípidos, cenizas, humedad y proteínas). La composición química del almidón de plátano macho se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química del almidón de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.)^a

Determinación química	Contenido (%)
Lípidos	1.85 ± 0.11
Proteínas ^b	2.06 ± 0.15
Cenizas	1.89 ± 0.12
Humedad	8.30 ± 1.70
Almidón total	91.20 ± 1.20

Zamudio-Flores *et al.*, 2010

^aPromedio de cinco repeticiones ± desviación estándar

^bN x 5.85

En general los gránulos de almidón de plátano “macho” (*Musa paradisiaca* L.) pueden presentar forma ovales, elipsoidales o irregulares alargadas con un tamaño promedio de entre 20 a 50 μm (Figura 1) (Carmona-García *et al.*, 2009). Se ha reportado que los gránulos pequeños pueden adsorber una mayor cantidad de agua que los gránulos grandes debido a la mayor área de contacto (Millan-Testa *et al.*, 2005), otorgando a los almidones modificados la posibilidad de actuar como adsorbentes de metales en solución acuosa.

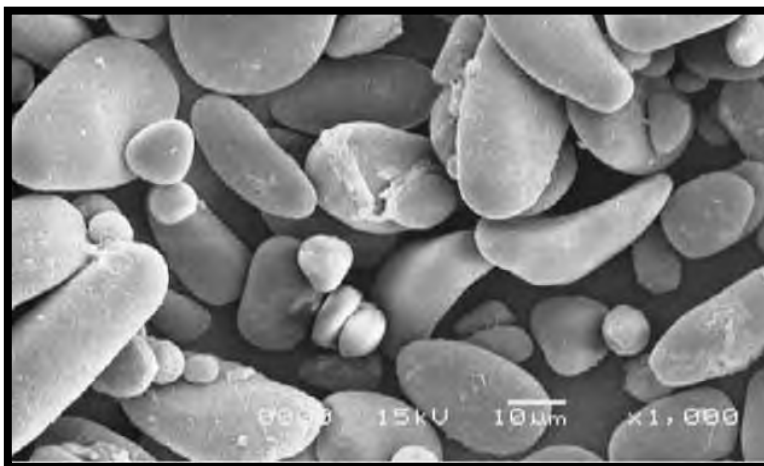


Figura 1. Micrografía electrónica de barrido del almidón de plátano.
(Carmona-García *et al.*, 2009)

2.2.3 Composición química del almidón

Desde el punto de vista químico, el almidón está compuesto principalmente por dos polisacáridos similares: la amilosa y la amilopectina. Adicionalmente, tienen otros constituyentes, tales como proteínas de 0.05% en tubérculos hasta un 5.0% cereales, lípidos desde 0.1% en tubérculos hasta un 1.0% en cereales y cenizas desde 0.1% a 3.0% (Guilbot and Mercier, 1985). La proporción amilosa y amilopectina depende del origen del almidón. La mayoría de los almidones presenta del 20–25% de amilosa y son considerados como almidones “normales”. Sin embargo existen algunos en los cuales la amilosa es casi inexistente (< 1% p/p) y son llamados almidones cerosos o “waxy” (BeMiller and Huber, 2007).

2.2.3.1 Amilosa

La amilosa es un polímero esencialmente lineal, formado por unidades de la *D*-glucopiranososa (Figura 2), unidas por enlaces $\alpha(1-4)$ (Thomas and Atwell, 1999).

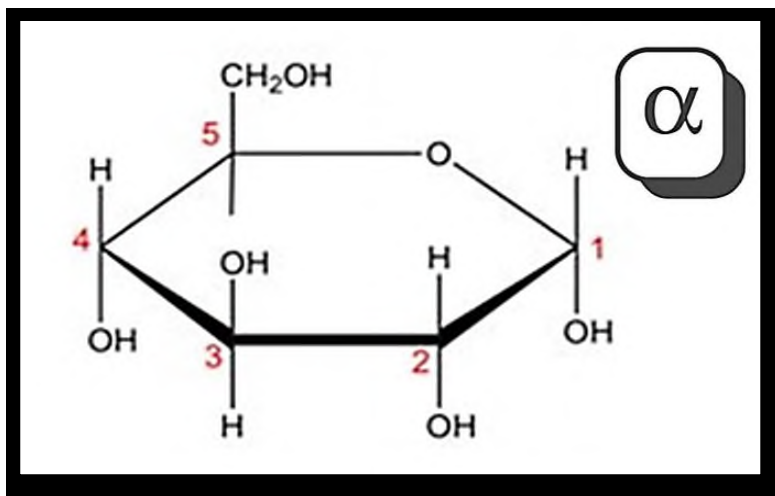


Figura 2. Unidad α -*D*-glucopiranososa (Baker, 1968)

Debido al acoplamiento axial-ecuatorial de las unidades *D*-glucopiranososa, le permite a la molécula mantener una estructura helicoidal, la cual se forma con seis unidades por giro de la hélice (Figura 3), generando un interior hidrofóbico/lipofílico que contiene solamente átomos de hidrógeno, colocándose en el exterior del espiral los grupos hidroxilos (BeMiller and Whistler, 1996).

La amilosa tiene una peso molecular entre 1×10^5 y 1×10^6 Daltones (Da), aproximadamente un grado de polimerización (GP) de 324-4920 con alrededor de entre 9 a 20 puntos de ramificación, equivalentes de 3 a 11 cadenas por molécula (MacAllister, 1979; Gallant and Bouchet, 1986; Tester *et al.*, 2004)

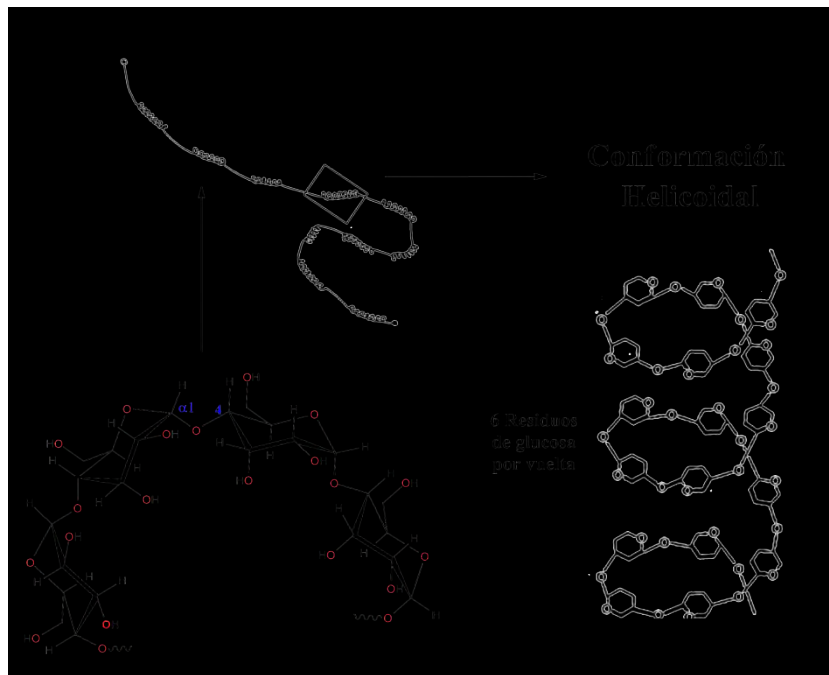


Figura 3. Estructura química de la Amilosa. (Whistler and Daniel, 1984)

2.2.3.2 Amilopectina

La amilopectina es un polímero compuesto por la unión de unidades de α -D-glucopiranososa mediante enlaces $\alpha(1-4)$, y puntos de ramificación con uniones $\alpha(1-6)$, cada 20 a 25 unidades (Figura 4).

Es mayor que la amilosa, con una peso molecular entre 1×10^7 y 1×10^9 Daltones (Da). Estas variaciones dependen del origen botánico, así como de las condiciones de separación de la amilosa y la amilopectina (Gallant and Bouchet, 1986; Bello-Pérez *et al.*, 2002).

Esta molécula es altamente ramificada y además de los enlaces $\alpha(1-4)$ que representan (92–96%), están presentes enlaces glucosídicos $\alpha(1-6)$, en una proporción del 4 al 5%. El GP se encuentra típicamente dentro del intervalo de 9,600 a 15900 monómeros de glucosa

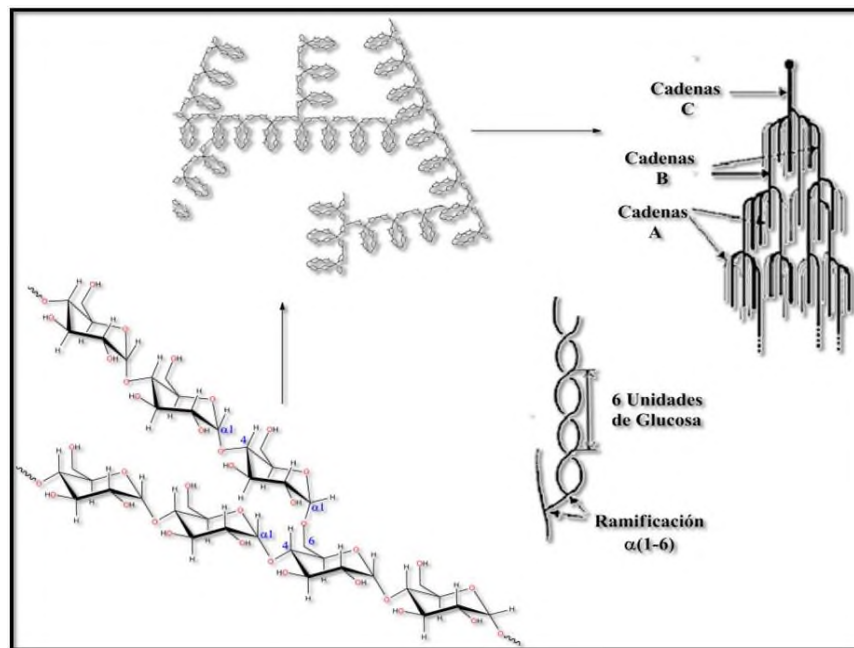


Figura 4. Estructura molecular de la amilopectina. (Whistler and Daniel, 1984)

La amilopectina está asociada con las regiones cristalinas del gránulo de almidón, la cual se compone por tres tipos de cadenas denominadas como cadenas A, B y C; que difieren en el empaquetamiento de la doble hélice de la estructura (Singh *et al.*, 2007). Las moléculas se orientan radialmente formando el gránulo de almidón, el radio incrementa haciendo que el número de uniones aumente, llenando el espacio para la formación de regiones concéntricas alternando la estructura amorfa cristalina, por lo que el almidón es considerado semicristalino.

2.2.4 Cristalinidad del almidón

El almidón (principalmente las cadenas externas de la amilopectina) forma dobles hélices, con modelos de estructura ordenada que son entidades cristalinas, presentando dos tipos de patrones de difracción de rayos X: el tipo “A”, tiene picos de mayor intensidad de difracción para los ángulos $2\theta = 15$ y 23 , este patrón es típico de los almidones de cereales.

El tipo “B”, tiene picos de mayor intensidad de difracción para los ángulos $2\theta = 5.6, 15$ y 24 , y se ha encontrado en almidones de tubérculos y altos en amilosa. Actualmente se considera un tercer tipo “C”, que es una mezcla de los tipos A y B, pero con más inclinación a la del tipo A (Figura 5) (Parker and Ring, 2001).

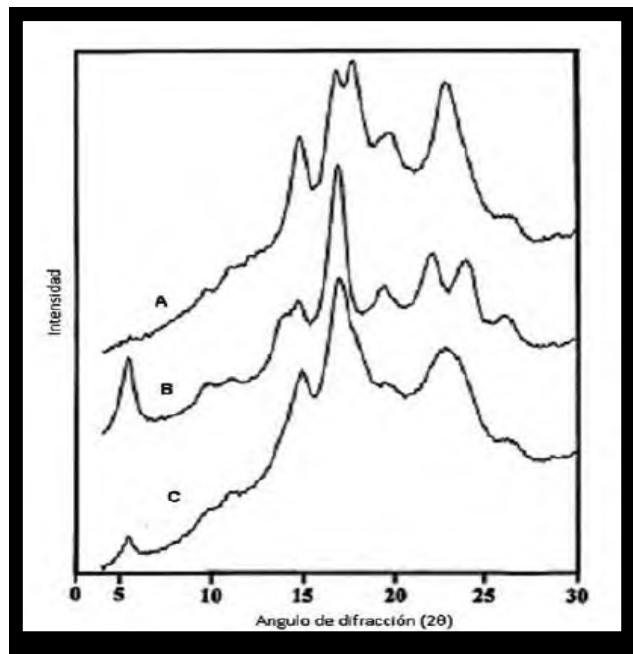


Figura 5. Patrones de difracción de rayos X de almidones: Tipo A, B y C. (Bogracheva *et al.*, 1999)

El arreglo de estas dobles hélices dentro de la estructura polimórfica tipo A (Figura 6a), es relativamente compacta, con un bajo contenido de agua (4 a 8 moléculas de agua por hélice, es imposible removerlas sin una completa destrucción de la estructura cristalina) proporcionando una celda unitaria monoclinica. El polimorfismo tipo B (Figura 6b) tiene su estructura más abierta, por lo tanto hay mayor contenido de agua, haciéndola una hélice hidratada (36 moléculas de agua por hélice) con una celda unitaria del tipo hexagonal (Pérez and Imberty, 2000)

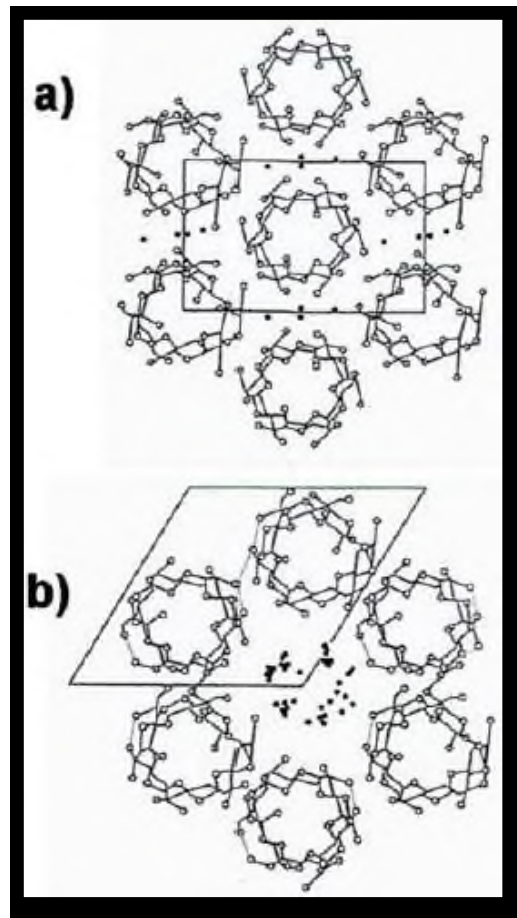


Figura 6. Celda unitaria (sección marcada) y arreglo de las dobles hélices:
a) Tipo A (monoclínica), b) Tipo B (hexagonal) (Galliard, 1987)

2.3 Almidones modificados

El almidón y sus derivados son materiales económicos y seguros para la preparación de adsorbentes, que pueden ser utilizados para eliminar contaminantes presentes en el agua, debido a sus propiedades como estabilidad química y alta reactividad, como resultado de la presencia de grupos hidroxilos en la cadena polimérica químicamente reactivos. Sin embargo, es sabido que la naturaleza hidrofílica del almidón es el mayor obstáculo que limita seriamente el desarrollo de materiales a partir de este polisacárido (Thomas and Atwell, 1999).

La modificación química ha sido propuesta como una vía para resolver este problema y producir materiales resistentes al agua. Las modificaciones consideran la introducción de alteraciones en la estructura del almidón, de tal manera que su comportamiento sea predecible y controlable. Por lo tanto, los derivados de almidón modificados son el producto del rompimiento de enlaces glucosídicos (modificación ácida), formación de nuevos grupos funcionales (formación de grupos carbonilo durante la oxidación) o sustitución de grupos radicales libres (por eterificación, esterificación o enlazamiento de cadenas moleculares por reacciones de entrecruzamiento) (Thomas and Atwell, 1999).

Las modificaciones químicas pueden llevarse a cabo de tres diferentes maneras (Singh *et al.*, 2007):

- En suspensión, el almidón es suspendido en agua, la reacción química se lleva a cabo en un medio acuoso hasta obtener las propiedades requeridas. Posteriormente se filtra, lava y se deja secar a temperatura ambiente.
- En pasta, el almidón es gelatinizado con reactantes químicos, en pequeñas cantidades de agua; la pasta se agita, y cuando la reacción se termina, el almidón se deja secar a temperatura ambiente.
- En estado sólido, el almidón es humectado con reactantes químicos en soluciones acuosas, se deja secar, y finalmente se hace reaccionar a una alta temperatura.

Una cantidad importante de los almidones comerciales, son modificados por enlaces cruzados o reacciones de sustitución. Estos almidones se pueden obtener aplicando estos procesos de forma separada o en combinación (Thomas and Atwell, 1999). El tipo más común de modificación de almidón en los Estados Unidos, es el tratamiento de almidón nativo con pequeñas cantidades de reactivos químicos aprobados por el Código Federal de Regulación (CFR, 1995).

La química de este proceso involucra primariamente reacciones asociadas con los grupos hidroxilo del polímero de almidón unido al C-2, C-3 y C-6 (Thomas and Atwell, 1999).

Generalmente la modificación del almidón se expresa por el grado de sustitución (GS), que está dado cuando el grupo sustituto (acetato o fosfato) reacciona con el grupo hidroxilo de la unidad *D*-glucopiranosil, así también se emplea la sustitución molar (SM) cuando el grupo sustituto reacciona con el reactivo dando como resultado un polímero sustituido y/o modificado (Thomas and Atwell, 1999). Los almidones nativos pueden ser modificados por razones como su abundancia y su disponibilidad, porque que son más económicos y por proveer atributos funcionales a los productos donde son usados y que no les son conferidos por los almidones nativos (Light, 1990; Thomas and Atwell, 1999):

2.3.1 Tipos de modificación química del almidón

Wurzburg (1986a), Light (1990) y Thomas and Atwell, (1999) determinaron que en esta clasificación las modificaciones químicas del almidón en general se dividen en:

1. Derivación (Eterificación, esterificación, entrecruzamiento, adición de grupos funcionales).
2. Conversión (Hidrólisis, oxidación, dextrinización y conversión enzimática).

Estos tipos de modificaciones se llevan a cabo mediante diversas reacciones químicas (Figura 7).

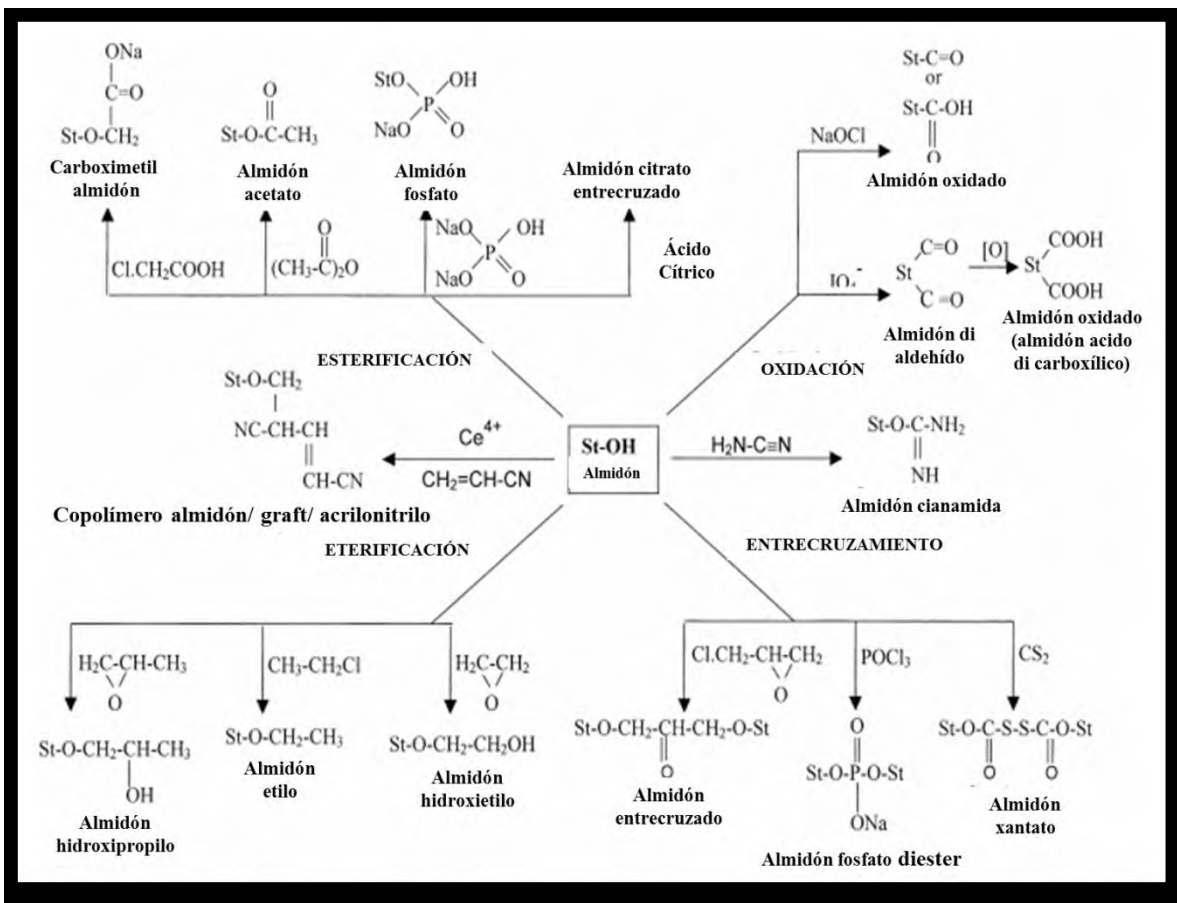


Figura. 7 Métodos de modificación química del almidón.
(Tharanathan, 2005)

La derivación vía formación de éter o éster, la oxidación de los OH libres por grupos carbonilo o carboxilo y por la hidrólisis de los enlaces glucosídicos, son algunos de los principales mecanismos de modificación química aplicados (Wurzburg and Szymansky, 1970; Rogols, 1986; Wurzburg, 1986a y b, Fleche, 1990; Light, 1990; Thomas and Atwell, 1999).

De los métodos de la modificación química del almidón, el entrecruzamiento junto con la adición de grupos funcionales (modificación dual) han sido unos de los más relevantes debido a su uso industrial. Los almidones modificados dualmente son ampliamente

utilizados en las investigaciones medicas y farmacéuticas (transporte de moléculas, excipientes e hidrogeles), en la industria alimentaria (como aditivos, espesantes y retenedores de aromas) y en otros campos, como son el tratamiento de aguas residuales (como adsorbentes para decolorar, quelación de contaminantes o extracción de metales (Zhang *et al.*, 2005)

2.3.2 Entrecruzamiento del almidón.

La modificación química por entrecruzamiento en los almidones consiste en la formación de grupos funcionales, los cuales forman enlaces covalentes intra e inter-moleculares de manera aleatoria en el gránulo de almidón. Estos enlaces refuerzan las interacciones por puente de hidrógeno entre las moléculas del almidón, manteniendo las cadenas fijas en el espacio de manera que no puedan interactuar fuertemente. Como consecuencia, el entrecruzamiento produce gránulos de almidón con un aumento en la resistencia a altas temperaturas, a la acidez y otras variaciones de procesamiento, esto permite mejorar sus propiedades de textura, adicionalmente el entrecruzamiento disminuye la ruptura del gránulo y la viscosidad. En general, para la preparación de almidones entrecruzados, los gránulos nativos son mezclados en un sistema acuoso con reactivos capaces de reaccionar con al menos dos de los grupos hidroxilos de las moléculas vecinas (C-2, C-3 ó C-6) (Wurzberg and Szymanski, 1970; Rutenberg and Solarek, 1984). Estos hidroxilos son capaces de reaccionar con agentes multifuncionales dando como resultado almidones entrecruzados.

2.3.2.1 Tipos de agentes entrecruzantes

Los principales agentes utilizados para realizar el entrecruzamiento de los almidones son: Trimetafosfato de sodio (STPM), Fosfato monosódico (SOP), Tripolifosfato de sodio (STPP), Epiclorhidrina (EPI), Oxicloruro de fósforo (POCl_3) y una mezcla de ácido adípico - anhídrido acético - cloruro de vinilo.

2.3.2.1.1 Entrecruzamiento con POCl_3

El oxiclорuro de fósforo (POCl_3) es un agente entrecruzante eficiente en dispersiones a un $\text{pH} > 11$ en presencia de una sal neutra. Cuando este reactivo se añade a la dispersión de almidón, la cual se encuentra en condiciones alcalinas (pH entre 8 y 12), el grupo fosfato hidrofílico reacciona inmediatamente con los OH^- del almidón formando di-almidón fosfato. El oxiclорuro de fósforo debe ser adicionado a la dispersión de almidón tan rápido como sea posible para generar di-cloruro fósforo (Figura 8), el cual reacciona con el gránulo para efectuar el entrecruzamiento (Liu, 2005). Debido a que la reacción del almidón con POCl_3 se lleva a cabo rápidamente puede darse en la superficie o cerca de los canales del gránulo, como en el caso del almidón de maíz, este hecho permite la posibilidad de que en el granulo de maíz se formen tres tipos de enlaces de entrecruzamiento: Proteína-proteína, proteína-almidón o almidón-almidón (Han and BeMiller, 2008).

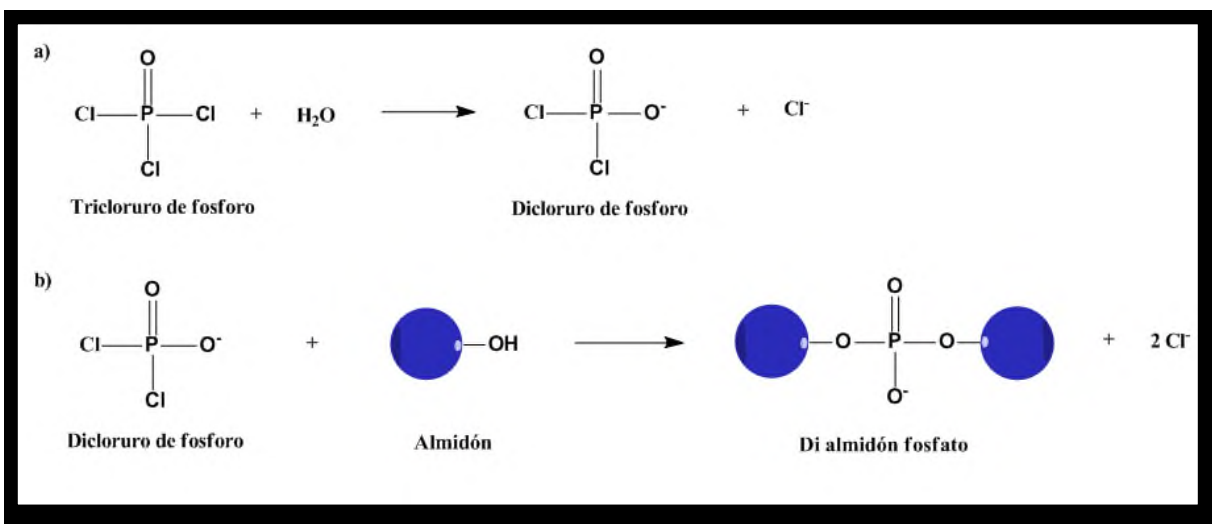


Figura 8. Reacciones de entrecruzamiento del almidón con el oxiclорuro de fosforo (POCl_3) (Liu, 2005).

- Transformación del tricloruro de fósforo a di-cloruro de fósforo
- Transformación del di-cloruro de fósforo a di-almidón fosfato

2.3.2.1.2 Entrecruzamiento del almidón con trimetafosfato de sodio (STPM).

El trimetafosfato de sodio (STPM) es un agente entrecruzante que reacciona lentamente con el almidón para formar di-almidón fosfato. Sin embargo, se puede acelerar esta reacción incrementando el pH y la concentración del STPM.

Se ha reportado que el fenómeno de retrogradación se ve suprimido cuando existe entrecruzamiento en el almidón empleando una mezcla de trimetafosfato de sodio y tripolifosfato de sodio, la baja entalpía de retrogradación que se obtiene puede ser debida a la restricción de la movilidad de la amilopectina ocasionada por los enlaces entrecruzados debido a la presencia del grupo fosfato introducido (Singh *et al.*, 2007).

El STPM tiene una estructura de anillo por lo cual necesita una reacción bimolecular que da como resultado la formación de almidón trifosfato (Hirsch and Kokini, 2002). Sang *et al.*, (2007) propusieron la siguiente ruta de la reacción del almidón con STPM en una solución acuosa de hidróxido de sodio a un pH de 9.5–12.5. En el primer paso, se abre el anillo del STPM por efecto del ataque del OH^- del almidón para formar el compuesto intermediario tripolifosfato mono almidón (Figura 9).

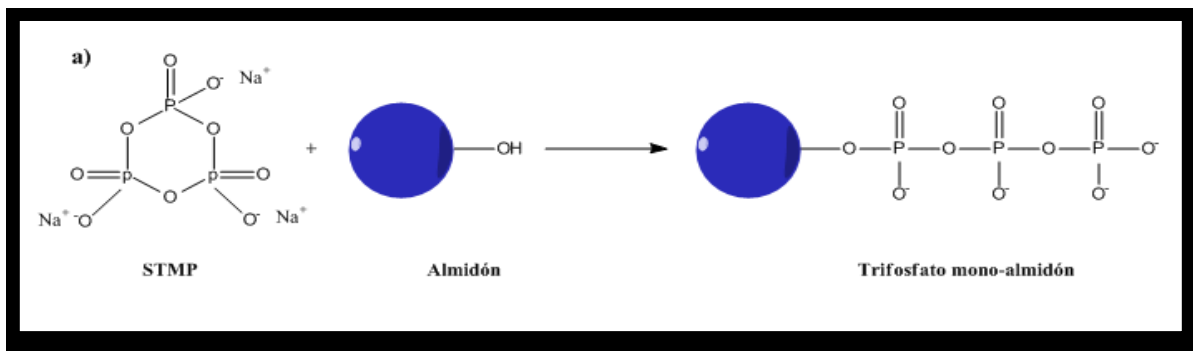


Figura 9. Reacción del STPM con el almidón (Sang *et al.*, 2007)

En el segundo paso cuando el ion alcoholato o el ion hidróxido atacan al fósforo α del trifosfato mono-almidón, forman di almidón mono fosfato (DAMF) y mono almidón mono fosfato (MAMF) respectivamente (Figura 10).

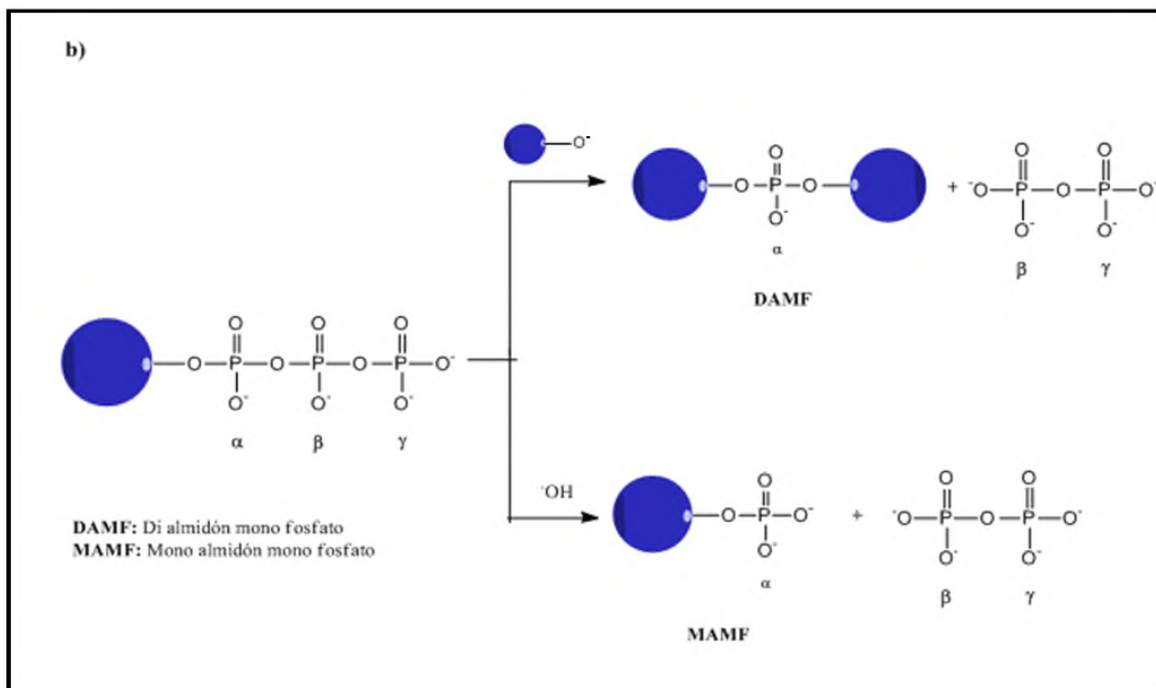


Figura 10. Formación del DAMF y del MAMF (Sang *et al.*, 2007)

2.3.2.1.3 Entrecruzamiento del almidón con epíclorhidrina (EPI)

La epíclorhidrina es un oxirano derivado del 3-cloro-1-propeno y comúnmente se le conoce como epíclorhidrina (1-cloro-2,3-epoxipropeno). Tiene una facilidad para reaccionar con nucleófilos, incluyendo a los nucleófilos biológico.

Cuando el anillo de oxirano se abre por el ataque de un nucleófilo, el ion alcóxido que se forma desplaza al ion cloruro intermolecularmente dando un nuevo oxirano, este anillo a su vez se abre con otra reacción de sustitución nucleofílica (Ege, 2003).

El mecanismo de reacción de este agente entrecruzante con el almidón ocurre en una serie de pasos, una reacción multifuncional en la cual una o dos moléculas de epíclorhidrina pueden ser consumidas para formar un solo enlace entrecruzado. De la reacción de epíclorhidrina con almidón se obtiene almidón-glicerol (Figura 11). Teóricamente se considera que en un intervalo de entre 50 hasta 2360 unidades de glucosa, existe un enlace entrecruzado.

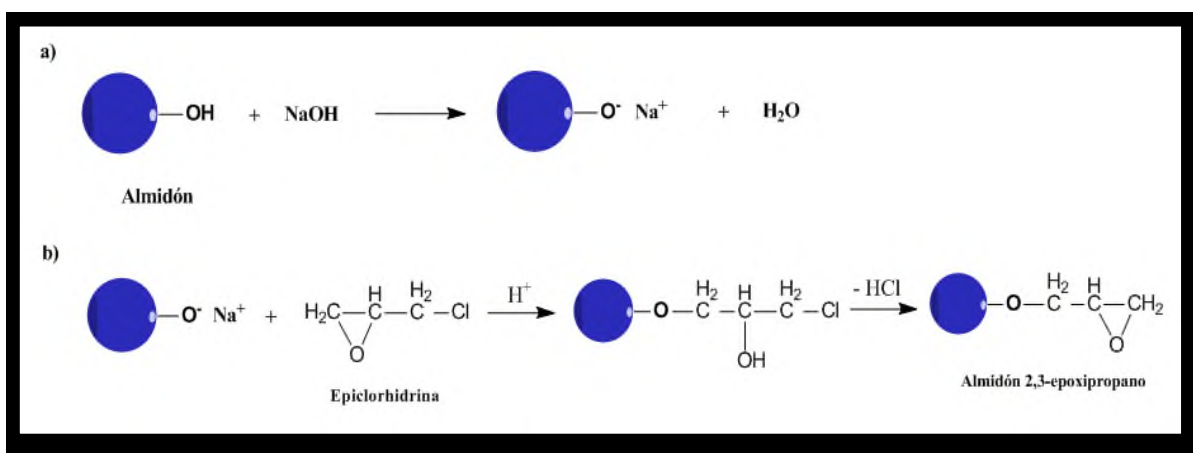


Figura 11. Reacción de Entrecruzamiento del almidón con Epíclorhidrina.
(Jyothi *et al.*, 2006)

En reacciones bajo condiciones heterogéneas, en las cuales puede existir una alta relación almidón-epíclorhidrina, el principal producto formado es el di almidón glicerol (Figura 12).

Sin embargo, bajo condiciones homogéneas, el compuesto intermediario que se forma por la unión del sodio con el almidón puede sufrir una reacción de sustitución abriendo el anillo del epóxido por efecto del -OH para formar el mono almidón glicerol (Figura 12).

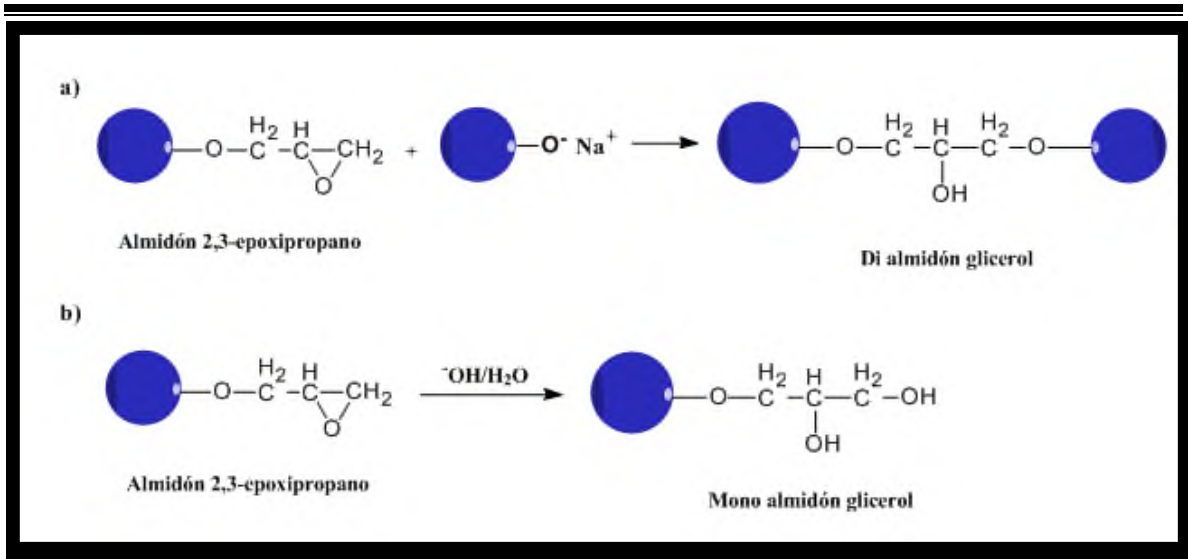


Figura 12. Formación del Di almidón glicerol y Mono almidón glicerol. (Jyothi *et al.*, 2006)

La reacción de almidón con epíclorhidrina en un medio alcalino heterogéneo ocurre por la formación del anión almidón-O⁻. Por lo que la clave en esta reacción es la formación del anión en el granulo de almidón en suspensión (Jyothi *et al.*, 2006).

2.4.3 Adición de grupos funcionales: Carboximetilación del almidón

La carboximetilación produce un almidón modificado con grupos funcionales cargados negativamente (CH₂COO⁻). El carboximetil almidón (CMS) es producido por eterificación del almidón con mono cloroacetato de sodio (ClCH₂COONa) en presencia del álcali.

El primer paso de la carboximetilación es una alcalinización, donde grupos hidroxilos de las moléculas de almidón (OH) son activadas y transformadas a formas alcóxidas más reactivas (almidón-O⁻) y la eterificación toma lugar en el segundo paso, para finalmente obtener un carboximetil almidón (Figura 13).

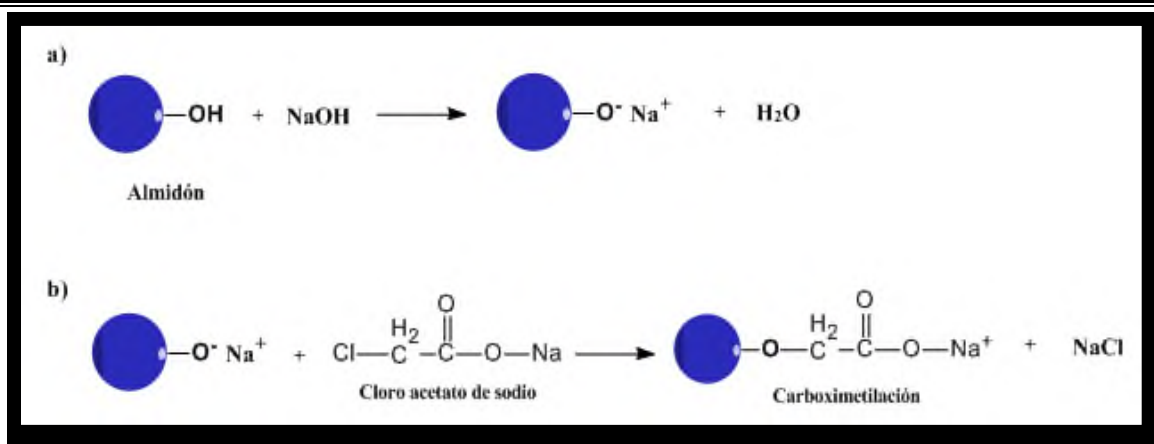


Figura 13. Reacción de carboximetilación del almidón. (Qiu and He, 1999)
(a) Alcalización, (b) Eterificación.

También pueden obtenerse almidones carboximetilados utilizando derivados de almidón (almidón entrecruzado), obteniéndose un material denominado almidón entrecruzado-carboximetilado (Figura 14), que se ha utilizado para remover metales pesados presentes en algunos efluentes (Kim and Lim, 1999)

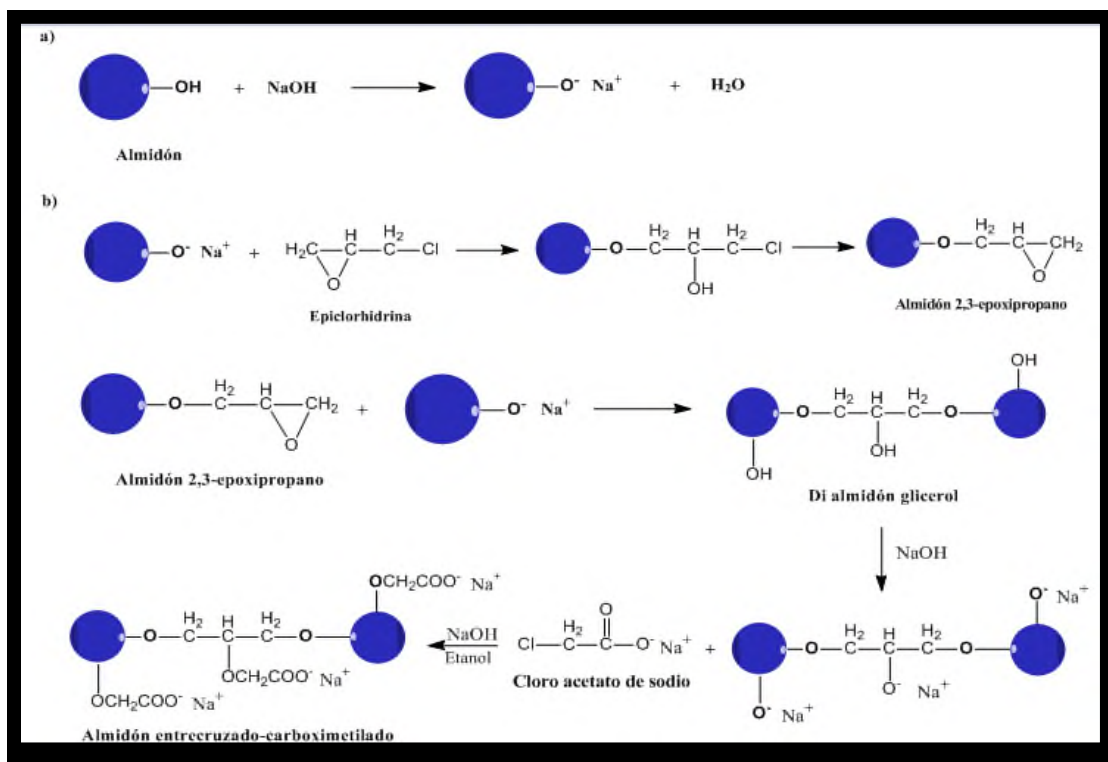


Figura 14. Reacciones de entrecruzamiento y carboximetilación del Almidón.
(Dumitrio, 2004; Heinze *et al.*, 1999)

III. ANTECEDENTES

3.1 Estudios realizados sobre almidón de plátano químicamente modificado.

Se han realizado varias investigaciones diversas sobre las modificaciones químicas de almidón de plátano, con el fin mejorar su funcionalidad mediante la introducción de sustituyentes y mediante ello mejorar o desarrollar nuevos productos (Wing *et al.*, 1975; Guerra-DellaValle *et al.*, 2009).). A continuación, se enlistan algunos estudios sobre la modificación química del almidón de plátano.

Guerra-DellaValle *et al.*, (2009), modificaron el almidón de plátano (*Musa paradisiaca* L.) mediante la acetilación a diferentes tipos de reacción con el objetivo de evaluar el efecto del grado de sustitución en algunas características morfológicas. Como resultado, mientras mayor fue el tiempo de reacción, mayor fue el grado de sustitución (GS). En FTIR, se presentó la señal a 1226 cm^{-1} , la cual corresponde al estiramiento C-O de los grupos acetilos. La superficie de los gránulos de almidón mostró mayor daño cuando el tiempo de reacción aumento. La cristalinidad disminuyó a mayores tiempos de reacción. La temperatura de pico y la entalpía de gelatinización disminuyeron.

Carmona-García *et al.*, (2008), entrecruzaron el almidón de plátano (*Musa paradisiaca* L.), evaluando el efecto de los reactivos entrecruzantes (POCl_3 , EPI, y una mezcla de STPM/STPP) en la características morfológicas fisicoquímicas y funcionales del almidón modificado. Como resultado, el entrecruzamiento modificó la composición química del almidón. El entrecruzamiento con STMP/STPP y EPI mostró un mayor efecto sobre el gránulo del almidón de plátano y una distribución bimodal con un pequeño pico detectado hasta $140\ \mu\text{m}$. Los valores de hinchamiento y solubilidad fueron afectados por el entrecruzamiento, mostrando valores bajos de estos parámetros con STMP/STPP y EPI.

Carmona-García *et al.*, (2009), utilizaron una modificación dual: el entrecruzamiento y sustitución para modificar el almidón de plátano (*Musa paradisiaca* L.), usando dos agentes entrecruzantes (POCl_3 y una mezcla de STMP/STPP), y cloro acetato de sodio para sustituir, con el objetivo de evaluar sus características morfológicas, fisicoquímicas y su uso potencial como adsorbentes de metales pesados. Como resultado el almidón modificado presentó cambios en la superficie, con un tamaño promedio de partícula más grande que el almidón no modificado debido al hinchamiento de los gránulos y formación de agregados durante la modificación. Los almidones modificados presentaron patrones de difracción Tipo A con una disminución de la cristalinidad. La temperatura y entalpia de gelatinización también se vieron disminuidas. Mientras que la capacidad de adsorción de iones metálicos pesados en solución acuosa presentó los siguientes resultados: $\text{Cd}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Hg}^{2+}$.

Zamudio-Flores *et al.*, (2010), modificación dualmente el almidón de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) mediante una oxidación con NaOCl con tres concentraciones de cloro activo (0.5, 1.0 y 1.5 % v/v) y acetilación usando anhídrido acético, con el objetivo de evaluar sus características químicas, físicas y térmicas. Como resultado, obtuvieron una reducción en el contenido de proteínas y lípidos, cenizas y almidón total, mediante FTIR se verificó la presencia de los grupos funcionales carbonilo, carboxilo y acetilo y las variables térmicas indicaron un cambio estructural en los almidones modificados.

IV. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el almidón es extraído principalmente de cereales como el maíz, arroz o papa. Sin embargo, en México la producción de cereales no es suficiente para cubrir las demandas de consumo, por lo que es necesario importar una gran cantidad de toneladas de estos granos. Debido a esto, se han buscado otras fuentes alternativas para la extracción de este polisacárido. Una de estas fuentes no convencionales para el aislamiento de almidón es el plátano, el cual es uno de los frutos predominantes encontrados en la Región del Papaloapan, donde su cultivo se extiende por toda el área, lo que lo hace un fruto comercial nacional e internacionalmente. En estado verde o inmaduro presenta hasta un 70% de almidón en base seca.

Debido a los inconvenientes que presentan los almidones nativos durante las condiciones de procesamiento en las industrias se ha buscado mediante la modificación química generar almidones modificados que puedan ser utilizados en investigaciones medicas y farmacéuticas (transporte de moléculas, excipientes e hidrogeles), en la industria alimentaria (aditivos, espesantes y retenedores de aromas) y en otros campos, como son el tratamiento de aguas residuales (adsorbentes para decolorar, quelación de contaminantes o extracción de metales).

V. HIPÓTESIS

La modificación química dual entrecruzamiento-carboximetilación del almidón de plátano modificará las propiedades térmicas, morfológicas y estructurales, permitiendo obtener un material con grupos funcionales carboxilatos, el cual puede ser utilizado como agente quelante en la formación de complejos de coordinación con metales pesados.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Modificar mediante un mecanismo químico dual (entrecruzamiento-carboximetilación) al almidón de plátano (*Musa paradisiaca* L.) y evaluar el efecto sobre las propiedades fisicoquímicas, morfológicas y estructurales del material obtenido.

6.2 Objetivos específicos

- Modificar químicamente y de forma dual el almidón de plátano mediante entrecruzamiento y carboximetilación.
- Determinar el grado de sustitución de los grupos carboximetilos del almidón modificado
- Caracterizar al almidón entrecruzado-carboximetilado química, morfológica, térmica y estructuralmente.

VII. METODOLOGÍA

7.1 Aislamiento del almidón de plátano

El almidón nativo fue aislado a nivel planta piloto por el método propuesto por Flores-Gorosquera *et al.* 2004, con algunas modificaciones. Los plátanos se pelaron y cortaron en trozos de 5 a 6 cm³ (100 kg de peso total), inmediatamente después fueron sumergidos en una solución de ácido cítrico (3 g/L). Posteriormente, se molieron en una licuadora tipo industrial, a velocidad baja (600 g de fruto por litro de solución) durante 2 min. El homogenizado se tamizó consecutivamente en mallas de 40, 100 y 200 U.S. hasta que el agua del lavado fue clara. Posteriormente se dejó sedimentar durante 24 hr. Los sedimentos de las mallas 100 y 200 U.S. se maceraron y tamizaron y dejaron sedimentar por segunda ocasión. Posteriormente el almidón fue secado por convección durante 24 hr a 60 °C, después de este proceso fue molido y tamizado en la malla 100 US y almacenado para su caracterización.

7.2 Modificación química del almidón

7.2.1 Entrecruzamiento del almidón con epíclorhidrina

La primera etapa correspondiente a la modificación química con epíclorhidrina se llevó a cabo de la siguiente manera: en un matraz de balón con tres cuellos (1000 mL) se colocaron 60 g de almidón de plátano nativo (base seca), enseguida se agregaron 100 mL de una solución de hidróxido de sodio/etanol (12 g de NaOH en 100 mL de etanol al 85% (v/v)) y 24 µL de epíclorhidrina. Las condiciones alcalinas se mantuvieron durante toda la reacción. La dispersión se agitó constantemente a 35 °C durante 70 min, empleando un agitador mecánico (Wang *et al.*, 2011).

7.2.2 Carboximetilación del almidón entrecruzado con cloroacetato de sodio

La segunda etapa correspondiente a la modificación química con cloroacetato de sodio se llevó a cabo después de terminar los 70 min de reacción. En la misma dispersión se adicionaron 100 mL más de solución de hidróxido de sodio/etanol (preparación descrita en la primera etapa), enseguida de 24 g de cloroacetato de sodio y posteriormente a esta mezcla se añadieron 60 mL de Etanol al 85% (v/v). Las condiciones alcalinas se mantuvieron durante toda la reacción. La dispersión se agitó a 40 °C durante 3 horas, empleando un agitador mecánico. Al finalizar el tiempo de reacción, la mezcla resultante se paso a través de un filtro Büchner, usando papel filtro Whatman No. 41. Se realizaron tres lavados con 100 mL de etanol al 90% y el sólido filtrado (almidón) se dejó secar a 60 °C durante 24 h (Wang *et al.*, 2011).

7.3 Grado de sustitución (GS) del almidón entrecruzado-carboximetilado

7.3.1 Grupos carboximetilos

Se pesaron 3 g de almidón entrecruzado-carboximetilado en base seca y se le adicionaron 20 mL de agua desionizada, ajustando el pH a 2.0 con HCl 1N, agitándose por 10 min para convertir grupos carboxílicos ionizados a su forma de ácidos libres. El almidón fue filtrado con ayuda de un papel Whatman No. 41, al cual se le hicieron lavados con agua desionizada (40 mL). Posteriormente el almidón fue dispersado en 40 mL de agua y gelatinizado en un baño con agua a ebullición por 30 min.

Los grupos carboximetilos fueron titulados con una solución de NaOH 0.1 N estandarizado, utilizando fenolftaleína como indicador. El almidón entrecruzado previo a su carboximetilación fue utilizado como blanco o control (AACC, 2000).

El grado de sustitución (GS) fue calculado mediante la ecuación [1]:

$$DS = \frac{0.162(A \times N)/W}{1 - [0.015 (A \times N)/W]} \quad [1]$$

Donde:

A = mL de NaOH gastados.

N = Normalidad del NaOH.

W= Peso de la muestra.

7.4 Composición química de los almidones de plátano nativo y modificado

La composición química del almidón nativo y modificado se determinó por los siguientes métodos:

7.4.1 Humedad:

Por medio del método oficial 44-16, de la AACC (2000). Se pesaron 2 g de muestra, los cuales se secaron en una estufa a 130 ± 3 °C por 1 h. La humedad se determinó por diferencia de peso.

7.4.2 Cenizas

Por el método oficial 08-01 AACC (2000). Fue determinado calculando la pérdida en peso de 3 g de muestra después de su incineración a 600 °C durante 3 h en mufla.

7.4.3 Lípidos

Por el método oficial 30-25 AACC (2000). Para la extracción de los lípidos se utilizó éter de petróleo como disolvente, utilizando un sistema de extracción soxhlet a 3 g de muestra.

7.4.4 Proteínas

Por el método oficial 46-13 AACC (2000). Se determinó indirectamente por la cuantificación del nitrógeno total utilizando el método Kjeldahl, con un factor de conversión de 5.85.

7.4.5 Almidón total

El contenido de almidón total fue evaluado por el método de Goñi *et al.*, 1997, el cual se fundamenta en cuantificar la glucosa liberada como resultado de la hidrólisis enzimática con amiloglucosidasa, que hidroliza los enlaces $\alpha(1-4)$ y $\alpha(1-6)$ de las cadenas de amilosa y amilopectina. Para ello se pesaron 50 mg de muestra, la cual fue dispersada con 3 mL de agua destilada, 3 mL de KOH 4M aplicando agitación durante 30 min. Posteriormente, se añadieron 5.5 mL de HCl 2M y 3 mL de tampón de acetato sódico 0.4 M. Se ajustó a pH 4.75 y se añadieron 60 μ L de amiloglucosidasa, se incubó en un baño de agua a 60 °C durante 45 min con agitación constante. Se centrifugó a 3000 rpm por 15 min y se recolectó el sobrenadante en un matraz aforado de 50 mL. Se agregaron al residuo 10 mL de agua destilada con el fin de lavarlo, se centrifugó y se recolectó el sobrenadante nuevamente. Finalmente, se tomaron 50 μ L del aforado para determinar la cantidad de la glucosa liberada por digestión enzimática, mediante el método de glucosa/oxidasa peroxidasa. Se leyeron las densidades ópticas a 510 nm en un espectrofotómetro spectronic Genesys 5 (Spectronic Instruments, Inc. Rochester, NY. USA).

7.5 Estudios moleculares del almidón de plátano nativo y modificado

7.5.1 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia infrarroja es una técnica empleada principalmente en la elucidación de grupos funcionales presentes en las estructuras moleculares. Esta técnica se basa en las diferentes absorciones de radiación infrarroja que presentan los distintos grupos funcionales que puede presentar una molécula, con el espectro de infrarrojo se puede identificar el grupo funcional de un compuesto y por medio de una comparación con espectros de referencia o una bases de datos se puede elucidar su estructura (alcohol, amina, ácido, etc.), y con un análisis detallado de éste y su comparación con otros espectros catalogados, se puede en muchos casos elucidar completamente la estructura de la molécula. Esta técnica fue utilizada para verificar la modificación química del almidón.

Los estudios de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) se realizaron utilizando un espectrómetro de infrarrojo con transformada de Fourier e interferómetro DYNASCAN, Perkin Elmer, modelo *Spectrum 100* serie 82085. Los espectros fueron obtenidos en una resolución de 16 scans, en el rango de 4000-515 cm^{-1} .

7.5.2 Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (^{13}C -RMN)

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (^{13}C -RMN) es una técnica empleada principalmente en la elucidación de estructuras moleculares. En esta técnica los núcleos atómicos son sometidos a un campo magnético externo, y estos núcleos absorben radiación electromagnética en la región de las frecuencias de radio o radiofrecuencias

La técnica de ^{13}C -RMN se utilizó para corroborar la modificación química realizada en la molécula de almidón. El análisis de resonancia magnética nuclear fue realizado en un equipo de RMN, modelo MR-400 MHz, serie 0191666413. Para realizar el análisis se pesaron 150 mg de muestra previamente tratada, con un pH 7 y se disolvieron en 1 mL de DMSO_{de} .

7.5.3 Difracción de rayos X (DRX)

El fenómeno de difracción ocurre cuando un haz de rayos X interacciona con un cuerpo cristalino, con estructuras atómicas repetidas, en las que la distancia de los espacios interatómicos son aproximadamente iguales a los de la longitud de onda del rayo incidente. Siendo los almidones cuerpos semicristalinos, tienen la capacidad de difractar los rayos X, permitiendo así obtener información de su estructura.

Las muestras fueron almacenadas a temperatura ambiente y posteriormente fueron analizadas. Una cantidad de almidón fue colocado sobre el portamuestra del Difractómetro de Rayos X, modelo *D8 ADVANCE*, serie H-X-L4-102, con un generador de radiación de

Cu-K α con filtro de Ni y rejilla de 2 mm, se corrieron en 2θ de 5 a 40° con una velocidad de barrido de 60 °/s y con una intensidad de 30 mA y un voltaje de 40 kV. El porcentaje de cristalinidad (%C) fue determinado del difractograma, calculando el área correspondiente de los picos cristalinos (Ap) entre el área total bajo la curva (halo amorfo y cristalino) (At) menos el ruido del instrumento (N) de acuerdo a la ecuación [2]:

$$\% C = \frac{A_p}{A_t - N} \quad [2]$$

Donde:

Ap = Área correspondiente de los picos cristalinos

At = Área total bajo la curva (halo amorfo y cristalino)

N = Ruido del instrumento

7.6 Estudios morfológicos del almidón de plátano nativo y modificado

7.6.1 Determinación de la distribución de tamaño de partícula (DTP)

Para determinar la granulometría de las almidones obtenidos se utilizaron los procedimientos y sugerencias descritas por Bedolla and Rooney, (1984), seleccionándose los tamices según la clasificación propuesta por la American Society of Testing Methods (ASTM E11-61) tomando en cuenta las características que posee el polvo (tamaños de partículas menores de 0.425 mm).

El tamaño de partícula se determinó a temperatura ambiente, se pesaron 50 g de muestra y se transfirieron a un juego de tamices, previamente tarados, con abertura de mallas: 420, 250, 177, 149 y 105 μm y el colector. Este juego de tamices se colocó en un equipo tamizador Retsch AS200, durante 15 minutos. Concluido este tiempo, los tamices se pesaron y se calculó el porcentaje, por diferencia de masa con la cantidad de muestra retenida en cada tamiz.

Se realizaron 3 replicas y se determinó el valor del porcentaje retenido en cada malla mediante la ecuación [3]:

$$\%R_{mn} = \frac{100 \cdot P_n}{P_i} \quad [3]$$

Donde:

% R_{mn} = Porcentaje retenido en la malla n.

P_n = Peso del producto retenido en la malla n

n = Número de malla

P_i = Peso de la muestra inicial.

7.6.2 Microscopía Óptica

La microscopia óptica es una herramienta muy utilizada en la determinación del tamaño y la forma del gránulo de almidón. Este análisis se determinó por el método de Mac Masters (1964), mediante observación microscópica directa, utilizando un microscopio compuesto con contraste de fases y campo claro Leica DM3000, con objetivos de 200x y 300x. Las muestras de almidón nativo (AN) y almidón modificado (AMEC) se prepararon en suspensiones con agua destilada al 5 y 10 % respectivamente, se colocó una gota de esta suspensión en un portaobjetos. Los gránulos de almidón se seleccionaron al azar y fueron observados.

7.7 Estudios térmicos del almidón de plátano nativo y modificado

7.7.1 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Es una técnica de análisis térmico que permite medir el comportamiento energético de un material frente al cambio de temperatura comparado con uno de referencia.

La temperatura y entalpía de gelatinización de los almidones se estudiaron usando un equipo de calorimetría diferencial de barrido DSC 2010 (Differential Scanning Calorimeter TA Instruments), previamente calibrado con Indio. Estos estudios fueron realizados en el Centro de Desarrollos de Productos Bióticos, (CEPROBI, del IPN).

Para realizar el estudio se pesaron 2.2 mg de muestra en base seca en una charola de aluminio y se les agregó agua destilada. Las charolas fueron selladas herméticamente y se dejaron equilibrar durante 1 h, antes de realizar el análisis. Se utilizó una charola de aluminio vacía, como referencia. Las muestras fueron sometidas a un programa de calentamiento sobre un intervalo de temperaturas de 0 a 120 °C y una velocidad de calentamiento de 10 °C/min.

7.7.2 Análisis térmico gravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico es una técnica que mide la variación de masa en un compuesto en función de la temperatura. Las variaciones de temperatura no siempre implican un cambio en la masa de la muestra, como por ejemplo la fusión. Sin embargo existen cambios térmicos que sí se acompañan de un cambio de masa, como la descomposición, la sublimación, la reducción, la desorción, la absorción y la vaporización. Estos cambios pueden ser medidos con el analizador termogravimétrico.

Los análisis termogravimétricos del almidón nativo y modificado se realizaron con un equipo Perkin Elmer STA 6000, el cual provee medidas continuas del peso de la muestra a un intervalo de temperatura. Se pesaron aproximadamente 12 mg de muestra, los cuales se calentaron de 30 °C hasta 800 °C, a una velocidad de calentamiento de 20 °C/min con nitrógeno circulante.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Caracterización química del almidón modificado

8.1.1 Grado de sustitución (GS)

El grado de sustitución de grupos carboxilos en el almidón entrecruzado-carboximetilado con epiclorhidrina y cloroacetato de sodio fue de 0.168. Se destaca que el valor es más alto para este tipo de modificación del almidón de plátano, comparado con lo reportado por Carmona-García *et al.*, (2009), quienes reportaron valores de 0.059 % y 0.085 % de GS en almidón de plátano modificado dualmente (entrecruzado: POCl_3 y STMP/STPP y carboximetilado: $\text{ClCH}_2\text{COONa}$ respectivamente). Sin embargo, recientemente Wang *et al.*, (2011) obtuvieron valores de GS que van del 0.43 al 0.59 %, al modificar dualmente el almidón de maíz, entrecruzado con EPI y carboximetilado con ClCH_2COOH . Este último a diferentes concentraciones. Se ha reportaron que el GS de los grupos funcionales del almidón se encuentra estrechamente relacionado con la concentración del agente modificante (ClCH_2COOH) utilizado para llevar a cabo la modificación (Wang *et al.*, 2011). Por otro lado, también la viscosidad de la fuente botánica del almidón en suspensión puede limitar la concentración del agente utilizado para llevar a cabo la modificación química del almidón.

8.1.2 Análisis Químico

Los resultados del análisis químico son mostrados en la tabla 2. El almidón nativo (AN) presentó un contenido de humedad de 8.42%, mientras que el almidón modificado (AMEC) presentó un contenido de humedad mayor que el almidón nativo con un valor de 17.69%, este aumento en el contenido de humedad se debe a dos factores:

Tabla 2. Composición química (%) del almidón nativo y modificado químicamente^a

Almidón	Humedad	Cenizas^b	Proteínas^{bc}	Lípidos^b	Almidón Total^b
AN	8.42 ± 0.14	0.09 ± 0.00	0.90 ± 0.25	2.62 ± 0.28	93.07 ± 0.20
AMEC	17.69 ± 0.60	43.82 ± 2.32	0.78 ± 0.23	1.42 ± 0.35	91.96 ± 0.18

^a Media de tres repeticiones ± error estándar

^b Base seca

^c Nx5.85

AN = Almidón Nativo

AMEC = Almidón modificado entrecruzado-carboximetilado

El primero es la formación de los grupos carboximetilos (CH₂COONa) en la cadena del polímero, la cual genera una mayor desorganización en la estructura del almidón y facilita el acceso de agua en el biopolímero modificado y el segundo se debe a la presencia de sales de cloruro de sodio formadas en el AMEC por efecto de la reacción de modificación, las cuales encapsulan el agua en su interior. Estos resultados concuerdan con Adebowale *et al* (2005), quienes reportaron un aumento en el contenido de humedad del almidón Yaca (*Artocarpus Altilis*), cuando fue modificado por oxidación (pasando del 13.05% al 17.85%) o por acetilación (hasta el 18.40%). El contenido de cenizas para AN fue del 0.09%, mientras que el AMEC presentó un contenido de cenizas mucho mayor que el almidón nativo con un valor de 43.82%. Este incremento se debe principalmente a la formación de complejos formados entre el almidón y las sales (NaCl) que se forman durante la carboximetilación y la formación del di almidones gliceroles durante el entrecruzamiento. El contenido de proteínas en el almidón modificado fue de 0.78%, el cual es menor comparado con su contraparte (el almidón nativo) quien presentó 0.90% de proteínas. Esto se debe a la solubilización de las proteínas durante la modificación química debido a que esta rompe los enlaces entre las proteínas y el almidón, por lo tanto, las moléculas proteínicas pueden estar libres y como consecuencia solubilizar en el medio de reacción. Un comportamiento similar se observó en la determinación de lípidos, ya que el almidón modificado presentó un contenido de lípidos de 1.42%, menor que su contraparte que

mostró un valor de 2.62%. Los resultados muestran que aún cuando las características polares de los compuestos naturales como las proteínas y los lípidos pueden generar interacciones con las cadenas poliméricas del almidón, la modificación química predomina en la interacción y el uso de los grupos hidroxilos del almidón. El tipo de reactivos utilizados para modificar el almidón juega un papel importante en la composición química del producto resultante. Además la polaridad del solvente puede estar implicada en este comportamiento. Estos resultados son importantes para determinar la funcionalidad de los almidones y sugerir aplicaciones específicas. Con respecto al contenido de almidón total (AT) se observaron los siguientes resultados; la pureza presentada en el AN y AMEC fue muy similar (93.07 % y 91.96 % respectivamente). No obstante, debe considerarse que la pureza registrada en el AMEC es una combinación del almidón con las sales formadas durante la etapa de carboximetilación.

8.2 Estudio molecular del almidón modificado

Los materiales modificados fueron caracterizados por FTIR. Los espectros de absorción del almidón nativo (AN) y el almidón modificado (AMEC) se presentan en la Figura 15. El espectro de AN presentó una banda muy ancha entre $3600-3000\text{ cm}^{-1}$ que corresponde a las vibraciones de estiramiento de los grupos hidroxilos (OH^-), y contribuyen en las interacciones inter e intra molecular de los OH^- , característica particular de la estructura de los almidones (Fang *et al.*, 2002). La banda que aparece en 2929 cm^{-1} corresponde a la vibración de alargamiento del hidrógeno con respecto al enlace carbono (C-H) asociados con el anillo de glucopiranososa (Mano *et al.*, 2003). El agua absorbida por el almidón se muestra en el espectro con una banda media característica de esta a 1640 cm^{-1} (Kacurakova *et al.*, 1998; Kacurakova and Wilson, 2001). Otras bandas fueron entre $1400-1300\text{ cm}^{-1}$ que corresponden a los enlaces C-H.

En la región conocida como la huella dactilar se observan picos característicos del almidón en $1149, 1076, 1018$ y 929 cm^{-1} , correspondientes a las vibraciones de las uniones -C-O-C- de la glucopiranososa y picos en $931, 862, 769, 710, 608$ y 578 cm^{-1} atribuidos al anillo piranososa (Goheen and Wool, 1991). Con respecto al pico en 1018 cm^{-1} se aprecia una banda fuerte asociada al estiramiento del enlace C-OH (Marcazzan *et al.*, 1999).

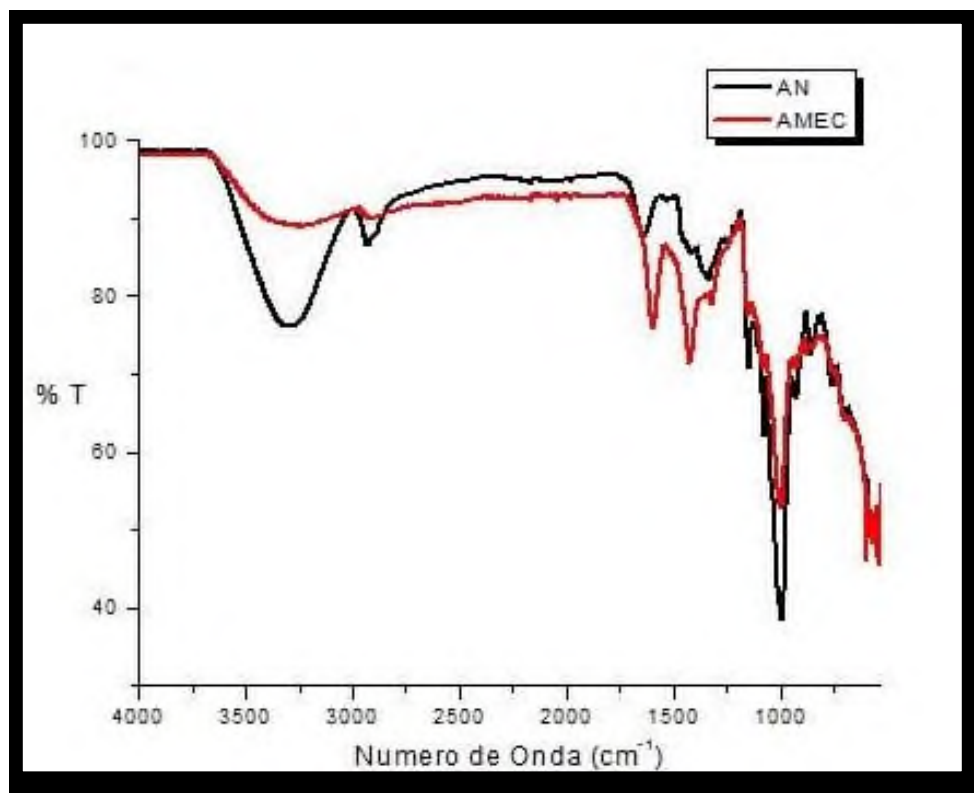


Figura 15. Espectros obtenidos por FTIR del almidón nativo (AN) y el almidón modificado (AMEC).

Por otro lado, el espectro del AMEC (Figura 15) mostró dos picos en 1600 cm^{-1} y 1426 cm^{-1} , los cuales prueban la formación de grupos carboximetilos, debido a que estas bandas son características para este tipo de grupos funcionales. Haciendo una comparación de los espectros, se observó también una disminución de las bandas en $3600\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ y 1650 cm^{-1} que corresponden a vibraciones generadas por el estiramiento y flexión de los grupos OH, esta disminución es indicativa de la formación de los grupos carboximetilos que sustituyen a los grupos OH del almidón (Guerra-Della Valle *et al.*, 2009). El mismo comportamiento se observó (disminución de la intensidad del pico) en la señal de 1018 cm^{-1} asociada con el estiramiento del enlace C-O-C en el anillo glucopiranososa y estiramiento del enlace C-OH.

Con el fin de corroborar la modificación química mostrada en los espectros de FTIR, se realizaron análisis por resonancia magnética nuclear de carbono 13. Los espectros de RMN del almidón nativo (AN) y modificado (AMEC) se presentan en la Figura 16 y 17 respectivamente. A continuación se describen las señales obtenidas en ambos espectros. El espectro del AN (Figura 16) presentó seis señales importantes en 100.3 ppm para C-1, 78.97 ppm para C-4, 73.47 ppm para C-3, 72.18 ppm para C-2, 71.83 ppm para C-5 y por último 60.69 ppm para C-6, todas ellas correspondientes a la unidad glucopiranososa. De acuerdo a la literatura se reportan señales en 78.97 y en 70.27 ppm correspondiente al C-4 involucrado en el enlace $\alpha(1-4)$ y al C-4 de las unidades terminales no reductoras respectivamente (Deval *et al.*, 2004).

A diferencia de lo reportado por Deval *et al.*, (2004), y dado las condiciones de aislamiento del almidón, en los espectros no se observaron señales de baja intensidad en 30, 130 y 180 ppm, correspondientes a la presencia de impurezas.

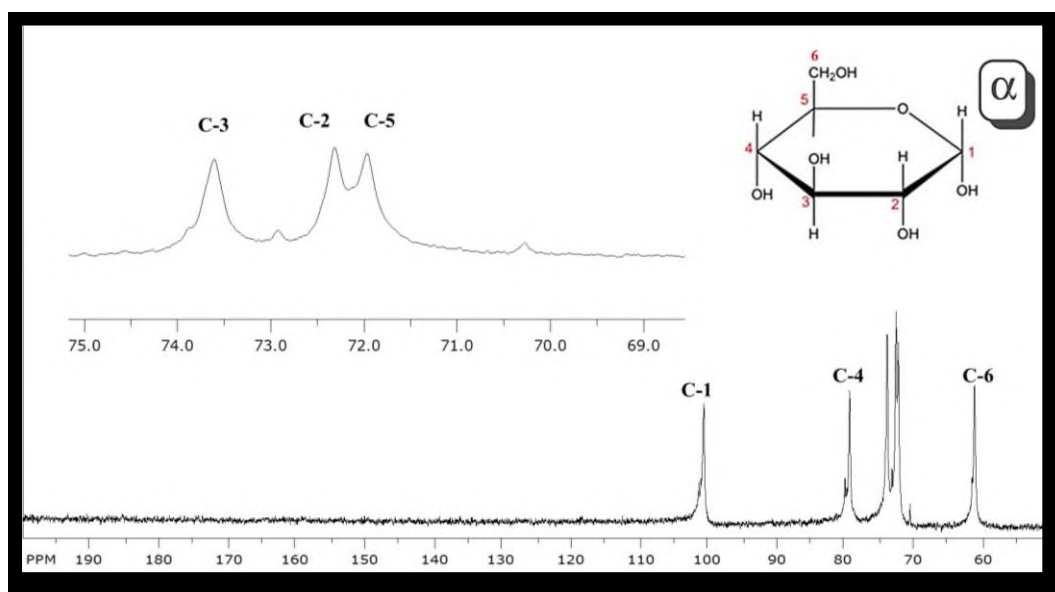


Figura 16. Espectros de ¹³C-RMN del almidón nativo (AN).

En el espectro del AMEC (Figura 17) se observaron diferencias notorias con respecto al AN, las intensidades de los picos disminuyeron, acompañadas de un ligero ensanchamiento atribuido a la disminución en la solubilidad del almidón y al cambio en la movilidad del material, ya que los entrecruzamientos mantienen las cadenas fijas en el espacio impidiendo que éstas se muevan libremente. En datos reportados por la literatura (Deval *et al.*, 2004) y comparados con el espectro del AMEC, se observaron comportamientos similares. Así mismo el espectro del AMEC mostró señales en 60.5 y 61.5 ppm las cuales corresponden al C-6 de la unidad glucopiranosica, de igual forma se observó un amplio grado de solapamiento de la señal en el intervalo de 69-85 ppm, (correspondiente a los desplazamientos químicos del C-6, C-5, C-2, C-3 y C-4) y en 100.17 ppm (correspondiente al carbono anomérico C-1), debido a la etapa de entrecruzamiento, que induce la formación de una red polimérica (Deval *et al.*, 2004), y la sustitución (formación de grupos carboximetilos) que provoca un mayor desorganización en la estructura del gránulo. Esto último se afirma con la aparición de la señal en 176.77 ppm correspondiente a los grupos carboxilos. Por lo tanto, el cambio en las intensidades, el ensanchamiento de las señales y la aparición de la señal característica de los grupos carboxilos, evidencian que las modificaciones fueron realizadas exitosamente.

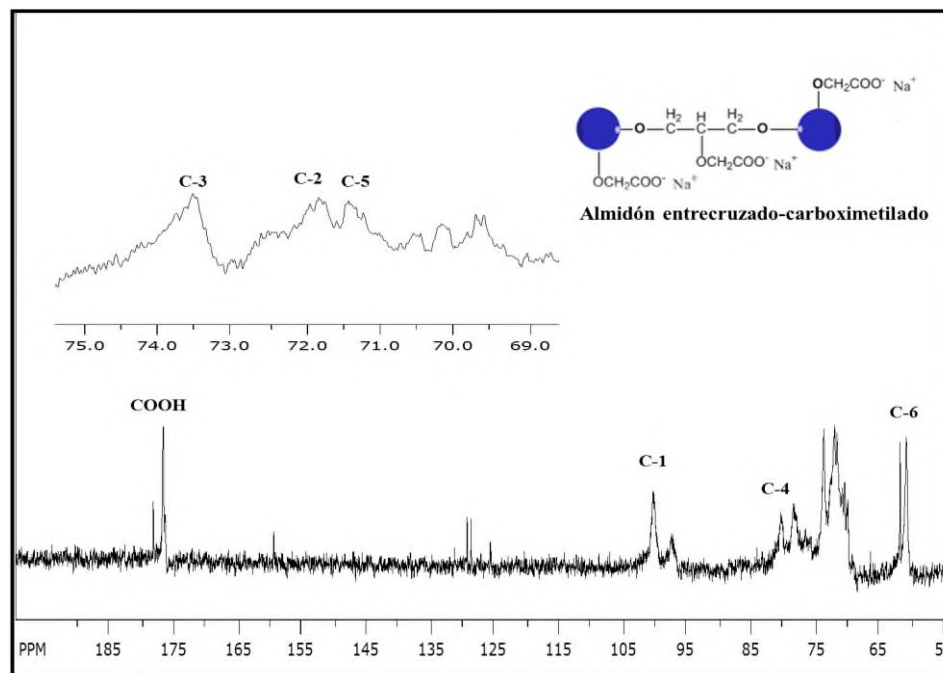


Figura 17. Espectro de ^{13}C -RMN del almidón modificado (AMEC).

8.3 Comportamiento cristalino del almidón

Se realizó el análisis de difracción de rayos X en las muestras de almidón nativo (AN) y modificado (AMEC), con el fin de determinar la cristalinidad y evaluar el efecto que tuvo la modificación química sobre la misma. Los patrones de difracción de rayos X del AN y AMEC se presentan en la Figura 18.

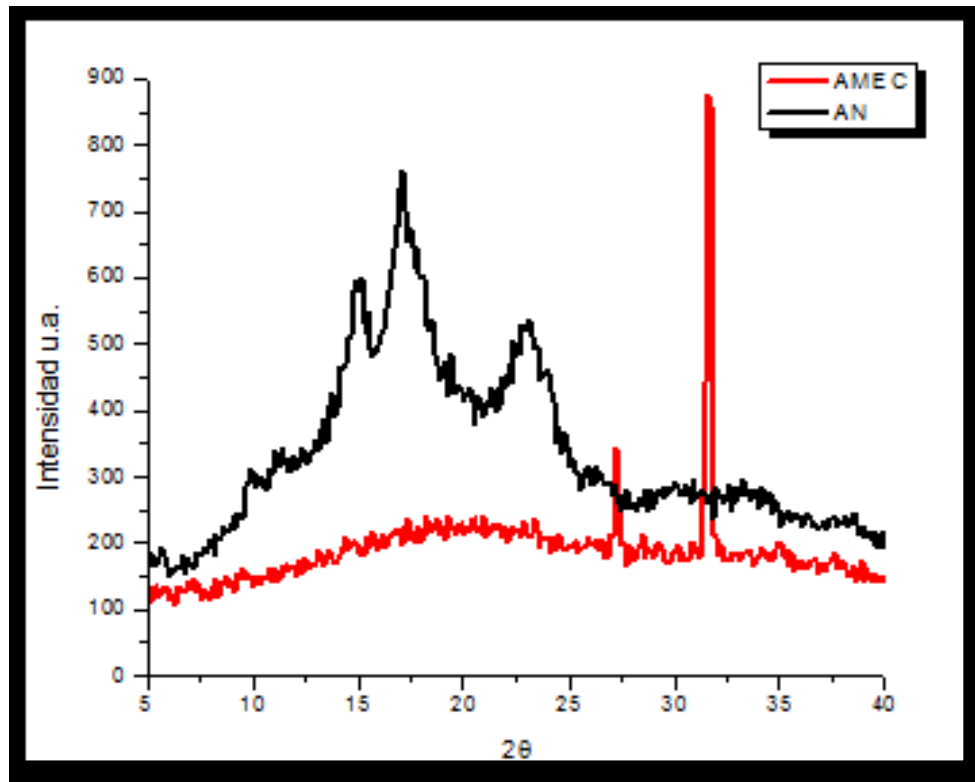


Figura 18. Patrones de difracción de rayos X del almidón nativo (AN) y el almidón modificado (AMEC).

El difractograma del AN presenta un patrón de difracción tipo “A” con picos característicos en 2θ igual a 15° , 17° y 23.2° y un porcentaje de cristalinidad del 27%. Un patrón de tipo “A” es atribuido a los almidones que contienen amilopectina con alta proporción de cadenas cortas (Bello-Pérez *et al.*, 1999). Recientemente, Espinosa-Solís *et al.*, (2011), reportó un patrón de difracción de tipo “A” para almidones de plátano de la misma variedad (*Musa paradisiaca* L.) y en estudios anteriores Bello-Pérez *et al.*, (1999), reportaron un

patrón de difracción de rayos X tipo A en almidón de plátano macho y criollo, por lo que los resultados que se obtuvieron en este estudio concuerdan con los estudios precedentes.

El difractograma del AMEC (Figura 18) presentó un porcentaje de cristalinidad del 7%, lo que representa una disminución de la cristalinidad y pérdida de los picos característicos para ese tipo de patrón (tipo A). Comparado con el almidón nativo, la pérdida de cristalinidad es debida al efecto de la modificación química (entrecruzamiento y carboximetilación), la cual provocó una desorganización parcial de los gránulos de almidón y con ello la disminución de su cristalinidad. La formación de los grupos carboximetilos sustituyentes (CH_2COO^-), interrumpen la estructura ordenada del almidón junto con el entrecruzamiento con epiclorhidrina, ya que el entrecruzamiento mantienen las cadenas fijas en el espacio impidiendo que estas se muevan libremente.

Sin embargo, el difractograma del AMEC presentó dos picos bien definidos y predominantes en 2θ igual a 27.3° y 31.6° . El primero es debido a la interacción entre las cadenas del almidón que forman uniones entre sí (Zamudio-Flores *et al.*, 2009). Mientras que el segundo pico corresponde a las sales (NaCl) formadas durante la carboximetilación.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por calorimetría diferencial de barrido (DSC) ya que el AMEC presentó un aumento en la temperatura pico (T_p) y en la entalpía de gelatinización (ΔH_g).

8.4 Estudios térmicos del almidón modificado

La temperatura de pico (T_p) del AN (75.94°C) fue más baja que la del AMEC (98.50°C). Espinoza-Solís *et al.*, (2009; 2011) reportaron una T_p para almidón aislado de plátano de 75.10°C la cual, es similar a la observada en AN de esta investigación (Tabla 3). Dado que la T_p para el AMEC fue más alta en comparación con la del AN, el resultado puede deberse

a la formación de sales, lo cual provoca la desorganización del material a una temperatura mayor. Este hecho fue confirmado con el valor de la entalpía de transición (Tabla 3), debido a que la entalpía del AN presentó valores más bajos (14.22 J/g) comparados con el AMEC (18.61 J/g).

Tabla 3. Valores de temperatura y entalpía de gelatinización, para AN y AMEC.¹

Almidón	T _o (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔH (J/g)
AN	71.47 ± 0.21 ^a	75.94 ± 0.19 ^a	89.01 ± 0.8 ^a	14.22 ± 0.29 ^a
AMEC	88.86 ± 0.23 ^b	98.50 ± 0.28 ^b	109.14 ± 0.20 ^b	18.61 ± 0.50 ^b

¹Promedio de tres repeticiones ± error estándar

Las letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas $p < 0.05$.

T_o: Temperatura inicial

T_c: Temperatura final

Estos resultados concuerdan con los reportados por Chung *et al.*, (2004), en un estudio realizado con almidón de arroz entrecruzado utilizando trimetafosfato de sodio como agente entrecruzante. Ellos observaron que la T_p del almidón nativo (68.4 °C) incremento cuando éste fue entrecruzado (73.0 °C). Por lo tanto, el incremento de la temperatura de gelatinización es causada por retardo de la descomposición de los cristales, debido a que durante la modificación química los grupos esteres y residuos de sales (cloruro de sodio) forman enlaces intra e intermoleculares que estabilizan el AMEC (Sangseethong *et al.*, 2005; Chatakanonda *et al.*, 2000).

Los resultados del análisis termogravimétrico del AN y el AMEC se muestran en el termograma de la Figura 19. El objetivo principal de este análisis fue examinar los cambios en la estabilidad térmica causada por la modificación química.

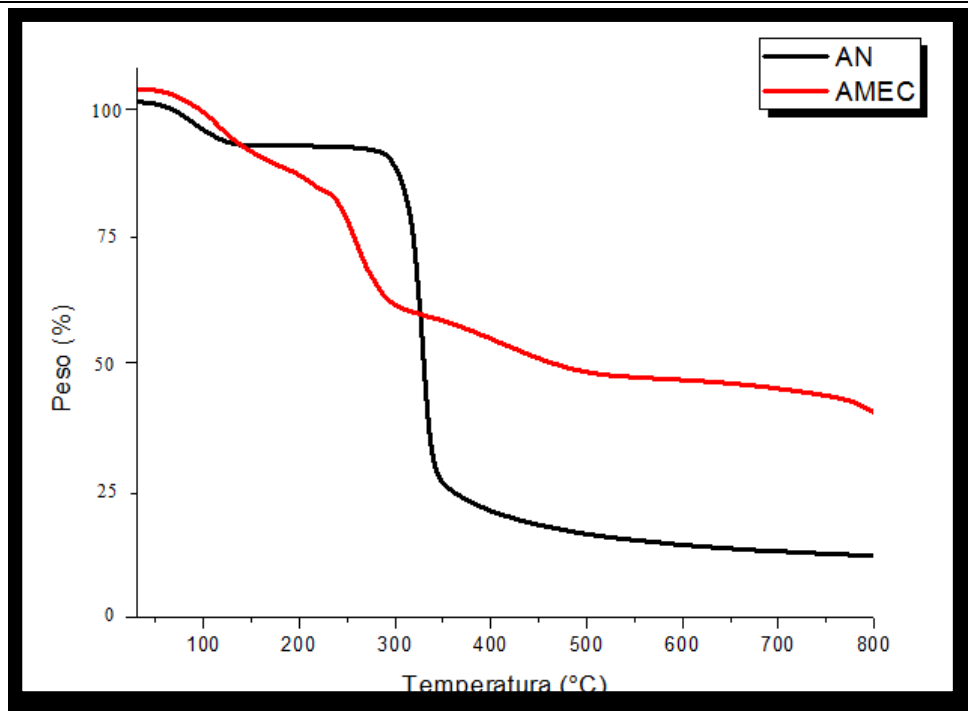


Figura 19. Curvas de pérdida de peso obtenidas por análisis termogravimétrico del almidón nativo (AN) y el almidón modificado (AMEC).

El AN presentó dos estados de pérdida de peso y el AMEC mostró tres estados. En el caso del AN, el primer estado corresponde a la pérdida de agua que se da en un intervalo entre 60-100 °C. Este comportamiento también lo presentó el AMEC, sin embargo, la pendiente se prolonga hasta 250 °C mostrando una pérdida de peso más drástica. El segundo estado de pérdida en peso del AN corresponde a la descomposición del almidón. Esta temperatura de descomposición inicial (T_{di}) se observó en 290 °C y presentó una temperatura de descomposición máxima (T_{dmax}) alrededor de los 340 °C, con una pérdida en peso de 70.27%. A partir de los 340 °C el calentamiento de la muestra resultó en la carbonización de la misma y la formación de cenizas, debido a la calcinación de la materia orgánica reportando un peso final de 11.5 %.

Por su parte, el AMEC mostró en la segunda etapa de degradación una pérdida de peso desde los 240 °C a 295 °C. Esta disminución en la T_{dmax} se debe a la formación de grupos funcionales voluminosos (carboximetilos: CH_2COONa) el cual desorganiza la estructura de

del almidón, provocando la apertura de un mayor número de espacios, por los cuales, el calor se difunde con facilidad y el almidón se degrada a menor temperatura. El tercer estado de degradación ocurre de 310 °C a 490 °C, con una pérdida en peso al final del 50 %.

En la Figura 20, se pueden observar las transiciones térmicas que presentaron el AN y AMEC obtenidas por análisis térmico diferencial (DTA) a lo largo del barrido de temperatura de 30 a 800 °C.

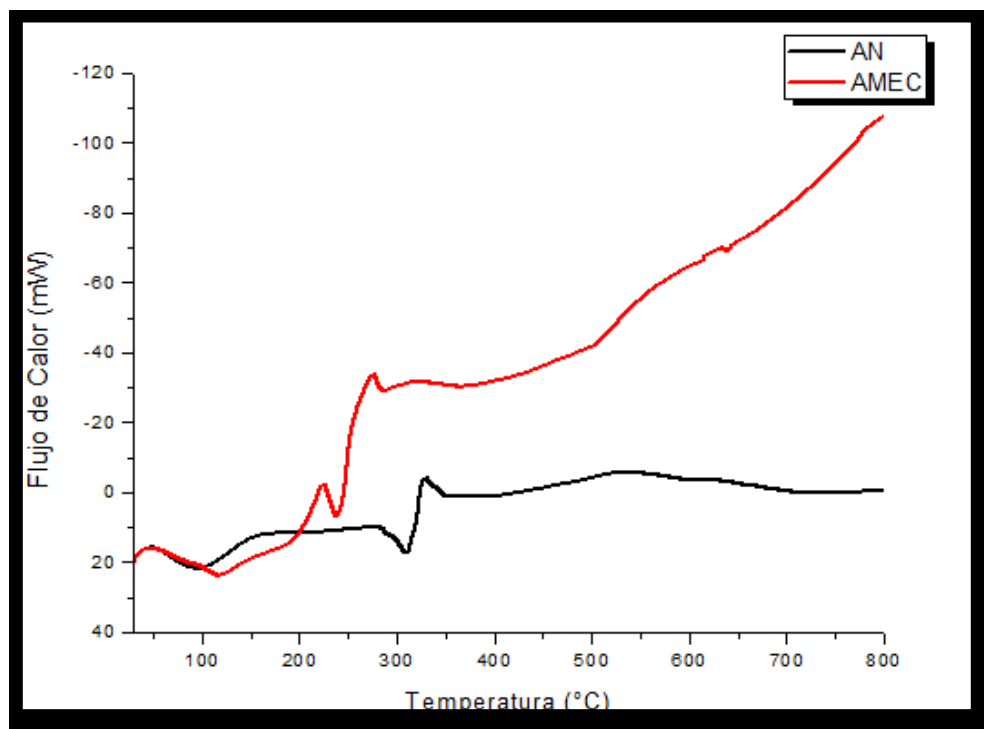


Figura 20. Transiciones térmicas por DTA de almidón nativo (AN) y almidón modificado (AMEC).

El AN presentó dos transiciones importantes. La primera corresponde a la temperatura de evaporación (T_{ev}) del agua (100 °C) contenida en el sistema y la segunda a la temperatura de degradación (T_{dg}) del almidón (309 °C). Después de los 500 °C, el comportamiento se mantuvo casi constante.

Por otro lado, el AMEC presentó también las mismas transiciones. Para el AMEC, se observa un desfase de la T_{ev} hasta 120 °C, esto se debe al efecto de la modificación, la cual puede estar encapsulando el agua disponible y por lo tanto no es tan fácil evaporar este componente. La segunda transición para el AMEC presentó dos etapas de la temperatura de degradación (T_{dg1} y T_{dg2}) con un incremento de energía necesaria para desorganizar el sistema comparado con AN. La T_{dg1} se registró a 245° y la T_{dg2} se presentó a 290 °C. Después de estas dos etapas, el flujo de calor en el AMEC incremento a medida que avanzó la temperatura (350 °C a 800°C).

8.5 Estudio morfológico del almidón modificado

Las características morfológicas del almidón modificado fueron analizadas mediante microscopía óptica. Adicionalmente, se llevo a cabo la determinación de la distribución del tamaño de partícula.

En la Figura 21 se muestran las microfotografías de los gránulos del AN y AMEC, observados a 200x y 300x. La dispersión de AN presentó gránulos de tamaños variados y diversas formas que van desde gránulos ovalados y elipsoidales, formas características para el almidón de plátano, hasta algunos con formas alargadas, todos ellos con superficies lisas (Figura 21a y 21b). En micrografías observadas a 300x (Figura 21c y 21d) se observa con mejor detalle la morfología de los gránulos almidón. Los diversos tamaños y formas ovaladas, elipsoidales, alargadas e irregulares con superficies lisas.

Por otro lado, en el AMEC se observaron gránulos destruidos o parcialmente dañados debido al efecto del tratamiento químico. El tamaño y forma de los gránulos fue irregular (incisos de la Figura 21 desde e hasta h), así como la formación de aglomerados de AMEC que presentan hendiduras y surcos. La modificación química generó corrosión sobre los gránulos de almidón. Esto se puede observar más claramente en las micrografías a 300x, en donde distingue un aro de luz alrededor del granulo de almidón modificado con zonas oscuras e iluminadas, las cuales dan indicio de poros en la superficie de los gránulos (Figura 21g). De forma individual en la Figura 21h se presenta la micrografía de un gránulo

en donde se puede apreciar en su superficie surcos o grietas provocados por el efecto corrosivo de la modificación química a la cual fue sometida.

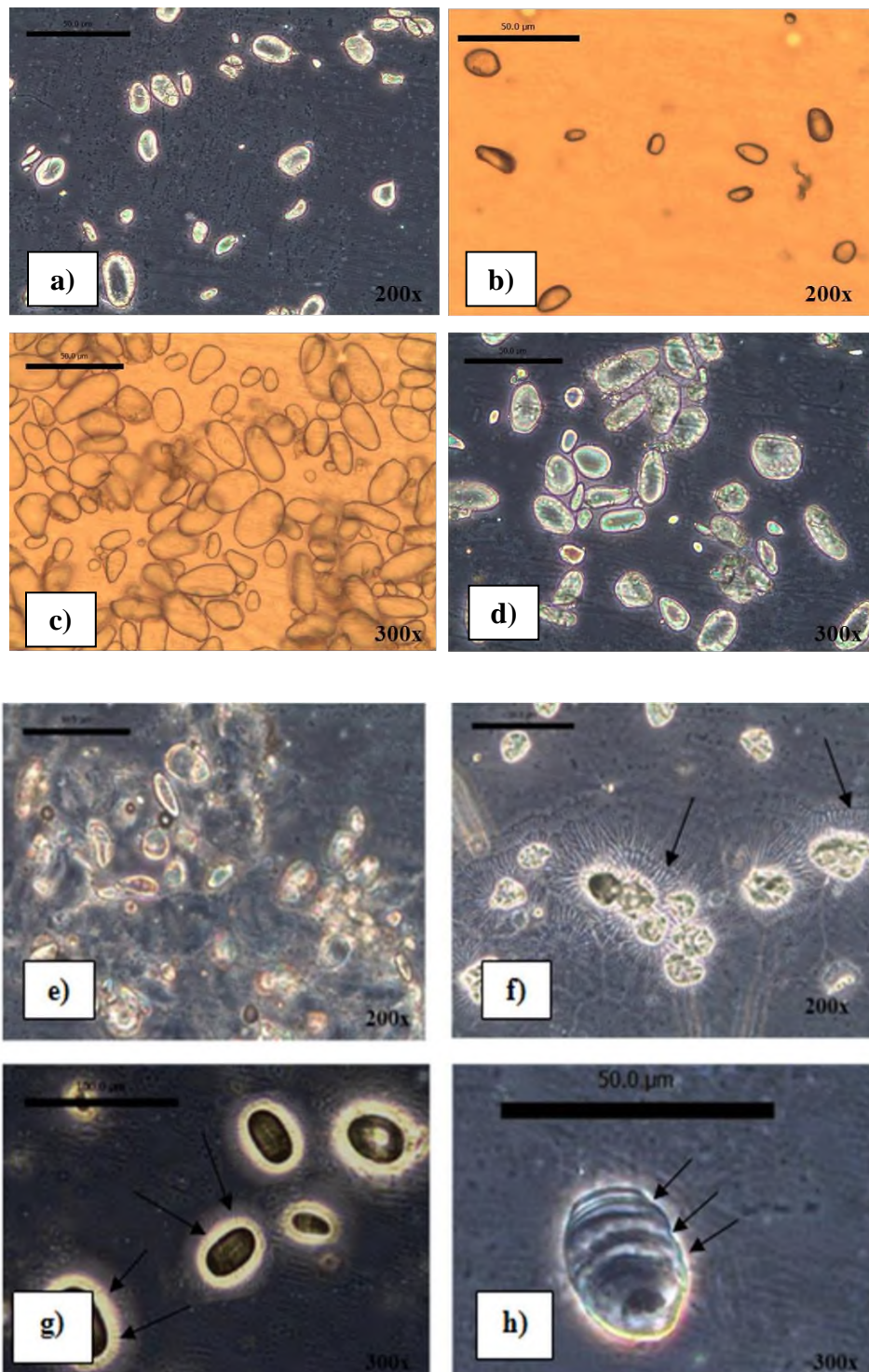


Figura 21. Microfotografías del almidón AN (a-d) y el almidón AMEC (e-h), con objetivos en 200x y 300x, en campo claro y obscuro.

Los resultados de la DTP para el AN y AMEC se muestran en la Figura 22. El AN presentó dos poblaciones predominantes, la primera población tuvo una distribución de tamaño de partícula que va desde los 105 a 200 μm , con un pico máximo que está entre 130-150 μm , el cual tuvo un porcentaje mayor que su contraparte correspondiente al 58% de partícula retenida. La segunda población mostró una distribución de tamaño de partícula que va desde los 215 a 420 μm , mostrando un pico máximo de distribución entre 260-330 μm . Entre los valores de 201-214 μm se observó un porcentaje nulo de retención de partícula. El AMEC al igual que su contraparte (AN) presentó dos poblaciones predominantes, la primera población tuvo una DTP que va desde los 105 a 190 μm , con un pico máximo que se encuentra entre 140 y 150 μm , el cual tuvo un porcentaje correspondiente al 54% de partícula retenida mostrando un tamaño mayor que AN, esto debido a la formación de agregados, que hacen a las partículas mas grandes

La segunda población mostro una DTP que va desde 229 a 420 μm , con un pico máximo de distribución entre 275-335 μm , el cual tuvo un porcentaje mayor que AN, correspondiente al 29%. En este caso, entre los valores 192-228 μm se observó un porcentaje del 5% correspondiente a la formación de aglomerados, mostrando un tamaño de partícula mayor que AN.

Es importante mencionar, que la formación de un mayor volumen de agregados con tamaños más grandes, sugieren una desorganización mayor en el gránulo del almidón. Por lo que la distribución de tamaño de los gránulos de almidón es muy importante debido a su repercusión en las propiedades fisicoquímicas y funcionales.

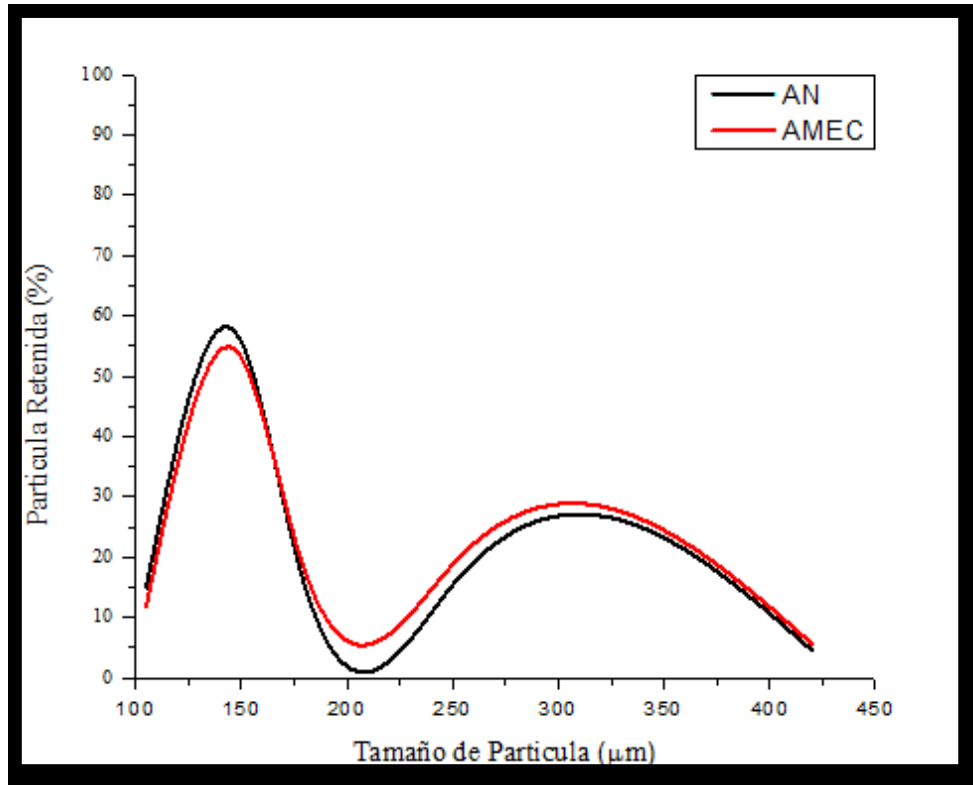


Figura 22. Perfil de distribución de tamaño de partícula de almidón nativo (AN) y almidón modificado (AMEC).

IX. CONCLUSIONES

Se llevó a cabo satisfactoriamente la modificación química de almidón de plátano, a través de una metodología de modificación dual continua de entrecruzamiento y carboximetilación.

Los factores más importantes para controlar el grado de sustitución (GS) durante la modificación del almidón de plátano son la temperatura, el tiempo y la concentración del cloroacetato de sodio ($\text{ClCH}_2\text{COONa}$).

Los resultados obtenidos en FTIR y RMN demostraron picos y señales características respectivamente de los grupos carboximetilos introducidos durante la modificación química dual. Se observaron cambios en la estructura del almidón, indicando la sustitución exitosa en los grupos hidroxilos de la molécula.

El almidón modificado mostró pérdida de cristalinidad, provocada por una destrucción parcial o completa del orden inicial del granulo de almidón, debida a la formación de grupos voluminosos, que provocan una mayor desorganización de la estructura del almidón. Esto fue corroborado por los resultados obtenidos en microscopia, ya que las microfotografías del almidón AMEC, mostraron gránulos destruidos o parcialmente dañados (hendiduras, surcos y señales de corrosión).

El comportamiento térmico mostró un incremento en la temperatura de descomposición y menor degradación del AMEC comparada con el AN, debido a dos factores, el entrecruzamiento y la formación de sales generadas en la carboximetilación. Provocando con esto una degradación lenta e indicando una mejor estabilidad térmica. Esto es importante ya que el umbral de la temperatura de descomposición indica las temperaturas en las que podrían ser utilizadas durante el procesamiento o aplicación del almidón.

X. PERPECTIVAS

Se recomienda realizar cinéticas de reacción para evaluar el efecto de la concentración de agente modificante (epiclorhidrina-cloroacetato de sodio) y su respuesta en el grado de sustitución del polímero modificado, con la finalidad de conocer los parámetros óptimos de reacción y proporcionar a este tipo de almidón modificado un mayor número de grupos reactivos. Como trabajo futuro es necesario realizar pruebas sobre la capacidad de adsorción de iones metálicos (Cd, Cu, Zinc y Hg) en solución acuosa, con el objetivo de conocer si estos iones metálicos pueden ser removidos por el agente quelante (almidón modificado).

Por otro lado, sería importante realizar un estudio para saber el efecto que tiene la temperatura sobre la capacidad de adsorción de los iones metálicos, para evaluar y predecir el comportamiento del almidón modificado a distintas temperaturas. Realizar estudios con respecto al grado de recuperación del almidón modificado con lo cual, se podría saber la cantidad de almidón recuperada después de la adsorción de los iones metálicos. Todo esto con el objetivo de poder probar y sugerir la aplicación específica del almidón modificado, como agente quelante con capacidad para la adsorción de iones metálicos en soluciones acuosas.

XI. REFERENCIAS

- Adebowale, K. O., Olu-Owolabi, B. I., Olawumi, E. K. and Lawal, O. S. *Functional properties of native, physically and chemically modified breadfruit (artocarpus artilis) starch*. Industrial Crops and Products. **2005**, 21, 343-351.
- AACC. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. American Association of Cereal Chemists, Vol. II. St. Paul, MN, **2000**
- Baker, C.A. Paris Congress, 2-8 September **1968**. IIC Preprints. 55-5
- Bedolla, S., and Rooney, L. W. *Characteristics of US and Mexican instant maize flours for tortilla and snack preparation*. Cereal Food World. **1984**, 29, 732-735.
- Bello-Pérez, L. A., Roger, P.; Baud, B. and Colonna, P. J. *Laser light scattering of high amylose and high amylopectin materials in aqueous solution, effect of storage time*. Cereal Science. **1998**, 27, 267-278.
- Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., Sánchez-Hernández, L. and Paredes-López, O. J. *Contribution of amylose and amylopectin to the light scattering behaviour of starches in aqueous solution*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **1999**, 47, 854-857.
- Bello-Pérez, L.A., Contreras-Ramos, S. M., Romero-Manilla, R., Solorza-Feria. J. and Jiménez-Aparicio, A. *Propiedades químicas y funcionales del almidón modificado de plátano Musa paradisiaca L. (VAR. MACHO)*. Agrocienia. **2002**, 36, 169-180.
- BeMiller, J. and Whistler, R. *Carbohydrates in Food Chemistry*, (Fennema, O. R., ed), Marcel Dekker, New York, USA. **1996**, 157-223.
- BeMiller, J. N. and Hubert, K. C. Carbohydrates in: Fennerma's Food Chemistry Srinivasan, D., Parkin, K., Owen, R. (ed). Taylor & Francis, Inc. Chapter 3, **2007**, 120-131.

- Bogracheva, T. Y., Cairns, P., Noel, T. R., Hulleman, S., Wang, T. L., Morris, V. J., Ring, S. G. and Hedley, C. L. *The effect of mutant genes at the r, rb, rug3, rug4, rug5 and lam loci on the granular structure and physico-chemical properties of pea seed starch.* Carbohydrate Polymers. **1999**, 39, 303-331.
- Carmona-García, R., Sanchez-Rivera, M., Méndez-Montealvo, G., Garza-Montoya, B. and Bello-Pérez, L. A. *Effect of the cross-linked reagent type on some morphological, physicochemical and functional characteristics of banana starch (Musa paradisiaca).* Carbohydrate Polymers. **2008**, 76, 117-122.
- Carmona-García, R., Aguirre-Cruz, A., Yee-Madeira, H. and Bello-Pérez- L. A. *Dual modification of banana: Partial characterization.* Starch/Stärke. **2009**, 61, 656-664.
- C. F. R. Code of Federal Regulations. **1995**. Food starch-modified. Title 21. Chapter 1, part 172, Sect 172, 892 In: Food additives permitted in food human consumption. U.S. Gob. Washington D. C.
- Chatakanonda, P., Varavinit, S. and Chinachoti, P. *Effect of crosslinking on thermal and microscopic transitions of rice starch.* Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie. **2000**, 33, 276-284.
- Chung, J. H.; Woo, K. S. and Lim, S. T. *Glass transition and enthalpy relaxation of cross-linked corn starches.* Carbohydrate Polymers. **2004**, 5, 9-15.
- Delval, F., Crini, C., Bertini, S., Morin-Crini, N., Badot, P. M. Vebrel, J. and Torri, G. *Characterization of crosslinked starch material with spectroscopic techniques.* Journal of Applied Polymer Science. **2004**, 93, 2650-2663.
- Donald, A. M. *Plasticization and self-assembly in the starch granule.* Cereal Chemistry. **2001**, 78, 307-314.
- Dumitrio, S. *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility.* CRC Press, 2da edición, **2004**.

- Ege, S. *Química orgánica: Estructura y reactividad*. Editorial Reverté. S.A. Tomo II. **2003**,1283-1284.
- Espinosa-Solis, V., Jay-lin J. y Luis A. Bello-Perez, L. A. *Physicochemical characteristics of starches from unripe fruits of mango and banana*. *Starch/Stärke*, **2009**, 61, 291–299.
- Espinosa-Solis, V., Sanchez-Ambriz, S. L. Hamaker R. B. and Bello Pérez, L. A. *Fine structural characteristics related to digestion properties of acid-treated fruit starches*. *Starch/ Stärke*, **2011**, 63, 717–727.
- Faisant, N., Buleón, A., Colonna, O., Molis, C., Lartigue, S., Galmiche, J. P. and Champ, M. *Structural discrepancies in resistant starch obtained in vivo in humans and in vitro*. *British Journal of Nutrition*. **1995**, 73, 111-123.
- Fang, J. M., P. A. Fowler, J. Tomkinson, and C. A. S. Hill. *The preparation and characterization of a series of chemically modified potato starches*. *Carbohydrate. Polymers*. **2002**, 47, 245-252.
- FAOSTAT. Database from Food and Agriculture Organization **2001**.
- FAOSTAT. Database from Food and Agriculture Organization **2010**.
- Fleche, G. *Modifications chimiques de l'amidon*. CPCIA. Centre de perfectionnement des cadres des industries agricoles et alimentaires. Session: Amidons et derives. Nantes, Francia. **1990**.
- Flores- Gorosquera, E., García-Suárez, F. J., Flores-Huicochea, E., Nuñez-Santiago, M. C., González-Soto, R. A. and Bello-Pérez, L. A. *Acta Científica Venezolana* **2004**, 55, 86-90.
- Gallant, D. J. and Bouchet, B. *Extensive degradation of native starch granules by alpha-amylase from aspergillus fumigatus* *Food Microstructure*, 1986, 5:141-155.
- Galliard, T. *Starch: Properties and potential*. John Wiley & Sons. New York, Chap 2, **1987**, 1-160.

- Goheen, S. M. and R. P. Wool. *Degradation of polyethylene–starch blends in soil*. Journal of Applied Polymer Science. **1991**, 42, 2691–2701.
- Goñi, I., García-Alonso, A. and Saura-Calixto, F. *A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index*. Nutrition Research. **1997**, 17, 427-437.
- Guerra-DellaValle, D., Sanchez-Rivera, M. M., Zamudio-Flores, P. B., Mendez-Montevalvo, G., and Bello-Pérez, L. A. *Effect of chemical modification type on physicochemical and rheological characteristics of banana starch*. Revista Mexicana de Ingeniería Química. **2009**, 8 (2), 197-203.
- Guilbot, A. and Mercier, C. *Starch in: The polysaccharides* Vol. 3 Aspinall G. O. (Ed) Academic Press, Inc. Orlando, Fl. Chapter 3, **1985**, 212–225.
- Han, J. A. and BeMiller, J. N. *Effects of protein on crosslinking of normal maize, waxy maize, and potato starches*. Carbohydrate Polymers. **2008**, 73, 532-540.
- Heinze, T. H., Pfeifer, K., Liebert, T. and Heizen, U. *Carboxymethylation of cellulose in unconventional media*. Starch/Stärke. **1999**, 51, 11-16.
- Hirsch, J. B. and Kokini, J. L. *Understanding the mechanism of cross-linking agents (POCl₃, STMP & EPI) through swelling behavior and pasting properties of crosslinking waxy maize starches*. Cereal Chemistry. **2002**, 79 (1), 102-107.
- Jane, J. L., *Starch functionality in food processing*. In P. J. Frazier, A. M. Donald, and P. Richmond (Eds.), Starch: Structure and functionality (pp.26-35). Cambridge: The Royal Society of Chemistry. **1997**.
- Jyothi, N. N., Moorthy N. S. and Ragasekharan N. K. *Effect of cross-linking with epichlorohydrin on the properties of cassava (Manihot esculenta Crantz) starch*. Starch/Stärke. **2006**, 58, 292-299.

- Kacurakova, M., Belton, P.S., Wilson, R.H., Hirsch, J., and Ebringerova, A. *Hydration properties of xylan-type structures: An FTIR study of xylooligosaccharides*. Journal of the Science of Food and Agriculture. **1998**, 77, 38–44.
- Kacurakova M. and Wilson R. *Developments in mid-infrared FT-IR spectroscopy of selected carbohydrates*. Carbohydrate Polymers. **2001**, 44, 291–303.
- Kim, B. S. and Lim, S. T. *Removal of heavy metal ions from water by cross-linked carboxymethyl corn starch* Carbohydrate Polymers. **1999**, 39, 217-223.
- Light, J. M. *Modified food starches: Why, What, Where, ah How*. Cereal Food World. **1990**, 35, 1081-1092.
- Lineback, D. R. *The starch granule. Organization and properties*. Laker Digest, March. 16-21. **1984**.
- Liu, Q. *Understanding starches and their role in foods*. In: *Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications*, Cui, S., W. (Ed) Taylor & Francis, Inc. Chapter 7, **2005**, pp. 314-323.
- Mac Masters, M. M. *Microscopic techniques for determining starch granule properties*. Whistler, L. R.; Smith, J. R.; BeMiller, N. J. (Ed.). In: *Methods in Carbohydrate Chemistry*. London: Academic Press, **1964**. p. 233-240.
- Marcazzan, F., Vianello, F., Scarpa, M. and Rigo, A. *An ESR assay for α -amylase activity toward succinylated starch, amylose and amylopectin*. Journal of Biochemical and Biophysical Methods. **1999**, 38, 191–202.
- Mano, J. F., Koniarova, D. and Reis., R. L. *Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blends with potential biomedical applicability*. Journal of Materials Science. **2003**, 14, 127-135

- Manrique-Quevedo, N., González-Soto, R. A., Othaman-Abu-Hardan M., García-Suarez, F. J. and Bello-Pérez L. A. *Caracterización de mezclas de almidones de mango y plátano pregelatinizados mediante diferentes condiciones de extrusión*. *Agrociencia*. **2007**, 41, 637-645.
- MacAllister, R. V. Nutritive sweeteners made from starch. In: *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. S. Tipson, and D. Horton (Eds.) Academic Press, Inc. New York. U.S.A. **1979**. 36, 15-56.
- Millan-Testa, C. E.; Méndez-Montevalvo, M. G.; Ottenhof, M. A.; Farhat, I. A. & Bello-Pérez, L. A. Millan-Testa, C. E.; Méndez-Montevalvo, M. G.; Otthenhof, M. A.; Farhat, I. A. and Bello-Pérez, L. A. *Determination of the molecular and structural characteristics of okenia, mango, and banana starches*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2005**, 53, 495-501.
- Paredes-López, O.; Schevenin M. L.; Hernández-López, D. and Cárabez-Trejo A. *Amaranth starch isolation and partial characterization*. *Starch/Stärke*. **1989**, 41, 205-207.
- Parker, R. and Ring, S.G. *Aspects of the physical chemistry of starch*. *Journal of Cereal Science*. **2001**, 34, 1-17.
- Pérez, S. and Imberty, A. *Characterization of starch isolated from plantain*. *Carbohydrate in Europe*, **2000**, 17-21.
- Qiu, H. and He, L. *Synthesis and properties study of carboxymethyl cassava starch*. *Polymers for Advanced Technologies*. **1999**, 10, 468-472.
- Robinson, J. C. (1996). *Distribution and importance; taxonomic classification, cultivars and breeding*. In J. C. Robinson (Ed.), *Banana and Plantains*. Wallingford: CAB International, 1-33.
- Rogols, S. *Starch modifications: A view into the future*. *Cereal Foods World*. **1986**, 31, 869-874.

- Rutenberg, M. W. and Solarek, D. **1984**. *Starch derivatives: Production and uses*. In: Starch Chemistry and Technology. 2nd ed. Whistlers R. L., BeMiller J. N. and Paschall E. F. (Eds). Academic Press, New York. 311-366.
- Sang, Y., Prakash, O., and Seib, P., A. *Characterization of phosphorylated cross-linked resistant starch by P nuclear magnetic resonance (P NMR) spectroscopy*. Carbohydrate Polymers. **2007**, 67, 201-212.
- Sangseethong, K., Ketsilp, S., and Sriroth, K. *The role of reaction parameters on the preparation and properties of carboxymethyl cassava starch*. Starch/Starke. **2005**, 57, 84-93.
- SIAP-SAGARPA, **2010**. Servicio de información estadística agroalimentaria y Pesquera.
- Singh, J., Kaur, L., and McCarthy O. J. *Factors influencing the physic-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-review*. Food Hydrocolloids. **2007**, 21, 1-22.
- Singhal, R. S. and Kulkarni, P. R. *Review: amaranths an underutilized resource*. International Journal of Food Science and Technology. **1988**, 23, 125-139.
- Smith, M. A. *The biosynthesis of starch granules*. Biomacromolecules. **2001**, 2, 335-341.
- Stover, R. H. and Simmonds, N. W. *Classification of banana cultivars*. In R. H. Stover, & N. W. Simmonds (Eds.), Bananas 3rd ed. New York: Wiley. **1987**, 97-103.
- Tester, R. F., Karkalas, J. and Qi, X. *Starch—composition, fine structure and architecture*. Journal of Cereal Science. **2004**, 39, 151-165.
- Tharanathan, R. N. *Critical Review in Food Science and Nutrition*. **2005**, 45, 371-384.
- Thomas, D. J. & Atwell, W. A. *Starch*. Eagan Press Handbook Series. New York. **1999**, 1-94.

- Waliszewski, K. N., Aparicio, M. A., Bello-Pérez, L. A. and Monroy, J. A., *Changes of banana starch by chemical and physical modification*. Carbohydrate Polymers. **2003**, 52, 237-242
- Wang, T., Song, Y., Li, B. and Zhou, X. *Chelating–Ultrafiltration Treatment of Some Heavy Metal Ions in Aqueous Solutions by Crosslinking Carboxymethyl Modified Cornstarch*. Water, Air and Soil Pollution. **2011**.
- Wing, R. E., Doane, W. H. and Russell, C. R. *Chemical modification of starch*. Journal of Applied Polymer Science. **1975**, 19, 847-854.
- Whistler, R. L. and Daniel, L. R., **1984**. *Molecular structure of starch*. IN: *Starch: Chemistry and Technology*. Whistler, R. L., BeMiller, J. N. & Phaschall, E. F., Eds. Academic Press, Inc. New York.
- Wurzburg, O. B. *Modified starches: Properties and Uses*. CRC Press. Boca Raton Florida. **1986a**, 18-38.
- Wurzburg, O. B. *Forty years of industrial starch research*. Cereal Foods World. **1986b**, 31, 897-903.
- Wurzburg, O.B. and Szymanski, C.D. *Modified starches for the food industry*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **1970**, 18, 997-1001.
- Zamudio-Flores, P. B., Bautista-Baños, S., Salgado-Delgado, R. and Bello-Pérez, L.A. *Effect of Oxidation Level on the Dual Modification of Banana Starch: The Mechanical and Barrier Properties of its films*. Wiley InterScience. **2009**, 112, 822-829.
- Zamudio-Flores, P. B., Vargas-Torres, A., Gutiérrez-Meraz, F. and Bello-Pérez, L. A. *Physicochemical characterization of dually-modified banana starch*. Agrociencia. **2010**, 44, 283-295.
- Zhang P., Whistler R. L., BeMiller J. N. and Hamaker B. R. *Banana starch: Production physicochemical properties, and digestibility*. Carbohydrate Polymers. **2005**, 59, 443-458.