



**UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN**

*Campus Tuxtepec*

---

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Caracterización morfológica, fisicoquímica y  
estructural del almidón de semillas del árbol del hule  
(*Hevea brasiliensis*)

**TESIS**

Para obtener el grado de Maestra en Biotecnología

**Presenta:**

Ana Jared Rangel Cortez

**Director de Tesis:**

Dra. Rubí Guadalupe Utrilla Coello

**Co- director de Tesis:**

Dr. Andrés Aguirre Cruz

*San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, México.*

*2018*



# UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

## DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

|        |                                    |
|--------|------------------------------------|
| OFICIO | DEP/2018/053                       |
| ASUNTO | Autorización de impresión de tesis |

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, México a 26 de junio de 2018

**L. P. YESENIA BARRIENTOS ARENAL**  
JEFA DE SERVICIOS ESCOLARES  
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Sirva la presente para informarle que el jurado del examen para obtener el grado de Maestra en Biotecnología de la **C. Ana Jared Rangel Cortez**, matrícula 15140012, ha autorizado la impresión del manuscrito que lleva por título "**Caracterización morfológica, fisicoquímica y estructural del almidón de semillas de árbol de hule (*Hevea brasiliensis*)**" para su posterior presentación y defensa por parte del sustentante.

De antemano agradezco su atención, sin más que agregar, quedo a sus órdenes.

Atentamente

*terra uderima, motti aperta*  
Bou Lo-tama. chi ji ju

**Dra. Sandra T. del Moral Ventura**  
Jefe de la División de Estudios de Posgrado



C.c.p. C. Ana Jared Rangel Cortez  
C.c.p. Archivo

**CAMPUS TUXTEPEC**  
C. Circuito central No. 200, Col. Parque Industrial  
C.P. 38301, Tuxtepec, Oax.  
Tel. 01(287)8759240

[www.unpa.edu.mx](http://www.unpa.edu.mx)

**CAMPUS LOMA BONITA**  
Av. Ferrocarril S/N, Ciudad universitaria  
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax.  
Tel. 01(281)8729230



# UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

|        |                   |
|--------|-------------------|
| OFICIO | DEP/2018/MB/099   |
| ASUNTO | Revisión de tesis |

San Juan Bautista Tuxtepec. Oax., a 17 de mayo de 2018

**C. ANA JARED RANGEL CORTEZ**  
ESTUDIANTE DE LA MAESTRIA EN BIOTECNOLOGIA  
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Por este medio le informo que el jurado de su examen para obtener el grado de Maestría en Biotecnología estará integrado por los siguientes investigadores.

|                                   |                       |              |
|-----------------------------------|-----------------------|--------------|
| Dr. Alejandro Aparicio Saguilán   | UNPA                  | Presidente   |
| Dr. Erick Adrian Juárez Arellano  | UNPA                  | Vocal        |
| Dra. Rubi G. Utrilla Coello       | UNPA                  | Secretario   |
| Dra. Ariana Ariene Huerta Heredia | Cátedras CONACyT-UNPA | 1er Suplente |
| Dra. Heidi M. Palma Rodríguez     | ICAP/UAEH             | 2º Suplente  |

Sin más por el momento, le envío saludos cordiales.

Atentamente

*terra uberrima, mens aperta*  
Bou Lo-tama, chi ji ju



**Dra. Sandra T. del Moral Ventura**  
Jefe de la División de Estudios  
de Posgrado

Dra. Rubi G. Utrilla Coello – Director de tesis.  
C.c.p. L. P. Yesenia Barrientos Arenal – Jefa de Servicios Escolares.  
C.c.p. Archivo



**M. en C. Héctor López Arjona**  
Vice-rector Académico  
Vo. Bo.

VICE-RECTORIA  
ACADEMICA

CAMPUS TUXTEPEC  
C. Circuito central No. 200, Col. Parque Industrial.  
C.P. 38301, Tuxtepec, Oax.  
Tel. 01(287)8759240

[www.unpa.edu.mx](http://www.unpa.edu.mx)

CAMPUS LOMA BONITA  
Av. Ferrocarril S/N, Ciudad universitaria.  
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax.  
Tel. 01(281)8729230

## DEDICATORIAS

*Con todo mi amor.*

*A Dios por darme la vida. Porque sin Él nada soy pero con Él todo lo puedo.*

*A mis padres por su apoyo y amor incondicional. Dios no pudo haberme dado mejores padres.*

*A mi esposo Pablo por todo su apoyo, paciencia y amor.*

*A mis hermanos y a Mariam porque simplemente los amo.*

# AGRADECIMIENTOS

Gracias Dios mío por darme vida, salud y fortaleza cuando sentía que ya no podía. Gracias por poner siempre a personas buenas en mi camino.

Gracias a mis padres por sus oraciones y sus palabras de aliento.

Gracias Pablo por tu paciencia, comprensión y apoyo durante toda la maestría y realización de esta tesis.

Gracias a mis suegros por todo el apoyo que siempre me han brindado.

Gracias Dra. Rubí por aceptarme como su "hija". No tengo como agradecerle su apoyo, su paciencia, su comprensión y sus enseñanzas. Fue la mejor asesora que pude haber tenido.

Gracias Dr. Andrés por el apoyo y la confianza que siempre me brindó. Por facilitarme su material en el laboratorio, por sus comentarios, correcciones y valiosas enseñanzas.

Gracias Dr. Alejandro por todo su apoyo en el reómetro y DSC, por la confianza y ayudarme con mis dudas.

Gracias a mis sinodales: Dra. Heidi, Dra. Ariana, Dr. Erick por su valioso tiempo y buena disposición en la revisión de mi trabajo. Gracias a la Dra. Sandra por su amabilidad y apoyo en este proceso.

Gracias Jazmín por tu inigualable ayuda. Gracias por tranquilizarme en mis peores momentos de estrés, por tus consejos. Pero sobre todo gracias por tu amistad.

Gracias a mis compañeros y a todas las personas que de alguna manera me ayudaron en la realización de este trabajo.

Gracias a la Universidad del Papaloapan por abrirme sus puertas y por hacer de mi maestría una muy grata experiencia.

## CONTENIDO

|                                                                |      |
|----------------------------------------------------------------|------|
| Índice de Figuras .....                                        | ix   |
| Índice de Tablas.....                                          | xi   |
| ABREVIATURAS .....                                             | xii  |
| RESUMEN .....                                                  | xiii |
| ABSTRACT .....                                                 | xiv  |
| 1. INTRODUCCIÓN. ....                                          | 1    |
| 2. MARCO TEÓRICO.....                                          | 3    |
| 2.1 Árbol del hule ( <i>Hevea brasiliensis</i> ) .....         | 3    |
| 2.1.1 Descripción general del árbol del hule.....              | 3    |
| 2.1.2 Importancia del cultivo .....                            | 5    |
| 2.1.3 Historia del cultivo de hule en México. ....             | 6    |
| 2.1.4 Características de la semilla del árbol del hule. ....   | 7    |
| 2.2 Almidón. ....                                              | 9    |
| 2.2.1 Estructura química.....                                  | 9    |
| 2.2.1.1 Amilosa.....                                           | 9    |
| 2.2.1.2 Amilopectina .....                                     | 11   |
| 2.2.2 Estructura molecular .....                               | 14   |
| 2.2.3 Morfología del almidón.....                              | 16   |
| 2.2.4 Cambios en el almidón por procesos de calor-humedad..... | 17   |
| 2.2.4.1 Gelatinización.....                                    | 17   |
| 2.2.4.2 Retrogradación.....                                    | 18   |
| 2.2.5 Extracción de almidón.....                               | 19   |
| 2.2.6 Importancia del almidón en la industria. ....            | 19   |
| 3. JUSTIFICACIÓN.....                                          | 21   |
| 4. HIPÓTESIS .....                                             | 22   |
| 5. OBJETIVOS.....                                              | 23   |
| 5.1 Objetivo general.....                                      | 23   |
| 5.2 Objetivos específicos .....                                | 23   |
| 6. MATERIALES Y MÉTODOS.....                                   | 24   |
| 6.1 Materiales.....                                            | 24   |
| 6.2 Métodos .....                                              | 24   |

|           |                                                          |    |
|-----------|----------------------------------------------------------|----|
| 6.2.1     | Caracterización física de la semilla del árbol del hule. | 24 |
| 6.2.2     | Obtención de harina                                      | 24 |
| 6.2.3     | Caracterización química de la harina                     | 26 |
| 6.2.3.1   | Humedad.                                                 | 26 |
| 6.2.3.2   | Cenizas                                                  | 26 |
| 6.2.3.3   | Lípidos                                                  | 26 |
| 6.2.3.4   | Proteínas                                                | 26 |
| 6.2.3.5   | Fibra dietética total                                    | 26 |
| 6.2.3.6   | Almidón total                                            | 27 |
| 6.2.4     | Aislamiento del almidón                                  | 28 |
| 6.2.5     | Caracterización fisicoquímica del almidón                | 29 |
| 6.2.5.1   | Composición Química                                      | 29 |
| 6.2.5.1.1 | Almidón dañado.                                          | 29 |
| 6.2.5.1.2 | Amilosa aparente                                         | 29 |
| 6.2.5.2   | Propiedades térmicas                                     | 30 |
| 6.2.5.2.1 | Gelatinización                                           | 30 |
| 6.2.5.3   | Solubilidad y poder de hinchamiento.                     | 31 |
| 6.2.5.4   | Perfil de Formación de pasta                             | 31 |
| 6.2.6     | Caracterización morfológica                              | 32 |
| 6.2.6.1   | Microscopía electrónica de barrido (MEB)                 | 32 |
| 6.2.6.2   | Distribución de tamaño de partícula                      | 32 |
| 6.2.7     | Caracterización estructural                              | 32 |
| 6.2.7.1   | Difracción de rayos-X                                    | 32 |
| 6.2.8     | Análisis reológico                                       | 33 |
| 6.2.8.1   | Método viscosimétrico (curvas de flujo)                  | 33 |
| 6.2.8.2   | Método dinámico                                          | 33 |
| 6.2.8.2.1 | Cinética de gelatinización-gelificación                  | 33 |
| 6.2.9     | Análisis estadístico                                     | 34 |
| 7.        | RESULTADOS Y DISCUSIÓN                                   | 35 |
| 7.1       | Recolección y caracterización física de las semillas     | 35 |
| 7.2       | Obtención de la harina                                   | 35 |
| 7.3       | Caracterización química de la harina                     | 38 |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| 7.4 Aislamiento del almidón .....                           | 41 |
| 7.5 Caracterización fisicoquímica del almidón.....          | 42 |
| 7.5.1 Composición química.....                              | 42 |
| 7.5.2 Almidón total, almidón dañado y amilosa aparente..... | 44 |
| 7.5.3 Propiedades térmicas.....                             | 46 |
| 7.5.4 Solubilidad y poder de hinchamiento.....              | 49 |
| 7.5.5 Perfil de Formación de Pasta.....                     | 52 |
| 7.6 Caracterización morfológica.....                        | 54 |
| 7.6.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB).....         | 54 |
| 7.6.2 Distribución de tamaño de partícula.....              | 56 |
| 7.7 Caracterización estructural .....                       | 58 |
| 7.7.1 Difracción de rayos-X .....                           | 58 |
| 7.8 Análisis Reológico .....                                | 60 |
| 7.8.1 Método viscosimétrico (Curvas de flujo).....          | 60 |
| 7.8.2 Método dinámico.....                                  | 64 |
| 7.8.2.1 Cinética de gelatinización-gelificación .....       | 64 |
| 8. CONCLUSIONES.....                                        | 72 |
| 9. PERSPECTIVAS .....                                       | 73 |
| 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                        | 74 |

## Índice de Figuras

|                                                                                                                                                                                                                      | <b>PÁG.</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Figura 1.</b> Plantación de <i>Hevea brasiliensis</i>                                                                                                                                                             | 4           |
| <b>Figura 2.</b> Fruto del árbol de hule                                                                                                                                                                             | 4           |
| <b>Figura 3.</b> Semillas de <i>Hevea brasiliensis</i>                                                                                                                                                               | 5           |
| <b>Figura 4.</b> Estructura química de la amilosa                                                                                                                                                                    | 10          |
| <b>Figura 5.</b> Amilosa en forma helicoidal                                                                                                                                                                         | 11          |
| <b>Figura 6.</b> Estructura química de la amilopectina                                                                                                                                                               | 12          |
| <b>Figura 7.</b> Modelo de “racimo” de la estructura de la amilopectina                                                                                                                                              | 13          |
| <b>Figura 8.</b> Estructura del gránulo de almidón a diferentes niveles de organización                                                                                                                              | 15          |
| <b>Figura 9.</b> Patrones de difracción de rayos X de almidones tipo A, B y C                                                                                                                                        | 16          |
| <b>Figura 10.</b> Metodología general de la Investigación                                                                                                                                                            | 25          |
| <b>Figura 11.</b> Pasos para la obtención de la harina a partir de las SAH                                                                                                                                           | 37          |
| <b>Figura 12.</b> Patrones de solubilidad (a) e hinchamiento (b) en ASAH y AM                                                                                                                                        | 51          |
| <b>Figura 13.</b> Perfiles de formación de pasta del ASAH y AM                                                                                                                                                       | 53          |
| <b>Figura 14.</b> Micrografías del ASAH: (izquierda) 1000 y (derecha) 3000 aumentos                                                                                                                                  | 55          |
| <b>Figura 15.</b> Micrografías del AM: (izquierda) 1000 y (derecha) 1500 aumentos                                                                                                                                    | 55          |
| <b>Figura 16.</b> Distribución de tamaño de partícula del ASAH y AM                                                                                                                                                  | 57          |
| <b>Figura 17.</b> Difractogramas del ASAH y AM                                                                                                                                                                       | 59          |
| <b>Figura 18.</b> Perfil de viscosidad de suspensiones de ASAH y AM al 5% (p/v) de sólidos totales en función de la velocidad de deformación a 25 °C                                                                 | 61          |
| <b>Figura 19.</b> Barrido de amplitud de deformación (1 Hz) de las suspensiones de ASAH y AM correspondientes a las etapas de: a) Cocción a 90 °C y b) Enfriamiento a 25 °C. Símbolos llenos G´; símbolos vacíos G´´ | 65          |

- Figura 20.** Barrido de frecuencia de los módulos dinámicos del ASAH y AM (5% de deformación) durante las etapas a) primera (90°C) y b) segunda (25°C). Símbolos llenos  $G'$ ; símbolos vacíos  $G''$  67
- Figura 21.** Dependencia del ángulo de pérdida con la frecuencia en el ASAH y AM (5% de deformación) durante las etapas a) primera (90°C) y b) segunda (25°C) 69
- Figura 22.** Dependencia de la viscosidad compleja con la frecuencia en el ASAH y AM (5% de deformación) durante las etapas a) primera (90°C) y b) segunda (25°C) 71

## Índice de Tablas

|                                                                                                                 | <b><i>Pág.</i></b> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| <b>Tabla 1.</b> Composición química de la semilla del árbol del hule ( <i>Hevea brasiliensis</i> )              | 8                  |
| <b>Tabla 2.</b> Caracterización física de la semilla del árbol del hule ( <i>Hevea brasiliensis</i> )           | 36                 |
| <b>Tabla 3.</b> Composición química de la harina de la semilla del árbol del hule ( <i>Hevea brasiliensis</i> ) | 39                 |
| <b>Tabla 4.</b> Composición química del ASAH                                                                    | 43                 |
| <b>Tabla 5.</b> Composición química del ASAH y AM                                                               | 45                 |
| <b>Tabla 6.</b> Propiedades térmicas del ASAH y AM obtenidas por calorimetría diferencial de barrido            | 48                 |
| <b>Tabla 7.</b> Parámetros del modelo de Ostwald-de Waele (ley de la potencia) para los almidones: ASAH y AM    | 62                 |

## ABREVIATURAS

|                    |                                          |
|--------------------|------------------------------------------|
| $\eta$             | Índice de comportamiento de flujo        |
| $\mu\text{m}$      | Micrómetro                               |
| AM                 | Almidón de maíz                          |
| ASAH               | Almidón de la semilla del árbol del hule |
| g                  | Gramo                                    |
| $G'$               | Módulo de almacenamiento                 |
| $G''$              | Módulo de pérdida                        |
| h                  | Hora                                     |
| HSAH               | Harina de la semilla del árbol del hule  |
| Hz                 | Hertz                                    |
| $K$                | Índice de consistencia                   |
| Kg.                | Kilogramo                                |
| M                  | Molar                                    |
| mg                 | Miligramo                                |
| min                | Minuto                                   |
| ml                 | Mililitro                                |
| mm                 | Milímetro                                |
| msnm               | Metros sobre el nivel del mar            |
| nm                 | Nanómetro                                |
| $^{\circ}\text{C}$ | Grados Celsius                           |
| p/v                | Peso/volumen                             |
| Pa                 | Pascal                                   |
| $r^2$              | Coeficiente de correlación               |
| S                  | Segundo                                  |
| SAH                | Semillas del árbol del hule              |
| SEM                | Microscopía electrónica de barrido       |
| $\tan \delta$      | Tangente del ángulo de desfase           |
| $\eta^*$           | Viscosidad compleja                      |
| $\mu\text{l}$      | Micro litro                              |

## RESUMEN

El árbol del hule (*Hevea brasiliensis*) es un cultivo de gran importancia a nivel mundial por ser la principal fuente de obtención de hule. Las semillas de este árbol son desaprovechadas a pesar de que se estima que pueden llegar a producirse 9.6 millones de toneladas cada año. El interés por la búsqueda de nuevas o mejores características del almidón ha incrementado en los últimos años, debido a la importancia que tiene este polisacárido en diferentes industrias, principalmente en la alimentaria. Por lo que el objetivo de este trabajo fue obtener y caracterizar morfológica, fisicoquímica y estructuralmente el almidón de las semillas del árbol del hule. Para ello, se estableció un proceso de aislamiento de almidón a partir de harina obtenida de las semillas del árbol del hule. Se utilizó almidón de maíz comercial como control. Se obtuvo almidón con un rendimiento de 64.71 g/kg de harina (6.47%), una pureza de 70.72 g/100g, un contenido de proteínas de 10.13g/100g, amilosa de 16.03 g/100g y almidón dañado de 8.70 g/100g. En la microscopía electrónica de barrido se observaron gránulos de tamaño pequeño ( $\leq 5 \mu\text{m}$ ) con forma redonda y también gránulos  $> 5 \mu\text{m}$  con formas irregulares y se observaron ciertos agregados. En la distribución de tamaño de partícula el almidón de la semilla de hule (ASAH) presentó una distribución bimodal, con la primera población presentó un tamaño promedio de  $0.98 \mu\text{m}$  y la segunda de  $29.44 \mu\text{m}$ . El ASAH presentó un patrón de difracción de rayos X tipo A, típico de los cereales, con una cristalinidad de 28.45%. El análisis térmico mostró una temperatura de gelatinización de  $75.66^\circ\text{C}$  y una entalpía de gelatinización de 6.93 J/g. A  $90^\circ\text{C}$  el ASAH presentó su máxima solubilidad (14%) e hinchamiento (17.21 g agua/g muestra seca). En el perfil de formación de pasta se muestra un patrón característico, sin embargo, en la etapa de enfriamiento se presenta una viscosidad baja. En el análisis reológico, el almidón presentó un comportamiento reofluidizante, ya que presentaron un  $\eta$  menor a 1. En los barridos de frecuencia predominó el carácter viscoso frente el elástico.

## ABSTRACT

The rubber tree (*Hevea brasiliensis*) is a crop of great importance worldwide because it is the main source of rubber. The rubber tree seeds are wasted even though it is estimated that 9.6 million tons can be produced each year. In recent years, the interest in the search for new or better characteristics of starch has increased, due to the importance of this polysaccharide in different industries, mainly in food. The aim of this work was to carry out the isolated and morphological, physicochemical and structural characterization of rubber seeds starch. The starch isolation was established from rubbery seeds flour. Commercial corn starch was used as control. Starch was obtained with a yield of 64.71 g / kg of flour (6.47%), purity of 70.72 g / 100 g, protein content 10.13 g / 100 g, amylose 16.03 g / 100 g and damaged starch 8.70 g / 100 g. Scanning electron microscopy showed small granules ( $\leq 5 \mu\text{m}$ ) with round shape and also granules  $> 5 \mu\text{m}$  with irregular shapes and certain aggregates were observed. In the distribution of particle size, the rubber seed starch (RSS) presented a bimodal distribution, the first population showed an average size of  $0.98 \mu\text{m}$  and the second of  $29.44 \mu\text{m}$ . RSS showed a type A X-ray diffraction pattern, typical of cereals, with a crystallinity of 28.45%. The thermal analysis showed a gelatinization temperature of  $75.66^\circ\text{C}$  and gelatinization enthalpy of  $6.93 \text{ J/g}$ . At  $90^\circ\text{C}$  the ASAH showed its maximum solubility (14%) and swelling ( $17.21 \text{ g water / g dry sample}$ ). A characteristic pattern is shown in the paste formation profile; however, a low viscosity is present in the cooling stage. In the rheological analysis, the starch showed a reofluidizing behavior, since they presented a  $\eta$  less than 1. In the frequency sweep prevailed the viscous character versus the elastic one.

## 1. INTRODUCCIÓN.

El árbol del hule (*Hevea brasiliensis*) es originario de la selva baja del Amazonas, aunque su mayor desarrollo por la aplicación de tecnología lo ha tenido Asia, considerada como selva productiva y en donde obtienen la mayor producción a nivel global. En México, el cultivo del árbol del hule (*Hevea brasiliensis*) se inició a finales del siglo XIX (Compagnon, 1998) y actualmente se encuentra distribuido en los estados de Veracruz, Oaxaca, Chiapas y Tabasco (Izquierdo Bautista, 2008). En México, a pesar del gran potencial que se tiene para desarrollar el cultivo del hule (349,241 ha aproximadamente), en 2009 sólo se tienen establecidas 27,128 ha (7%). En 1882 se establecieron las primeras plantaciones de *Hevea brasiliensis* en Tuxtepec, Oaxaca y aunque en la actualidad esta actividad se encuentra poco explotada, sigue considerándose a este cultivo como una prioridad nacional ya que puede generar desarrollo económico y beneficios ambientales a las zonas tropicales del país (Plan rector, 2005). El *hevea brasiliensis* produce unas semillas que se obtienen con alto rendimiento como un subproducto (Aigbodion et al., 2003), las cuales son desaprovechadas ya que no se utilizan para ningún fin.

Las semillas en general contienen una fuente de energía almacenada (aceite y almidón) que permite el desarrollo del embrión. Por esta razón se espera que el contenido de carbohidratos presentes en la semilla de *Hevea brasiliensis* sean en su mayoría almidón. Debido a que el único estudio científico sobre el almidón de estas semillas se realizó desde el año 1954 y no se encuentra más información al respecto, surge el interés de aislar y caracterizar morfológica, fisicoquímica y estructuralmente, el almidón de las semillas del árbol del hule.

El almidón es una materia prima con un amplio campo de aplicaciones que van desde la impartición de textura y consistencia en alimentos hasta la manufactura de papel, adhesivos y empaques biodegradables (Zhao y Whistler, 1994). Es necesario buscar nuevas fuentes de extracción, ya que con una producción mundial de 48.5 millones de ton/año (FAOSTAT, 2001), existe una demanda insatisfecha del mismo (Hernández-Medina et al., 2008). Las ventas de almidones y derivados fueron de \$ 51.2 mil millones en 2012 y se espera que alcancen los \$ 77.4 mil millones en 2018, una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR)

del 7.1% entre 2012 y 2018 (BBCRESEARCH, 2013). Se espera que el mercado de derivados de almidón crezca ampliamente a una tasa del 6.2% entre 2014 y 2019 debido a los avances tecnológicos que se producen en la industria (World News Network, 2014).

Como todo material, las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón y sus productos dependen de su naturaleza, morfología y estructura. Por lo tanto, resulta relevante caracterizar almidones de fuentes no convencionales para la evaluación de este polímero como materia prima para una posible aplicación industrial. Se han reportado características morfológicas de almidones de diversas fuentes: maíz, arroz, trigo, papa, yuca, todos con diferencias morfológicas y fisicoquímicas considerables, por lo tanto con diferentes propiedades funcionales (Singh et al., 2003; Medina, 2008).

Con este trabajo se espera aportar conocimiento acerca de las características de un almidón extraído de una semilla que es desaprovechada en el municipio de Tuxtepec y en el país, para el cual podrían encontrarse propiedades funcionales importantes para alguna aplicación industrial.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Árbol del hule (*Hevea brasiliensis*)

#### 2.1.1 Descripción general del árbol del hule.

El árbol del hule, *Hevea brasiliensis*, conocido también como el árbol del caucho, siringa o seringueira, es un árbol de gran tamaño originario de la cuenca baja del Río Amazonas en Brasil que pertenece a la familia de las euforbiáceas y alcanza desde 20 hasta 30 m de altura. Tiene un tronco recto y cilíndrico de unos 30 a 60 cm de diámetro, de madera blanca y liviana. Sus hojas están compuestas de tres folíolos, de 16 cm de longitud, por 6 a 7 cm de ancho dispuestas en el extremo de un largo pecíolo; en la estación seca las hojas se tornan de color rojizo y caen parcialmente. Las flores son pequeñas, de color amarillo claro y están agrupadas en racimos. El árbol de hule comienza a producir frutos a los 4 años de edad. Los frutos aparecen después de la caída de las flores y están constituidos por una cápsula de tres celdillas que contienen una semilla cada una, las cuales consisten en una cáscara dura, que es marrón o negro con algunas manchas blancas y un grano blanco suave (Duong, 2003); en la madurez, estas semillas son proyectadas con un ruido seco de estallido característico. Un kilogramo de semilla contiene de 250 a 350 unidades aproximadamente dependiendo de su origen. El látex del árbol es una suspensión acuosa blanca o amarillenta en la cual se encuentra el hule y es abundante hasta los 25 años de edad del árbol, se sitúa en una red de vasos laticíferos que se comunican entre ellos y posee la capacidad de regenerarse dentro de este sistema. La incisión de estos vasos en el tronco del árbol permite el derrame del látex hacia el exterior. (Zhang et al., 2008; Compagnon, 1998).

La propagación del *Hevea* se hace por semilla o por injerto de yema, las plantas que se obtienen a través de semilla, no reproducen las características deseables de sus progenitores, por lo que se usa más la propagación asexual que reproduce toda la información genética de la planta madre; esta propagación ocurre a partir de porciones o partes de la planta (Plan rector, 2005).



**Figura 1.** Plantación de *Hevea brasiliensis*



**Figura 2.** Fruto del árbol del hule



**Figura 3.** Semillas de *Hevea brasiliensis*.

### 2.1.2 Importancia del cultivo

El cultivo del árbol del hule, *Hevea brasiliensis*, es considerado como una gran alternativa para el desarrollo de regiones potenciales del trópico húmedo en nuestro país, ya que genera múltiples beneficios; además de que puede mejorar el desarrollo socioeconómico de los productores, constituye también una alternativa ecológica que se puede utilizar para la forestación y reforestación productiva de zonas tropicales que han sido deforestadas (Plan rector, 2005). *Hevea brasiliensis*, es la fuente principal del hule natural, por ello es considerada materia prima esencial para la industria hulera (Rodríguez, 1993). El hule tiene una gran diversidad de usos, por ejemplo, en los Estados Unidos se elaboran actualmente entre 40 y 50 mil artículos de hule, entre los que destacan neumáticos, cámaras, mangueras, suelas, guantes, etc. (ASERCA, 1996).

El hule natural o caucho, como mundialmente se le conoce, se obtiene a partir del látex de más de 200 especies botánicas que lo producen (Martínez et al., 2005); sin embargo, son pocas las que se explotan a nivel comercial y que se dan en regiones tropicales, siendo la más importante *Hevea brasiliensis* (produce el 99% del hule natural del mundo) por sus niveles productivos y por las características fisicoquímicas de su látex (Plan rector, 2005).

En el escenario mundial de la producción de hule (*Hevea brasiliensis*) los países asiáticos concentran la mayor producción de látex con 93 % de la producción mundial;

Indonesia, Tailandia y Malasia poseen 38.92, 22.85 y 16.51 % respectivamente, de la superficie mundial plantada de *Hevea brasiliensis* (Plan rector, 2005). De la producción mundial de hule natural, dichos países en el mismo orden contribuyen con 30.5, 18.6 y 24.9 %, respectivamente (IRSG, 2000); sin embargo, presentan problemas serios para incrementar el volumen debido al envejecimiento de las plantaciones y las fluctuaciones en los precios. Por el contrario, América Latina pese a no contar con una producción parecida a la de Asia, presenta condiciones naturales excelentes para un crecimiento productivo, aunque solo participa con 3 % en el mercado internacional (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2004), los principales productores son Brasil con 180 000 ha, Guatemala con 44 500 ha y México con 25 000 ha (Plan rector, 2005). El mayor consumo mundial de látex ocurre en los países de Europa con 19 % y en Estados Unidos de Norte América, con 18.4 % (IRSG, 2000).

La producción de hule en México presenta dinamismo de crecimiento medio; constituye solo 10 % en América Latina, siendo Veracruz y Oaxaca las regiones más dinámicas (Vargas-Canales, et al., 2016). México importa 63 000 t al año, lo que representa 90 % de las necesidades del país (CMH, 2002). El apoyo a las plantaciones de hule se redujo considerablemente en las décadas de 1980 y 1990 debido a la producción de hule sintético derivado del petróleo (Grist y Menz., 1995). En los últimos años ha resurgido el interés por el látex natural por sus características físico-químicas que no se pueden obtener de otras sustancias, para la manufactura de preservativos y guantes quirúrgicos, así como en neumáticos de mayor seguridad en vehículos y aviones (Centurion et al., 1995). A pesar de la importancia industrial del árbol del hule, en México no existe suficiente información sobre el potencial productivo de la especie.

### **2.1.3 Historia del cultivo de hule en México.**

Los antecedentes de este cultivo en México se remontan a 1882, cuando compañías inglesas y holandesas establecieron las primeras plantaciones en los municipios de Tezonapa en Veracruz; Tuxtepec, Ojitlán y Santa María Chimalapa, en Oaxaca; y en Hacienda Zanjón Seco, en Chiapas. Durante el periodo de 1895 a 1910 se establecieron 2.000 ha en la hacienda “El Corte” y 500 ha en “La Esmeralda”, localizadas en la zona ístmica de Veracruz y Oaxaca.

En el siglo pasado, en los años cincuenta la Comisión del Papaloapan, dependiente de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, promocionó algunos cultivos introducidos, entre ellos el hule, logrando que se establecieran 1,900 ha en la zona del bajo Papaloapan. En 1978 se creó el Fideicomiso del Hule, mejor conocido como FIDHULE, el cual fue fundado para la investigación, el financiamiento del cultivo, la industrialización y comercialización del hule natural. A fines de 1992, este fideicomiso logró el establecimiento de 23,000 ha en todo el país. En 1993 se crea el Consejo Mexicano del Hule y durante el periodo de 1996 a 2003, se logró establecer un total de 13,396 ha.

El cultivo del árbol del hule en nuestro país se realiza en el sureste mexicano. Los principales estados productores en México en orden de importancia son: Veracruz, Oaxaca, Chiapas y Tabasco (Plan rector, 2005). El país cuenta con un potencial de más de 400 000 ha para establecer plantaciones, en los estados de Veracruz, Oaxaca, Chiapas y Tabasco (CMH, 2001). De las plantaciones ya establecidas, 54 % se localiza en el Estado de Veracruz (Tezonapa, Las Choapas, Uxpanapa y Acayucan), 32 % en Oaxaca (región del Papaloapan, con predominio de la zona de Tuxtepec), 8 % en Chiapas (regiones Selva, Palenque y Tapachula), y 6 % en Tabasco (Macuspana y Huimanguillo) (CMH, 2002).

#### **2.1.4 Características de la semilla del árbol del hule.**

*Hevea brasiliensis* se cultiva principalmente por su látex y su semilla se obtiene con alto rendimiento como un subproducto (Kim y Winnink, 1994; Aigbodion et al., 2003). La semilla es grande, ovoide, dorsiventral con líneas irregulares de color marrón oscuro y gris o manchas en la capa de la semilla (Thomas et al., 1996). La temporada de fructificación de los árboles de hule comienza durante la transición entre la estación seca y la estación lluviosa. Cuando los frutos estén maduros, se dividirán y las semillas dentro caerán al suelo y estarán disponibles para la recolección. De acuerdo a Siriwardene y Nugara (1972), cada árbol produce unas 800 semillas (5 kg) dos veces al año. Se estima que una plantación de hule puede producir alrededor de 800-1200 kg de semilla de hule por hectárea por año, y éstas normalmente se consideran residuos. Otros autores reportan una producción anual de semillas de hule que varía de 300 a 2060 kg / ha (Jamieson y Baughman, 1930, Zhu et al., 2014). Sobre la base de un promedio estimado de 1000 kg de semillas de hule producido por

hectárea anualmente (Eka et al., 2010), la producción de semilla de hule en todo el mundo puede llegar a 9.6 millones de toneladas de semillas de hule cada año (Santoso et al., 2014). Se han llevado a cabo estudios sobre la semilla del árbol del hule y la mayoría están enfocados en los lípidos que contiene, ya que son ricas en aceites. Aunque hay variaciones en el contenido de aceite de las semillas de diferentes países, se ha reportado que el rendimiento promedio es del 40%. El aceite de semillas de hule contiene 17-20% de ácidos grasos saturados (mirístico, palmítico, esteárico, araquídico y behénico) y 77-82% de ácidos grasos insaturados (palmitoleico, oleico, linoleico, linolénico y araquidónico) (Njoku et al., 1996). Se han propuesto algunos posibles usos como lubricante (Njoku y Ononogbu, 1995) biodiesel (Ikwuagwu et al., 2000; Eka et al., 2010; Devi et al., 2012), pinturas y recubrimientos (Aigbodion et al., 2003).

La semilla de *Hevea brasiliensis* ha sido objeto de estudio en varias investigaciones donde se ha determinado su composición química proximal. En la tabla 1 se muestran los valores que han sido reportados por algunos autores.

**Tabla 1.** Composición química de la semilla del árbol del hule (*Hevea brasiliensis*)

| Autor                        | Contenido % |         |         |           |               |
|------------------------------|-------------|---------|---------|-----------|---------------|
|                              | Humedad     | Cenizas | Lípidos | Proteínas | Carbohidratos |
| Ravindran y Ravindran (1988) | ---         | 3.60    | 50.20   | 21.50     | 18.2          |
| Ikwuagwu et al. (2000)       | 3.71        | 2.71    | 45.63   | 22.17     | 24.21         |
| Onwurah et al. (2010)        | 3.90        | 2.60    | 42.50   | 22.30     | 28.70         |
| Devi et al. (2012)           | 8.50        | 2.50    | 48.50   | 17.60     | 22.90         |

## **2.2 Almidón.**

El almidón es el más abundante de los carbohidratos de reserva en plantas. Se encuentra en diferentes órganos de la planta, incluyendo semillas, frutas, tubérculos y raíces, donde se utiliza como fuente de energía durante los períodos de inactividad y de crecimiento.

Alimentos con alto contenido de almidón han sido base de la dieta humana desde la antigüedad debido a su importante valor nutricional. Gran parte de las propiedades de estos alimentos y sus derivados pueden explicarse conociendo las características del almidón (Röper, 2002).

El almidón es un polímero natural que además de ser barato, es muy útil y versátil ya que tiene muchas aplicaciones, y su estructura fisicoquímica puede ser alterada mediante tratamientos químicos, físicos y enzimáticos (Jobling, 2004), con lo cual se amplía aún más su uso en diversas industrias. En los últimos años, han aumentado las investigaciones y el conocimiento sobre la estructura del almidón y sus características morfológicas y fisicoquímicas, lo cual repercute en sus propiedades funcionales (James et al., 2003).

### **2.2.1 Estructura química**

El almidón es un polímero relativamente simple que está compuesto de dos polisacáridos: la amilosa (en una proporción del 20-30%) y la amilopectina (70-80%), los cuales se encuentran formados por moléculas de D-glucosa unidas mediante enlaces glucosídicos (Jenkins, 1994). La relación de amilosa/amilopectina varía de acuerdo al origen botánico del almidón y las cantidades relativas de estos dos polímeros y su organización física dentro de la estructura granular le confieren propiedades fisicoquímicas y funcionales particulares (Bello-Pérez, 1995).

#### **2.2.1.1 Amilosa**

La amilosa es un polímero esencialmente lineal, formado por unidades de D-glucosa unidos por enlaces glucosídicos  $\alpha$ -(1,4) (Jenkins, 1994), aunque puede presentar también algunas ramificaciones pero de manera escasa y espaciada por lo que se comporta como un polímero lineal (Lineback y Rasper, 1988).

La cadena de amilosa adopta una forma helicoidal o de hélice interrumpida en solución a temperatura ambiente, presentándose seis moléculas de glucosa por cada giro. Se pueden presentar de 10 a 15 giros por región. El interior de la hélice contiene sólo átomos de hidrógeno, lo que le confiere un carácter hidrofóbico, mientras que los grupos hidroxilo están situados en el exterior de la hélice. Debido a estas características de la hélice la amilosa puede formar complejos con moléculas hidrofóbicas como el yodo, los ácidos grasos o los hidrocarburos (Guilbot y Mercier, 1985). La interacción con el yodo da una coloración azul (Stick, 2001).

La amilosa tiene un peso molecular entre  $1 \times 10^5$ - $1 \times 10^6$  Daltones (Da) aproximadamente, un grado de polimerización (GP) de 324-4,920 con alrededor de 9-20 puntos de ramificación equivalentes de 3 a 11 cadenas por molécula (Morrison y Karkalas, 1990). Cada cadena contiene aproximadamente de 200 a 700 residuos de glucosa lo que equivale a un peso molecular de 32,400-113,400 Da (Tester y Karkalas, 2002). La amilosa se encuentra en la mayoría de los almidones en una proporción de 15-35%, en ciertos casos alcanza niveles menores al 15% en los almidones tipo ceroso o “waxy”, o mayor al 35% en los denominados “altos en amilosa” (Tester et al., 2004).

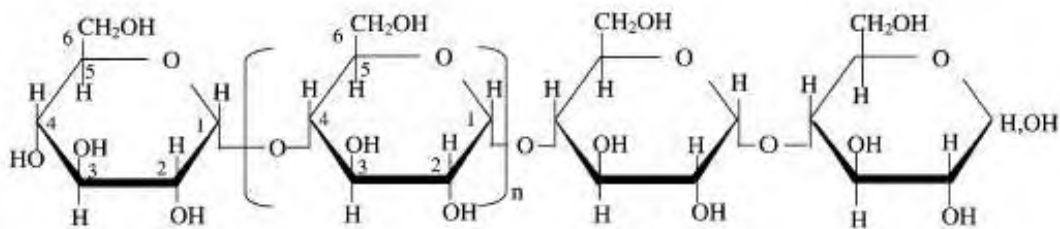


**Figura 4.** Estructura química de la amilosa (Tester y Karkalas, 2002).

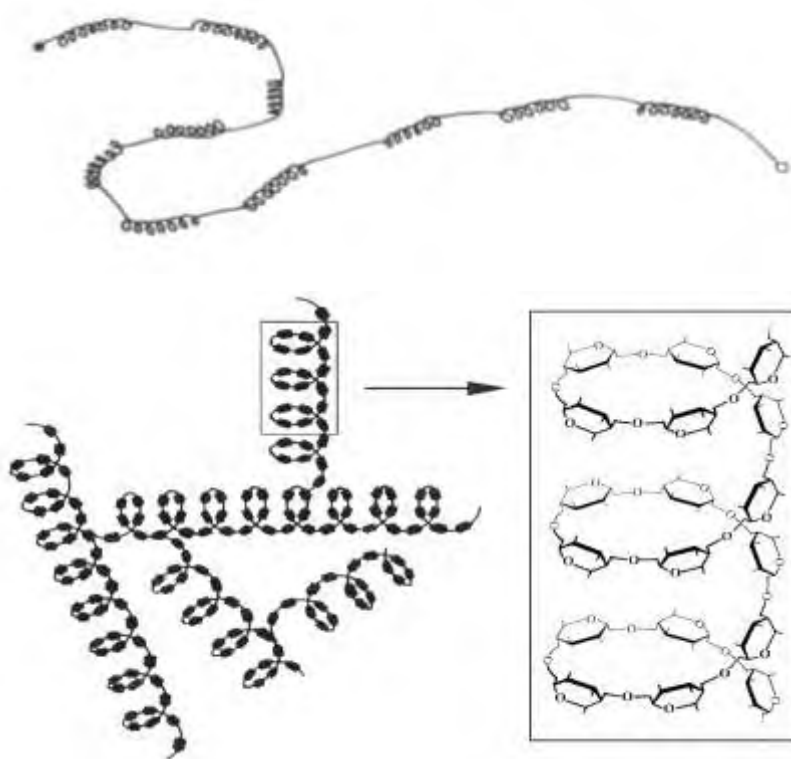


**Figura 5.** Amilosa en forma helicoidal.

### 2.2.1.2 Amilopectina

La amilopectina es una cadena altamente ramificada formada por cadenas de D-glucosa unidas principalmente por enlaces  $\alpha$ -(1,4) y entre un 5-6% de enlaces  $\alpha$ -(1,6) en los puntos de ramificación. El peso molecular varía entre  $10^7$  y  $10^9$  Da. En general, la molécula de amilopectina es de 1.0 a 1.5 nm de diámetro y de 12 a 40 nm en longitud (Manners, 1989). El GP se encuentra típicamente dentro del intervalo de 9,600-15,900 pero comprende tres especies predominantes con un GP de 13,400-26,500, 4,400-8,400 y 700-2,100 (Takeda et al., 2003). Las cadenas de la amilopectina son más cortas comparadas con las de la amilosa pero con un perfil de distribución más amplio. Son de 18-25 unidades de glucosa en promedio (Tester et al., 2004), aunque en almidones con alto contenido de amilosa este intervalo es mayor (19-31 unidades) (Jane et al., 1999). Dependiendo de la fuente la amilopetina es el principal componente en la mayoría de los almidones (entre 70-80%), alcanzando en ciertos

casos niveles hasta de un 98-99% en los almidones tipo ceroso o waxy (Thurn y Burchard, 1985; Zobel 1988).

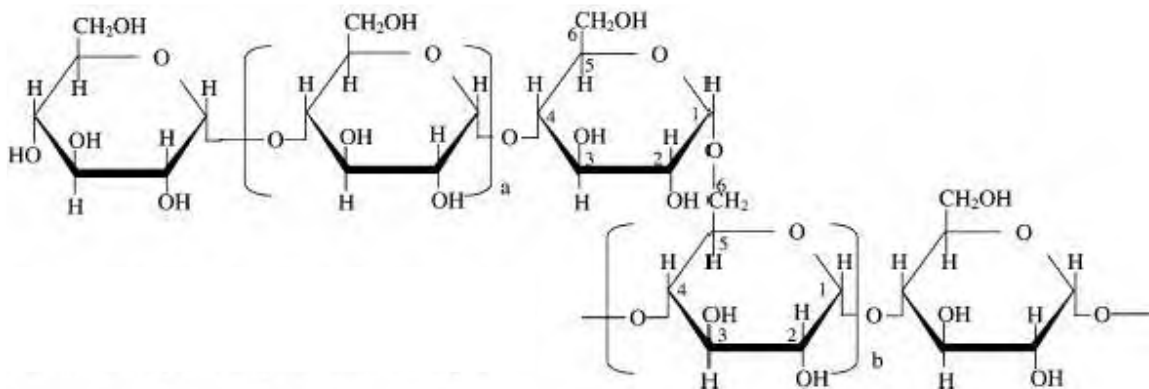


**Figura 6.** Estructura química de la amilopectina (Tester y Karkalas, 2002).

Se han propuesto varios modelos para explicar la estructura química de la amilopectina. En 1972, French propuso el modelo de “racimo” para describir la forma en la cual la estructura ramificada de la amilopectina se encuentra en los gránulos de almidón nativo, el cual consiste en regiones cristalinas y amorfas en forma alternada. Las cadenas se organizan en dobles hélices, las cuales tienen una longitud de 6 nm de largo. Las áreas intercristalinas (amorfas) se presentan a intervalos de 0.6-0.7 nm y contienen mayor cantidad de enlaces  $\alpha$ -(1-6), siendo relativamente susceptibles a agentes hidrolíticos (ácidos y enzimas).

Las cadenas de la amilopectina se han clasificado de acuerdo a su GP, y a su posición dentro del gránulo de almidón en cadenas A, B y C (Hizukuri, 1985,1986). Las cadenas A son las externas que están unidas a cadenas internas B, estas a su vez están unidas a otras cadenas B y/o a la cadena C (Figura 7). Las cadenas A tienen un GP de 12-16. Las cadenas B soportan otras cadenas con ramificaciones, por lo cual se denominan B1, B2, B3 y B4 (1 a 4 cadenas). Además, estas cadenas se diferencian por su GP, así las cadenas B1 tienen un GP de 20-24, las B2 de 42-48, las B3 de 69-75 y las B4 de 104-140, (Hizukuri, 1985, 1986; Bello-Peréz et al., 1996; Tester et al., 2004). La cadena C no está sustituida en el extremo reductor, sólo se encuentra una por molécula y presenta un GP mayor a 60 unidades

(Eerlingen y Delcour, 1995). Las cadenas A y B se encuentran agrupadas formando las zonas cristalinas de la amilopectina, las cuales están separadas por una región estrecha en los puntos de ramificación considerada como la región amorfa (Robin et al., 1974).

La amilopectina es quizás el componente que tiene mayor importancia en función de las propiedades del almidón, dado que su estructura y propiedades contribuyen notablemente en la composición y funcionalidad del gránulo además de encontrarse en mayor proporción. (Thurn y Burchard, 1985; Zobel 1988; Bello-Pérez et al., 1996).

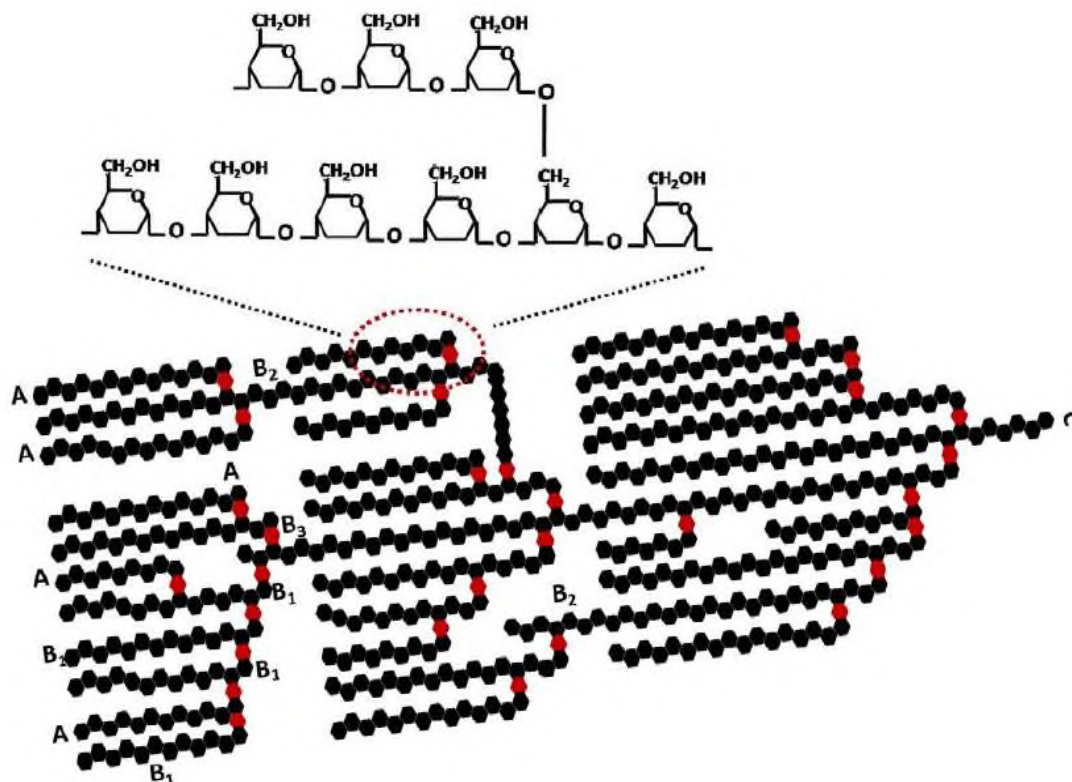


**Figura 7.** Modelo de “racimo” de la estructura de la amilopectina (Bowen, 2006).

### 2.2.2 Estructura molecular

El almidón se encuentra organizado en forma de gránulos insolubles en agua fría, que presentan una naturaleza semicristalina debido a que se pueden apreciar regiones con características cristalinas y regiones amorfas (Sivack y Preiss, 1998).

La naturaleza semicristalina del almidón es generalmente atribuida a la amilopectina, ya que las dobles hélices que forman sus cadenas ramificadas están empaquetadas dentro de la región cristalina. La disposición radial y ordenada de las moléculas de almidón en un gránulo resulta evidente al observar la cruz de polarización o cruz de Malta en un microscopio de polarización, fenómeno conocido como birrefringencia, el cual indica que existe un alto grado de orientación molecular dentro del gránulo. El centro de la cruz corresponde con el hilum, el centro de crecimiento de gránulo (Katz et al., 1993).

Yamaguchi et al. (1979) observaron por medio de microscopía electrónica en dispersiones de almidón de maíz ceroso en dimetilsulfóxido, la presencia de anillos concéntricos, el tamaño que presentaron fue de 120 a 400 nm, observando una periodicidad cada 7 nm. Análisis posteriores realizando una hidrólisis ácida, proporcionaron información de que la estructura está en láminas, dando una forma semi-cristalina, mostrándose que esta repetición da lugar a los anillos semicristalinos los cuales crecen por aposición al hilum del gránulo (Tester et al., 2004). El número y tamaño de los anillos de crecimiento depende del origen botánico del almidón y de la cantidad de carbohidratos disponibles durante la biosíntesis (Tang et al., 2006).

La estructura del gránulo del almidón y el arreglo de sus componentes en los diferentes niveles de organización, permite explicar las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los diferentes almidones. Existen dos tipos diferentes de cristales que pueden formarse con los agregados de las dobles hélices de la amilopectina. Estos son conocidos como cristales polimórficos tipo A y B (Figura 8b) y se conoce también al tipo C, que se ha considerado como una combinación entre los tipos A y B pero con más inclinación a la del tipo A. Las dobles hélices en las dos formas polimórficas son esencialmente idénticas con respecto a la estructura helicoidal. Sin embargo, el empaquetamiento de estas dobles hélices en la estructura cristalina del tipo polimórfico A es relativamente compacta con un bajo

contenido de agua (4-8 moléculas de agua por hélice, es imposible removerlas sin una destrucción completa de la estructura cristalina), proporcionando una simetría monoclinica, mientras que la estructura tipo -B es más abierta, por lo tanto hay mayor contenido de agua haciéndola una hélice hidratada (36 moléculas de agua por hélice) con un cristal del tipo hexagonal (Imberty et al., 1991; Imberty y Pérez, 2000; Tester et al., 2004). En la Figura 9, se muestran los 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 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  $24$ , se ha encontrado en almidones de tubérculos y altos en amilosa (Tester y Karkalas, 2002).

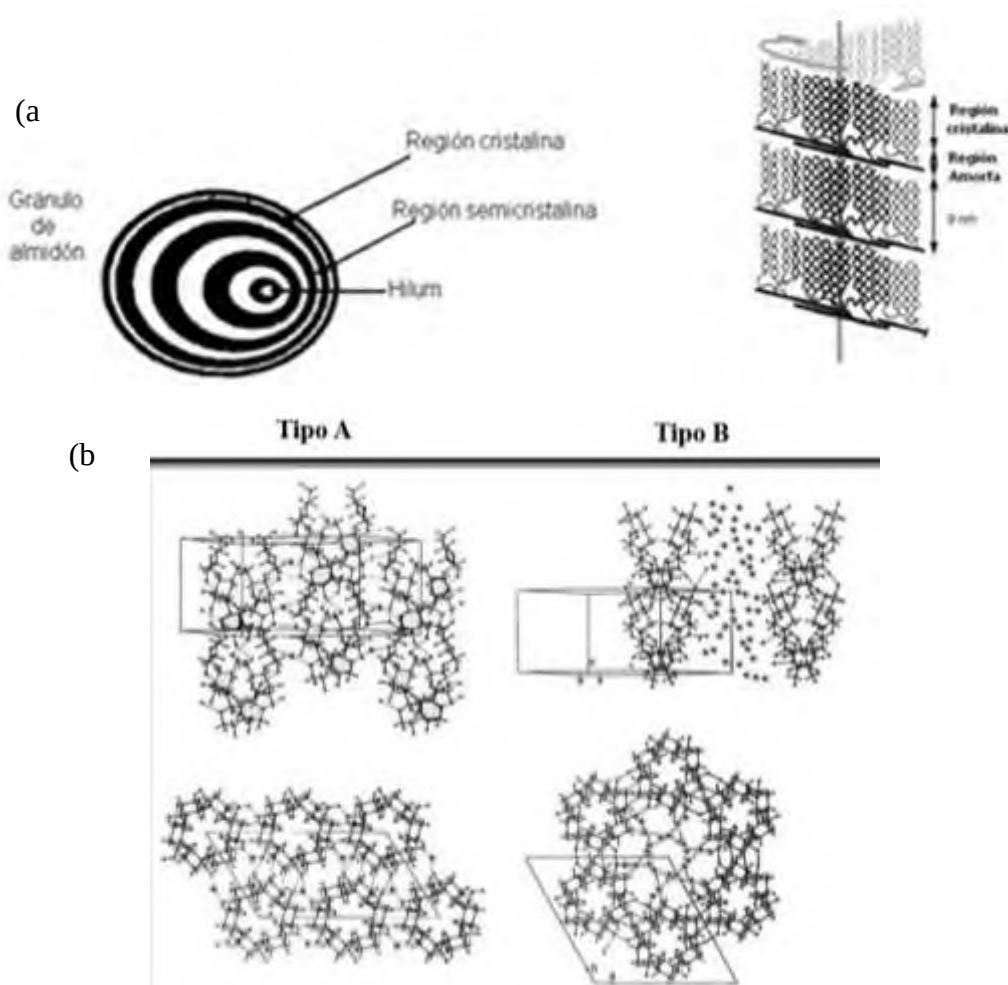


**Figura 8.** Estructura del gránulo de almidón a diferentes niveles de organización. Gallant et al., 1997. (A) El gránulo de almidón muestra la alternancia cristalina y amorfa. El centro es el hilum y las capas son hacia el exterior del gránulo. (B) Estructura cristalina del almidón (patrones de difracción de rayos X tipo A y B).

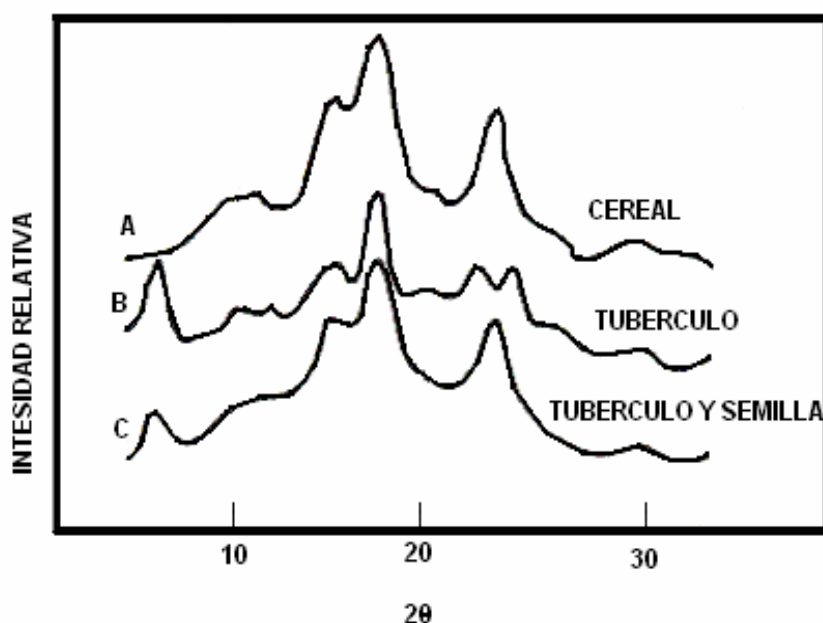


**Figura 9.** Patrones de difracción de rayos X de almidones tipo A, B y C. Hizukuri, 1986

### 2.2.3 Morfología del almidón

La morfología, el tamaño y la distribución de tamaño de los gránulos de almidón dependen del origen botánico. La morfología del gránulo de almidón está genéticamente controlada. Los gránulos de almidón presentan formas variadas que pueden ser redondas, ovales, poliédricas y de formas irregulares, algunas veces con protuberancias. Las estructuras y características físicas de los plastidios podrían influir en la morfología de los gránulos de almidón y afectar el arreglo molecular de la amilosa y amilopectina dentro del gránulo (Jane et al., 1994).

En general el tamaño del gránulo de almidón varía de 0.5 a 100  $\mu\text{m}$  y de acuerdo a esto se han clasificado en gránulos grandes ( $>25 \mu\text{m}$ ), medianos (10-25  $\mu\text{m}$ ), pequeños (5-10  $\mu\text{m}$ ) y muy pequeños ( $< 5 \mu\text{m}$ ). Los gránulos más grandes se han encontrado en la papa (15 a 100  $\mu\text{m}$ ) (Lineback, 1984), y los más pequeños en las especies de amaranto (0.8 a 2.5  $\mu\text{m}$ ) (Paredes López et al., 1990).

En cereales como trigo, cebada, centeno y triticale se han encontrado dos tipos de poblaciones de gránulos (distribución bimodal), gránulos tipo A y B. Los gránulos tipo A son

gránulos grandes con un tamaño de  $>10\ \mu\text{m}$  y los tipo B son gránulos pequeños  $\leq 10\ \mu\text{m}$ . Además de las diferencias en tamaño, estas dos poblaciones de gránulos difieren en sus propiedades fisicoquímicas y en las etapas en que se biosintetizan durante el crecimiento de la planta (Lindembom et al., 2004).

El tamaño de los gránulos es un factor importante para muchas aplicaciones. Hay una enorme variación en los tamaños granulares de almidones de diferentes especies y realmente se conoce muy poco acerca de lo que controla el tamaño de los gránulos de almidón (Jobling, 2004).

## **2.2.4 Cambios en el almidón por procesos de calor-humedad**

### **2.2.4.1 Gelatinización**

El gránulo de almidón nativo no es digerible por el organismo humano debido a su estructura organizada, por lo cual se deben utilizar procesos de calor-humedad para transformarlo. La gelatinización es quizá la transformación más importante del almidón; es la desorganización irreversible de sus componentes (Lai y Kokini, 1991; Jacobs y Delcour, 1998), una transición de orden-desorden que sufren los gránulos de almidón cuando se calientan en presencia de agua, lo cual tiene gran impacto en el procesamiento, calidad y estabilidad de los productos basados en almidón (Pineda-Gómez et al., 2010). Los cambios estructurales que ocurren durante este proceso son: cambios en la forma y tamaño de los gránulos, absorción de agua e hinchamiento, fusión de los cristales y lixiviación de la amilosa de los gránulos (Atwell et al., 1988). Para la transición se requiere un porcentaje de agua mayor al 30% y una temperatura entre 60 y 75°C, valor que depende de la fuente de origen del almidón. Durante el proceso, las moléculas de almidón vibran rompiendo los puentes de hidrógeno intermoleculares de las zonas amorfas de los gránulos, lo que provoca el hinchamiento por una absorción progresiva e irreversible de agua. La evaluación de los cambios en la microestructura de los almidones durante la gelatinización se realiza mediante distintas técnicas que tratan de estimar el orden interno de los gránulos. Entre las técnicas más usadas está la calorimetría diferencial de barrido (DSC), que determina la temperatura y el intervalo en el cual suceden los cambios de estado y el flujo de calor involucrado (Pineda-Gómez et al., 2010).

La calorimetría diferencial de barrido mide la temperatura de gelatinización (la temperatura de inicio de gelatinización es típicamente reportada entre 50-60 °C en exceso de agua) y la energía requerida para la gelatinización, lo cual principalmente refleja la pérdida del orden molecular (las dobles hélices) (Jacobs y Delcour, 1998). Estas transiciones de fase ocurren en un intervalo de temperatura y se presentan varios estados, los cuales son: Inicio de pérdida de birrefringencia, la amilosa empieza a difundirse hacia el agua y la amilopectina queda dentro del gránulo para posteriormente perder su orden, la amilosa fuera del gránulo forma una malla y produce un gel (Biliaderis, 1991; Lund y Lorenz, 1984). Los cambios que suceden después de la gelatinización, durante un calentamiento posterior son denominados como empastado. Los cambios que suceden durante la gelatinización y empastado afectan notoriamente las propiedades reológicas de las suspensiones de almidón (Jacobs y Delcour, 1998).

#### **2.2.4.2 Retrogradación**

El material amorfo, obtenido después de la gelatinización y en la etapa de enfriamiento, no se encuentra en un estado de equilibrio, presentándose entonces una tendencia a un proceso de reasociación y recristalización de las cadenas del polisacárido, a lo cual se le conoce como retrogradación (Edwards y Parrett, 1996), donde ocurre una insolubilización y precipitación espontánea de las moléculas de amilosa, debido a que sus cadenas lineales se orientan paralelamente por puentes de hidrógeno. Cada almidón tiene una tendencia diferente a la retrogradación que está relacionada con su contenido de amilosa. La retrogradación es de gran interés para los científicos y tecnólogos de alimentos, ya que afecta profundamente a la calidad, la aceptabilidad y la vida útil de los alimentos que contienen almidón (Biliaderis, 1991). Debido al proceso de recristalización, la retrogradación puede determinarse mediante calorimetría diferencial de barrido y difracción de rayos X (Karim et al., 2000).

Hay dos rutas por las que se puede llevar a cabo la retrogradación que dependen de la concentración y temperatura del sistema:

- Rápida. Al calentar una solución concentrada de amilosa y enfriarla rápidamente hasta temperatura ambiente, se forma un gel rígido y reversible.

- Lenta. Una solución diluida, se vuelve opaca y precipita cuando después de calentarse, se deja enfriar lentamente hasta temperatura ambiente.

### **2.2.5 Extracción de almidón**

En toda investigación realizada con almidón el paso inicial es la extracción de gránulos de almidón del material vegetal. La extracción de almidón es un paso muy importante ya que debe realizarse sin una modificación significativa de los gránulos de almidón y en cantidades suficientes para permitir diversos análisis. Los diferentes procesos de aislamiento a nivel laboratorio e industrial, son diseñados y adaptados dependiendo de la fuente de obtención (cereales, frutas, tubérculos, raíces o semillas) (Ji et al., 2004). Los gránulos de almidón cuando se extraen y se secan tienen la apariencia de un polvo blanco y son insolubles en agua fría. De manera general, presentan una composición química con 0.06-0.53% de proteína, 0.05- 0.8% de lípidos y 0.07- 1.4% de cenizas y el resto lo forma el almidón (Guilbot y Mercier, 1985). Los gránulos de almidón en su forma nativa contienen una cantidad apreciable de agua, aproximadamente del 10 al 12%, la misma que es muy importante con relación a las propiedades fisicoquímicas y al modo de reacción del gránulo.

El maíz es la fuente botánica más importante para la extracción de almidón comercial, siendo utilizado ampliamente en la elaboración de alimentos debido a sus características (BeMiller, 1993). En Estados Unidos el 95% del almidón producido es de maíz (White 1994). Sin embargo, gradualmente se ha puesto atención en fuentes no convencionales como alternativas para obtener almidones que presenten diversas características fisicoquímicas, estructurales y funcionales que amplíen la gama de usos en la industria (Guízar-Miranda et al., 2008; Henríquez et al., 2008; Espinosa-Solis et al., 2009).

### **2.2.6 Importancia del almidón en la industria.**

Los almidones nativos son muy variables en cuanto a composición y propiedades dependiendo de la fuente de origen. El almidón a menudo se agrega a productos fluidos para aumentar su viscosidad y estabilidad y también a productos semisólidos para contribuir a su estructura y así mejorar sus propiedades de retención de agua. Es utilizado como sustituto de

grasa en alimentos bajos en calorías y como materia prima para la producción de almidón resistente, pero también funciona como un adhesivo, enlazador, agente encapsulante, agente gelificante, texturizante y como material base para la formación de recubrimientos comestibles y películas de envasado biodegradables. (Biliaderis, 1991; Mauro, 1996).

Para comprender la funcionalidad de los almidones, se necesita cierta información con respecto a la estructura y la morfología de los gránulos de almidón, por ejemplo, la amilopectina tiene efectos estabilizadores, mientras que la amilosa forma geles y tiene una fuerte tendencia a formar complejos con lípidos y otros componentes. Por lo que la amilopectina es preferida para muchas aplicaciones.

El papel del almidón está pasando de ser un ingrediente a granel barato a ser un ingrediente funcional que se utiliza debido a sus propiedades específicas. En trabajos de desarrollo de productos más sofisticados, se requiere una comprensión del papel funcional del almidón dentro del producto real, es decir, el conocimiento de las interacciones entre el almidón y otros ingredientes, así como de los efectos de las condiciones de procesamiento (Hermansson y Svegmark, 1996).

### 3. JUSTIFICACIÓN

El cultivo del árbol del hule *Hevea brasiliensis* se encuentra establecido en el municipio de San Juan Bautista Tuxtepec en Oaxaca, debido a que cuenta con las condiciones climatológicas para su crecimiento y desarrollo. Las semillas de este árbol son un subproducto que no tiene ningún aprovechamiento específico, ya que el látex del árbol es el único producto con importancia comercial. En los últimos años se han llevado a cabo estudios sobre los lípidos y proteínas de la semilla, sin embargo poco o casi ningún interés se ha tenido en los carbohidratos, específicamente el almidón; por lo que en este trabajo se busca aislar el almidón presente en las semillas y caracterizarlo morfológica, estructural y fisicoquímicamente para conocer sus características funcionales.

#### **4. HIPÓTESIS**

Las características morfológicas y fisicoquímicas del almidón de semillas del árbol del hule tienen un uso potencial en la industria alimentaria y no alimentaria.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Obtener y caracterizar morfológica, fisicoquímica y estructuralmente el almidón de las semillas del árbol de hule (*Hevea brasiliensis*).

### 5.2 Objetivos específicos

- Realizar la caracterización física de las semillas del árbol del hule (*Hevea brasiliensis*).
- Obtener una harina a partir de las semillas del árbol del hule y realizar la caracterización química proximal de ésta.
- Establecer el método de aislamiento de almidón de la harina obtenida de las semillas del árbol del hule.
- Caracterizar fisicoquímicamente el almidón obtenido.
- Caracterizar morfológicamente el almidón obtenido mediante microscopía electrónica de barrido y distribución de tamaño de partícula.
- Realizar la caracterización estructural mediante pruebas de Difracción de Rayos X.
- Realizar pruebas reológicas a la pasta de almidón.

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1 Materiales**

Las semillas del árbol del hule (*Hevea brasiliensis*) usadas en este estudio fueron recolectadas durante los meses de noviembre y diciembre del año 2016 de las plantaciones que se encuentran en la Universidad del Papaloapan Campus Tuxtepec con ubicación en Latitud Norte 18°04'52", Longitud Oeste 96°07'07" y una altura de 20 msnm. Almidón de maíz (*Zea mays*) nativo fue usado como modelo, el cual fue adquirido a la industrializadora de maíz IMSA S.A. de C.V., México.

### **6.2 Métodos**

La estrategia experimental que se utilizará en este trabajo se presenta en la Figura 10.

#### **6.2.1 Caracterización física de la semilla del árbol del hule.**

Las características físicas determinadas en la semilla del árbol del hule fueron tamaño y peso (se tomó un tamaño de muestra N=100). El tamaño (ancho, longitud y espesor) fue medido utilizando un vernier. El peso de las semillas enteras se determinó en una balanza analítica ADAM PW124 y posteriormente se pelaron con ayuda de un mortero para conocer el peso del grano.

#### **6.2.2 Obtención de harina**

La obtención de harina a partir de las semillas del árbol del hule se realizó en las siguientes etapas: (1) Las semillas recolectadas fueron peladas manualmente con ayuda de un mortero para retirarles la cáscara. (2) Los granos de las semillas fueron partidos a la mitad y se secaron en un horno de aire caliente a 45°C por 24 horas, esto para disminuir el contenido de humedad en las semillas y poder ser almacenadas por mayor tiempo. (3) Las semillas secas se molieron en un procesador de alimentos (OSTERIZER) hasta obtener una harina, la cual se pasó por tamiz de malla 40 y se almacenó en un recipiente cerrado a 4°C para los procedimientos posteriores.

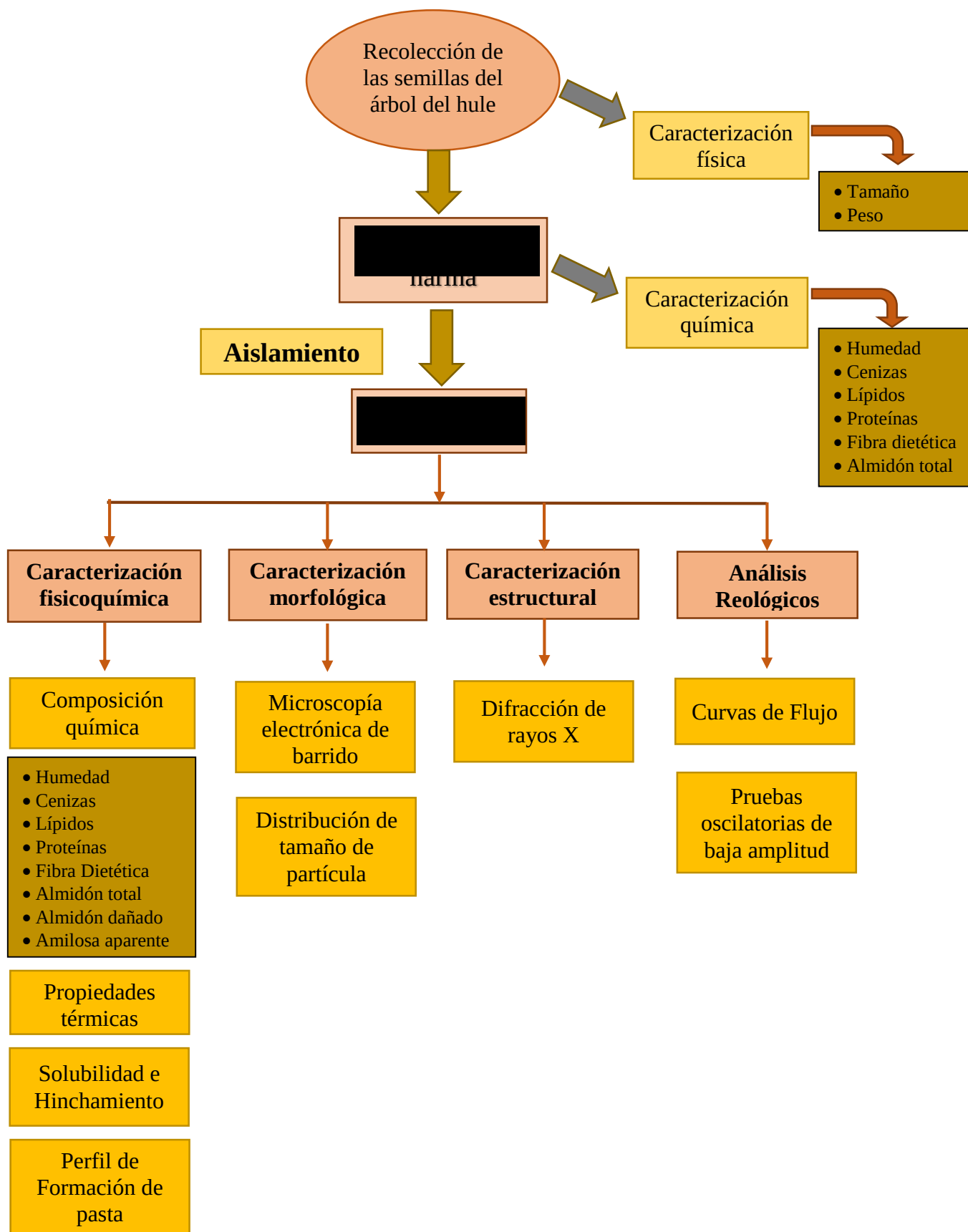


**Figura 10.** Metodología general de la Investigación

El rendimiento de la harina fue calculado utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Peso de la harina obtenida}}{\text{Peso de la semilla sin cáscara utilizada}} \times 100$$

### **6.2.3 Caracterización química de la harina**

La caracterización química proximal en la harina obtenida se llevó a cabo mediante la determinación de humedad, lípidos, cenizas, proteínas, fibra dietética total y almidón total (AT).

#### **6.2.3.1 Humedad**

Se utilizaron 2 g de muestra, se colocaron en charolas de aluminio y se dejaron en estufa convencional a una temperatura de  $130 \pm 1^\circ\text{C}$  por 4 h. Por diferencia de pesos se calculó el porcentaje de humedad (método 44-16, AACC, 2000).

#### **6.2.3.2 Cenizas**

Se determinó utilizando la pérdida en peso de 2 g de muestra después de incineración a  $600^\circ\text{C}$  durante 3 h en una mufla (método 08-01, AACC, 2000).

#### **6.2.3.3 Lípidos**

Se determinó utilizando un sistema de extracción Soxhlet con 2 g de muestra empleando éter de petróleo como disolvente (método 30-25, AACC, 2000).

#### **6.2.3.4 Proteínas**

Para la determinación de nitrógeno total se utilizó el método Kjeldahl, con un factor de conversión de 6.25 (métodos 46-13, AACC, 2000).

#### **6.2.3.5 Fibra dietética total**

Se determinó mediante el kit para carbohidratos disponibles y fibra dietética de Megazyme (K-ACHDF 08/16) el cual consiste en pesar por duplicado 1 g de muestra y adicionar 40 ml de solución de buffer MES-TRIS (pH 8.0). Se adicionan 50  $\mu\text{L}$  de solución de  $\alpha$ -amilasa termoestable y se incuba con agitación en un baño de agua a  $80^\circ\text{C}$  por 35 min.

Después de este tiempo las muestras se dejan enfriar aproximadamente a 60°C y se adicionan 100 µL de solución de proteasa, se incuban en un baño de agua a 60°C con agitación continua por 30 min. Posteriormente se ajusta el pH entre 4.1- 4.5 con ácido acético 3 M y se adicionan 200 µL de solución de amiloglucosidasa y se incuban en un baño de agua a 60°C con agitación continua por 30 min. Se agregan 160 ml (4 volúmenes) de etanol al 95% para precipitar la fibra dietaria soluble y se deja en reposo a temperatura ambiente durante una noche. La solución se filtra usando un crisol que contiene 1 g de celite. El celite se redistribuye uniformemente dentro del crisol usando agua destilada y haciendo succión con la bomba de vacío. El residuo se lava sucesivamente con tres alícuotas de 15 ml de etanol al 78%, dos alícuotas de 15 ml de etanol al 95% y dos alícuotas de 15 ml de acetona. Se seca el crisol conteniendo el residuo en un horno a 105°C por una noche. Un residuo se usa para determinar el contenido de proteína por el método de Kjeldahl usando 6.25 como factor de conversión y el otro para determinar cenizas en una mufla a 525°C por 5 h.

#### **6.2.3.6 Almidón total**

El almidón total se evaluó mediante el kit para almidón total de Megazyme K-TSTA-100A 02/17 (AACC Método 76-13.01; AOAC Método 996.11), el cual se fundamenta en cuantificar la glucosa liberada como resultado de la hidrólisis enzimática con  $\alpha$ -amilasa y amiloglucosidasa termoestables. Se pesaron 100 mg de muestra en un tubo de ensayo, la cual se humedeció con 0.2 ml de etanol al 80% para ayudar a la dispersión y se agitó en un vortex. Se adicionaron 2 ml de KOH 2 M y se mantuvo en agitación por 20 min en un baño de hielo/agua. Posteriormente se agregó 8 ml de buffer acetato de sodio 1.2 M (pH 3.8) a cada tubo con agitación magnética. Inmediatamente se adicionó 0.1 ml de  $\alpha$ -amilasa termoestable y 0.1 ml de amiloglucosidasa y se incubó en un baño de agua a 50°C por 30 min. Se transfirió todo el contenido del tubo a un matraz aforado de 100 ml y se completó el volumen con agua destilada. Se centrifugó una alícuota de la solución a 1800 g por 10 min. Se tomaron por triplicado 0.1 ml del sobrenadante en tubos de ensayo para determinar la cantidad de glucosa liberada por digestión enzimática, mediante el método de glucosa/oxidasa peroxidasa (GOPOD). Se leyeron las absorbancias a 510 nm en un espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS (Thermo Scientific, Equipar).

#### 6.2.4 Aislamiento del almidón

Se estableció un proceso para la extracción de almidón a partir de la harina obtenida de las semillas del árbol del hule el cual se describe a continuación. Se preparó una solución de harina en agua (1:10 p/v) la cual se mantuvo en agitación durante 3 h, se dejó 1 h en reposo, tiempo en el cual la solución se separó en cuatro fases. Por decantación se eliminaron las dos capas superiores. A las capas inferiores se le adicionó NaCl 0.2 M, se mantuvo 30 min en agitación y 1 h en reposo para permitir la separación de fases. Nuevamente se eliminaron por decantación las dos capas superiores. A las capas inferiores (fibra y almidón) se le adicionó 5 volúmenes de agua destilada, la solución se agitó por 3 min y se pasó por tamiz 100 y 270 para retener la fibra. La solución de almidón se centrifugó a  $3000 \times g$  x 10 min. Se hicieron dos lavados más con agua y uno con alcohol a las mismas condiciones. El almidón se secó en un horno a 40°C por 3 horas. Debido a que se obtuvo un producto con elevado porcentaje de proteína se procedió a realizar una extracción de proteínas mediante un método enzimático empleando una proteasa de *Bacillus licheniformis*. Se preparó una solución de almidón. Por cada gramo de almidón, se adicionaron 50 ml de buffer fosfato pH 6.0, se ajustó el pH a 7.5 por adición de NaOH 0.275 N. Inmediatamente antes de usar se preparó una solución de proteasa (50 mg/ml de buffer fosfato) y se adicionó 0.1 ml al almidón. Se mantuvo en incubación a 40°C por 2 h en agitación continua. Después de esto se centrifugó a las condiciones antes mencionadas. Al almidón húmedo se le agregó 10 ml de acetona y se dejó en agitación toda la noche. Al otro día se centrifugó y se hicieron 3 lavados con agua destilada. El sedimento correspondiente al almidón se secó en horno de aire caliente 45°C por 24 h, para posteriormente ser triturado en un mortero hasta un tamaño de partícula de 150  $\mu$ m. El almidón así obtenido fue almacenado a temperatura ambiente en recipiente cerrado.

Se calculó el rendimiento de la extracción de almidón de acuerdo al método de Pérez et al. (1997), el cual considera la eficiencia de extracción del almidón puro a partir del contenido total del mismo en el vegetal.

## **6.2.5 Caracterización fisicoquímica del almidón**

### **6.2.5.1 Composición Química**

La composición química del almidón se llevó a cabo mediante la determinación de humedad, lípidos, cenizas, proteínas, fibra dietética total, almidón total (AT) (ver apartado 6.2.3), almidón dañado y amilosa aparente (AA).

#### **6.2.5.1.1 Almidón dañado**

El porcentaje de almidón dañado se obtuvo empleando el kit para almidón dañado de Megazyme K-SDAM 10/15 (AACC Método 76-31.01). EL método se fundamenta en cuantificar la glucosa liberada debido a la hidrólisis enzimática con  $\alpha$ -amilasa y amiloglucosidasa de los maltooligosacaridos y dextrinas limite que se origina por el daño que sufre el almidón durante el aislamiento. Se pesaron 100 mg de muestra en tubos de centrifuga, se le adicionaron 1 mL de una solución de  $\alpha$ -amilasa fúngica. Se agitó vigorosamente en un vortex por 5 s. Se incubó a 40°C por exactamente 10 min y se adicionó 8 mL de una solución de ácido sulfúrico al 0.2% (v/v) para terminar la reacción enzimática. Se centrifugó a 3 000 rpm por 5 min. Se tomaron alícuotas del sobrenadante de 0.1 mL y se llevaron a 2 tubos de ensayo. Se le adicionaron 0.1 mL de la solución de amiloglucosidasa y se incubaron a 40°C por 10 min. Posteriormente, se le adicionaron 4 mL de GOPOD a cada tubo, y se incubaron a 40°C por 10 min para determinar la cantidad de glucosa liberada. Se leyeron las absorbancias a 510 nm en un espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS (Thermo Scientific, Equipar).

#### **6.2.5.1.2 Amilosa aparente**

El contenido de amilosa aparente se determinó por una modificación de Hoover y Ratnayake, (2001) al método propuesto por McGrance et al. (1998). La amilosa tiene una afinidad de formar complejo con el yodo, con una capacidad de enlazamiento de 20 mg de yodo por 100 mg de amilosa, los complejos producen una coloración azul que puede ser cuantificado colorimétricamente (Buléon et al., 1998). Se disolvieron 50 mg de almidón (bs, base seca) en 8 ml de KOH 1 M, y se agitó por 12 h, posteriormente se ajustó el pH a 7 con HCl. Se aforó a un volumen de 25 ml con agua. Se transfirió 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, se agregaron 40 ml de agua destilada y 5 ml de una solución de I<sub>2</sub>/IK

(0.0025 M I<sub>2</sub> y 0.0065 M KI), se aforó y se dejó reposar por 15 min a temperatura ambiente antes de leer la absorbancia a 600 nm.

La cuantificación de amilosa se realiza por interpolación en una curva estándar preparada usando una mezcla de amilosa y amilopectina (en un intervalo de 0-100 % de amilosa), se reporta en porcentaje y la cantidad de amilopectina se calcula por diferencia.

#### **6.2.5.2 Propiedades térmicas**

Las propiedades térmicas de los almidones se estudiaron empleando calorimetría diferencial de barrido (CDB) en un Calorímetro diferencial de barrido Discovery DSC 250. Los almidones tienen la capacidad de sufrir un cambio o transición cuando son calentados en medio acuoso. La CDB es una técnica termoanalítica que sirve para monitorear éstos cambios, como función de la temperatura, por medio de detección de cambios de calor asociados con el proceso. El principio de la medición es la comparación de la razón de flujo de calor hacia la muestra y un material inerte de referencia, los cuales son calentados a la misma velocidad.

##### **6.2.5.2.1 Gelatinización**

La gelatinización de los almidones se evaluó por el método propuesto por Paredes-López et al. (1994), el cual consistió en pesar 2.2 mg de muestra (en base seca, mínimo tres réplicas) dentro de una charola de aluminio, se le adicionaron 7 µl de agua desionizada. Se selló la charola herméticamente y se dejó equilibrar a temperatura ambiente durante 1 h antes de realizar el análisis. Como referencia se utilizó una charola de aluminio vacía. Transcurrido el tiempo de equilibrio, la muestra se sometió a un programa de calentamiento en un intervalo de temperatura de 0 a 120 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. La temperatura de inicio (T<sub>i</sub>), la temperatura de gelatinización o de pico (T<sub>p</sub>), la temperatura final (T<sub>f</sub>) y la diferencia de entalpía (ΔH) se obtuvieron directamente del análisis realizado con el software TA Instruments TRIOS v4.0.2.30774

### 6.2.5.3 Solubilidad y poder de hinchamiento.

La solubilidad y el poder de hinchamiento se determinó realizando el siguiente procedimiento, se prepararon 10 ml de una suspensión de almidón al 1% (p/v) en base seca en tubos de centrifuga previamente pesados y se introdujo un agitador magnético. Los tubos se colocaron en un baño de agua a temperatura constante (50, 60, 70, 80 y 90°C) con agitación constante durante 30 min. Transcurrido el tiempo se retiraron los tubos del baño de agua y se secaron. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugaron a 2500 rpm por 15 min. Enseguida se recolectó el sobrenadante en una charola de aluminio y se secó hasta peso constante para cuantificar la fracción soluble. Los tubos conteniendo el residuo se pesaron para determinar el poder de hinchamiento.

Para realizar los cálculos se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ Solubilidad} = \frac{\text{Peso solubles (g)} \times 100}{\text{Peso muestra (g)}_{bs}}$$

$$\text{Poder de hinchamiento} = \frac{\text{Peso del gel (g)}}{\text{Peso muestra (g)}_{bs} - \text{Peso solubles (g)}}$$

### 6.2.5.4 Perfil de Formación de pasta

Se preparó una dispersión de almidón al 10% (p/v) en base seca y se transfirieron 30 ml a la celda de almidón del Reómetro Discovery HR-2 hibrid rheometer. Para determinar el perfil de formación de pasta la muestra se sometió a un ciclo de calentamiento-cocción-enfriamiento. La temperatura inicial fue de 30°C la cual se mantuvo por 60 s, posteriormente se realizó un calentamiento hasta 90°C a una velocidad de 15°C/min, se mantuvo a 90°C durante 360 s (cocción) y finalmente se enfrió hasta 30°C (a una velocidad de 30°C/min), manteniéndose a esta temperatura por 420 s. Se utilizó el software 5332-1679: TA Instruments TRIOS v4.0.2.30774 para obtener los parámetros de temperatura de pasta, tiempo de pico, pico de viscosidad, viscosidad de caída y viscosidad final a partir de la curva de pasteo.

## **6.2.6 Caracterización morfológica**

### **6.2.6.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)**

La microscopía electrónica de barrido (MEB) provee una mayor perspectiva de la superficie del gránulo de almidón así como de su morfología. Se utilizó el método reportado por Paredes-López et al., (1989). La muestra de almidón se espolvoreó sobre una cinta conductora de cobre de doble adhesión, la cual se fijó previamente en un soporte de aluminio del microscopio electrónico de barrido JEOL (Japan Electronic Optical Limited, Modelo, JSEM 35CX, Japón). La muestra se cubrió con una capa de carbón de 30 nm. La muestra se colocó en el ionizador de metales JEOL y se recubrió con una capa de oro de 60 nm. La muestra fue observada en el microscopio electrónico de barrido a un voltaje de 8 kV y se tomaron las fotografías.

### **6.2.6.2 Distribución de tamaño de partícula**

El tamaño de gránulo será determinado por análisis de difracción de rayos láser (Malvern Mastersizer 2000, Malvern Instruments Ltd., Malvern, Worcestershire, UK). Los almidones serán analizados usando el módulo Sirocco 2000. Las mediciones se llevaron a cabo por triplicado a temperatura ambiente. El tamaño de partícula se expresó como diámetro mediano D [v, 0.5], el cual es el diámetro volumen equivalente a un valor de la frecuencia acumulada de 50% y distribución de volumen (Malvern Instruments Ltd., 1990).

## **6.2.7 Caracterización estructural**

### **6.2.7.1 Difracción de rayos-X**

Las muestras se colocaron sobre el portamuestras del difractómetro de rayos X (Bruker D8-Advance) de ángulo ancho, equipado con una fuente de cobre operado a 40 KV y 30 mA, produciendo una radiación de CuK $\alpha$  con una longitud de onda de 1.54 Å. Los datos se colectaron en un intervalo de 5 a 50° cada 0.1°, con una velocidad de barrido de 60 s/°. El porcentaje de cristalinidad se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Cristalinidad} = \frac{ACD}{ATD} \times 100$$

Donde

ACD= área cristalina dispersada

ATD= área total dispersada

## **6.2.8 Análisis reológico**

### **6.2.8.1 Método viscosimétrico (curvas de flujo)**

Se prepararon dispersiones de almidón al 5 % (p/v) en base seca, se analizaron en un Reómetro Discovery HR-2 hibrid rheometer, con un sistema de cono placa, de 40 mm de diámetro y un espesor de muestra de 500  $\mu\text{m}$ . Se realizaron las mediciones a 25 °C (después de un calentamiento de 25 °C hasta 90 °C y posteriormente enfriando a 25 °C, empleando una velocidad de calentamiento-enfriamiento de 5 °C/min). Se realizaron mediciones en dos ciclos: ascendente y descendente de 0.03 a 100 s<sup>-1</sup>, y un tercer barrido descendente de 100 a 0.03 s<sup>-1</sup>. En los datos obtenidos del tercer ciclo se aplicó la ecuación de la ley de la potencia de Ostwald-de Waele en función del esfuerzo de corte ( $\tau$ ), donde  $\gamma = f(\tau)$ , para calcular los parámetros de índice de consistencia ( $K$ , Pa.s<sup>n</sup>) e índice de comportamiento de flujo ( $\eta$ , adimensional), con lo que se definió el comportamiento del fluido (Steffe, 1992; Tecante y Doublier, 1999). Se utilizó el software 5332-1679: TA Instruments TRIOS v4.0.2.30774.

### **6.2.8.2 Método dinámico**

#### **6.2.8.2.1 Cinética de gelatinización-gelificación**

Para realizar esta prueba se prepararon dispersiones de almidón al 5 % (p/v) en base seca, empleando agua destilada. Sus propiedades viscoelásticas se midieron realizando pruebas oscilatorias de baja amplitud en un reómetro Discovery HR-2 hibrid rheometer empleando un sistema de cono placa, de 40 mm de diámetro con un espesor de muestra de 500  $\mu\text{m}$ . Primero se realizaron los barridos de amplitud de deformación en un intervalo de 0.1 a 10 %, a una frecuencia constante de 1 Hz, en un ciclo de calentamiento de 25 a 90 °C – cocimiento por 10 min a 90 °C (primera etapa de medición), - enfriamiento de 90 °C a 25 °C (segunda etapa de medición), para determinar la región viscoelástica lineal (RVL). Posteriormente se realizaron barridos de frecuencia en un intervalo de 0.1 a 10 Hz, con una amplitud de la deformación constante del 5 %, en ambas etapas previamente descritas. Se

evaluaron en cada etapa los parámetros: módulo de almacenamiento ( $G'$ ), módulo de pérdida ( $G''$ ), tangente del ángulo de desfase ( $\tan \delta$ ) y viscosidad compleja  $|\eta^*|$  (Pa.s) mediante el software 5332-1679: TA Instruments TRIOS v4.0.2.30774.

#### **6.2.9 Análisis estadístico**

Los datos reportados son promedios de tres replicas ( $\pm$  error estándar). Se sometieron a un análisis de varianza de una sola vía (ANOVA), y se usó una prueba de Tukey para determinar diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), haciendo uso del paquete estadístico Minitab 17.

## **7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **7.1 Recolección y caracterización física de las semillas**

Se recolectaron 12 kg de semillas de las plantaciones de árbol del hule que se encuentran en la Universidad del Papaloapan campus Tuxtepec eligiendo las que no presentaban daños en la cáscara.

Las semillas del árbol del hule (SAH) presentaron un tamaño promedio de 27.73 mm de ancho, 24.17 mm de longitud y 18.96 mm de grosor. Las semillas enteras presentaron un peso promedio de 5.02 g, del cual el 63% (3.18 g) corresponde al grano y el 37% (1.84 g) a la cáscara (Tabla 2).

Ravindran y Ravindran en 1988 reportaron que el peso de las SAH varía entre 3.1 a 6.3 g, pero la gran mayoría de las semillas pesan cerca de la media de 4.8 g. Ellos relacionaron la variación en el peso de las semillas en parte a los contenidos de humedad de los granos. La cáscara representó el 42-51% y el grano el 49-58% del peso total de la semilla. Para otros autores la proporción del grano es aproximadamente el 50% del peso total de la semilla (Duong, 2003).

En este trabajo el peso promedio de las semillas está en el intervalo de lo reportado por Ravindran y Ravindran (1988), pero el peso promedio del grano representó un mayor porcentaje con respecto a la cáscara. Como se puede observar las pequeñas diferencias en pesos o medidas puede atribuirse al tipo y origen de las semillas, y además estar influenciadas por las condiciones locales del cultivo.

### **7.2 Obtención de la harina**

Durante el proceso para la obtención de la harina, se determinó el contenido de humedad en la semilla fresca el cual fue de 45.54%; Ravindran y Ravindran (1988) reportaron un 28.9% de humedad en el grano de la SAH; esta diferencia se puede atribuir a la alta humedad de la región de Tuxtepec y podría estar influenciando el peso promedio de la semilla. Las semillas almacenadas a temperatura ambiente son propensas a la contaminación fúngica, por

**Tabla 2.** Caracterización física de la semilla del árbol del hule (*Hevea brasiliensis*)

| <b>Medidas de la semilla (mm)</b> |              | <b>Peso de la semilla (g)</b> |             |
|-----------------------------------|--------------|-------------------------------|-------------|
| <b>Ancho</b>                      | 27.73 ± 2.02 | <b>Entera</b>                 | 5.02 ± 0.66 |
| <b>Longitud</b>                   | 24.17 ± 1.32 | <b>Cáscara</b>                | 1.84 ± 0.22 |
| <b>Grosor</b>                     | 18.96 ± 0.98 | <b>Grano</b>                  | 3.18 ± 0.56 |

Todos los valores son el promedio de un número de muestra N=100 ± desviación estándar.



**Figura 11.** Pasos para la obtención de la harina a partir de las SAH

a) Semillas frescas. b) semillas peladas. c) semillas secas. d) harina

lo que es recomendable que éstas presenten un contenido de humedad del 7% o menor para el almacenamiento (Ebewe et al., 2010), por lo que se sometió a un proceso de secado con lo cual se redujo el contenido de humedad a 3.86%.

Se obtuvieron 4 kg de harina a partir de 7.56 kg de semillas sin cáscara, lo que da un rendimiento del 52.91%.

### **7.3 Caracterización química de la harina**

Se llevó a cabo la determinación de la composición química de la harina obtenida de las semillas del árbol del hule (HSAH), y los resultados se muestran en la tabla 3.

El contenido de humedad de la HSAH fue de 3.86 g/100g; los valores encontrados son similar a valores reportados de 3% (Ukhun y Uwatse, 1988), 3.71% (Ikwuagwu et al., 2000), 3.9% (Onwurah et al., 2010), 3.99% (Eka et al., 2010), 4.3% (Hossain et al., 2015) y difiere un poco de otras investigaciones con contenidos más altos de 9.4% (Babatunde et al., 1990) y 8.5% (Devi et al., 2012), lo cual está en relación con el proceso de secado.

El contenido de cenizas determinado en este estudio fue de 3.27 g/100g, la determinación de cenizas es referida como el análisis de residuos inorgánicos (minerales) que quedan después de la ignición u oxidación completa de la materia orgánica. Este valor fue similar a estudios anteriores con porcentajes de 3.6% (Ravindran y Ravindran, 1988), 3.1% (Ly et al., 2001), 3.1% (Mmereole, 2008), 3.08% (Eka et al., 2010) y fue ligeramente mayor a los valores reportados de 2.4% (Giok et al., 1967), 2.71% (Ikwuagwu et al., 2000), 2.6% (Onwurah et al., 2010), 2.5% (Devi et al., 2012) y 1.8% (Hossain et al., 2015). Generalmente, los diversos niveles de los minerales en la semilla de hule pueden deberse a factores agronómicos, genéticos y a factores relacionados con la absorción del suelo por el árbol y la posterior incorporación en las semillas.

En cuanto al contenido de lípidos, el valor obtenido en este estudio fue de 43.44 g/100g. Los lípidos son las formas principales de almacenamiento energético en las semillas. En las semillas ricas en lípidos (oleaginosas) éstos se encuentran almacenados como

**Tabla 3.** Composición química de la harina de la semilla del árbol del hule  
(*Hevea brasiliensis*)

|                                       | <b>Contenido (g/100g)</b> |
|---------------------------------------|---------------------------|
| <b>Humedad</b>                        | $3.86 \pm 0.10^a$         |
| <b>Cenizas</b>                        | $3.27 \pm 0.03^b$         |
| <b>Lípidos</b>                        | $43.44 \pm 0.60^b$        |
| <b>Proteínas<sup>¶</sup></b>          | $26.09 \pm 0.16^b$        |
| <b>Carbohidratos (por diferencia)</b> | $27.20^b$                 |
| <b>Almidón total</b>                  | $13.14 \pm 0.69^b$        |
| <b>Fibra Dietaria</b>                 | $14.21 \pm 0.14^b$        |

Todos los resultados son el promedio de tres determinaciones  $\pm$  error estándar

(<sup>a</sup>)Base húmeda y (<sup>b</sup>) base seca

¶ Factor de conversión 6.25

triglicéridos en pequeñas esferas o vesículas, que también se encuentran unidas a algunas proteínas llamadas oleosinas, en donde su función principal consiste en anclar a las enzimas lipasas, las cuales se encargan de degradar a los lípidos durante la germinación. De manera general se ha encontrado que el contenido de lípidos reportado es de 40-50% (Ravindran y Ravindran, 1988). Por ejemplo, se han reportado valores de 50.2% (Ravindran y Ravindran, 1988), 45.63% (Ikwuagwu et al., 2000), 42.5% (Onwurah et al., 2010) y 48.5% (Devi et al., 2012). Eka et al. (2010) encontró mayor cantidad de lípidos (68.53%), sin embargo también se han reportado contenidos más bajos de 32.3% (Giok et al., 1967), 28.8% (Babatunde et al., 1990), 28.4% (Ly et al., 2001), 10.1% (Mmereole, 2008) y 11% (Hossain et al., 2015).

El porcentaje de proteínas encontrado en este estudio fue de 26.09 g/100g; las proteínas de las semillas, son proteínas de almacenamiento, las cuales se acumulan a altos niveles en las semillas en desarrollo y son rápidamente degradadas durante la germinación de las semillas para proveer de una fuente de nitrógeno a la plántula que emerge. De acuerdo a la literatura el contenido promedio de proteínas en las SAH está entre 19 y 23% (Ravindran y Ravindran, 1988; Ikwuagwu et al., 2000; Onwurah et al., 2010). Sin embargo difieren con otros estudios que encontraron mayor contenido de proteínas como Giok et al., 1967 (27%), Babatunde et al., 1990 (28.3%), Mmereole, 2008 (34.1%); y de otros donde el contenido fue menor: Ly et al., 2001 (14.9%), Eka et al., 2010 (17.41%) y Devi et al., 2012 (17.6%). Estas variaciones en contenido de proteínas se atribuyen principalmente al tipo de semilla y el origen, además de las condiciones locales para el cultivo, cosecha, almacenamiento y pre-tratamiento que se le dio en cada estudio.

El contenido de carbohidratos fue determinado por diferencia, obteniéndose un contenido de 27.20 g/100g similar a los valores reportados por Ikwuagwu et al. (2000) de 24.21%, Onwurah et al. (2010) de 28.7% y Devi et al. (2012) de 22.9%. Algunos estudios reportan un contenido de carbohidratos mayor (34.7-56.8%) (Giok et al., 1967; Ly et al. 2001; Hossain et al. 2015). Se determinó un contenido de almidón total presente en la HSAH de 13.14 g/100g, el cual se encuentra en semillas como forma de reserva de energía. Los carbohidratos presentes en la SAH no son tan altos comparados con las cantidades que presentan cereales como el maíz, trigo, arroz o tubérculos como la papa, los cuales son considerados fuentes convencionales de almidón. Sin embargo la ventaja de estas semillas es

que son un subproducto del árbol del hule completamente desaprovechadas y que pueden presentar propiedades funcionales atractivas para la industria.

#### **7.4 Aislamiento del almidón**

Se estableció un método que nos permitió obtener almidón a partir de la HSAH, la cual presenta un alto contenido de lípidos y proteínas (como se observa en la tabla 3) en comparación con otras fuentes de obtención como el maíz (que presenta un 70-75% de almidón) donde el almidón es el componente mayoritario. Debido a esto el proceso de aislamiento de almidón no resultó sencillo ya que se dificultó eliminar la proteína que se encuentra fuertemente asociada al gránulo de almidón. Lindeboom et al. (2004), menciona que el aislamiento de almidón de tamaño de gránulo pequeño a escala de laboratorio ha sido problemático debido a que por lo general estos gránulos tienen un alto contenido de proteínas y una porción de la fracción de almidón de gránulos pequeños se pierde durante el aislamiento. Algunos investigadores han degradado la proteína enzimáticamente, seguido de la separación de los péptidos y almidón por centrifugación (Radosavljevic et al., 1998; Wang y Wang, 2001), por lo que se recurrió a emplear un método enzimático (proteasa) que nos permitiera remover la mayor cantidad de proteína posible. Cabe resaltar que se evitó en lo posible el uso de solventes (para un proceso más amigable con el medio ambiente) como el éter de petróleo o tolueno que son utilizados comúnmente para arrastrar lípidos; en su lugar se utilizó agua la cual permitió separar el mayor contenido de lípidos por diferencia de polaridad. Se obtuvo un producto con apariencia de un polvo fino de color blanco (ligeramente grisáceo).

La HSAH presentó un rendimiento de almidón de 64.71 g/kg, lo que equivale al 6.47%. En base al contenido de almidón total presente en 1 kg de harina, que equivale a 131.4 g, se obtuvieron 64.71 g de almidón, lo que da un rendimiento de 49.25%.

El proceso de extracción de almidón debe adecuarse dependiendo de la fuente botánica. Los diferentes procedimientos de extracción pueden afectar la composición química y las propiedades físicas del almidón. (Singh et al 1997).

## 7.5 Caracterización fisicoquímica del almidón

### 7.5.1 Composición química

Se llevó a cabo la determinación químico proximal del almidón obtenido, debido a que es importante conocer la pureza del almidón al momento de evaluar las propiedades funcionales, ya que estas pueden verse afectadas por ciertas impurezas presentes.

En la tabla 4 se muestra el contenido de los componentes químicos del almidón. La humedad en el almidón de las semillas del árbol del hule (ASAH) fue de 8.93 g/100g, similar a lo reportado por Mendez-Montevalvo (2006) de 8.5% para almidón de maíz, quien asocia este valor con el procedimiento para el aislamiento del almidón. El contenido de cenizas fue de 0.97 g/100g, el cual fue ligeramente mayor a los valores reportados para almidones comerciales de maíz (0.5 %) (Hernández-Lauzardo et al., 2004), pero se encuentra entre los valores de contenido de cenizas en almidones (0.07- 1.4%) según Guilbot y Mercier (1985).

De acuerdo a Beynum y Roels (1985), las cenizas en los almidones están compuestas principalmente por fósforo, sodio, potasio, magnesio y calcio. Las proteínas y lípidos son componentes que en general están presentes en cantidades mínimas en el almidón (0.06- 0.53% y 0.05- 0.8% respectivamente) (Guilbot y Mercier, 1985). Las proteínas pueden ser proteínas de reserva de la semilla o proteínas que están asociadas al gránulo de almidón, como son las enzimas de su biosíntesis (Baldwin, 2001). Independientemente del origen están incrustadas dentro de la matriz de los gránulos (Appelqvist y Debet, 1997). En el caso de lípidos, éstos pueden ser lípidos internos del gránulo, los cuales forman complejos con la amilosa (Morrison, 1995).

El contenido de proteínas en el ASAH fue de 10.13 g/100g. Méndez-Montevalvo (2006), reportó un contenido de proteína de 7.1% en almidón de maíz. Esto nos indica que además de la naturaleza de la fuente de extracción, el proceso de aislamiento es un punto clave en la obtención de un almidón de elevada pureza. El contenido de lípidos encontrado en este estudio fue de 0.25 g/100g, similar al de Méndez-Montevalvo (2006) de 0.3% en almidón de maíz, valores que se encuentran dentro del intervalo de 0.05- 0.8% recomendado por Guilbot y Mercier en 1985.

**Tabla 4.** Composición química del ASAH

|                                       | <b>Contenido (g/100g)</b> |
|---------------------------------------|---------------------------|
| <b>Humedad</b>                        | 8.93 ± 0.13 <sup>a</sup>  |
| <b>Cenizas</b>                        | 0.97 ± 0.06 <sup>b</sup>  |
| <b>Lípidos</b>                        | 0.25 ± 0.09 <sup>b</sup>  |
| <b>Proteínas<sup>¶</sup></b>          | 10.13 ± 0.43 <sup>b</sup> |
| <b>Carbohidratos (por diferencia)</b> | 88.65 <sup>b</sup>        |
| <b>Fibra Dietaria</b>                 | 12.11 ± 0.16 <sup>b</sup> |

Todos los resultados son el promedio de tres determinaciones ± error estándar

(<sup>a</sup>)Base húmeda y (<sup>b</sup>) base seca

¶ Factor de conversión 6.25

## **7.5.2 Almidón total, almidón dañado y amilosa aparente.**

### **7.5.2.1 Almidón total**

El grado de pureza de un almidón está determinado por el contenido de almidón total. En la tabla 5 se muestra el contenido de almidón total en el ASAH y el almidón de maíz (AM) que se tomó a modo de comparación. Para el ASAH fue de 70.72 g/100g, un contenido más bajo que para el AM (83.97 g/100g) esto debido al alto contenido de otros componentes como la proteína que no permitió que se obtuviera un producto con mayor pureza.

Se han reportado diferentes porcentajes de pureza en almidón de maíz, estimada como almidón total: Krieger et al. (1998) reportaron un contenido de almidón entre 70.6 y 73.0%; Méndez-Montecalvo (2005) encontró en maíces híbridos un intervalo de almidón total entre 69.1-86%; Agama-Acevedo (2006) reportó un contenido de almidón para maíz azul 79.81% y maíz negro 79.11%; Utrilla-Coello et al., (2009) aisló almidón a partir de maíz azul con una pureza del 84.1 % y de 78.7% para el almidón de maíz blanco; Palma- Rodríguez et al., (2012) aisló almidón de arroz con una pureza de 69.26 g/100g y determinó el contenido de almidón total en almidones comerciales de maíz (74.12 g/100g) y papa (74.08 g/100g). Estas diferencias están en función de la composición de la muestra y al proceso de aislamiento utilizado en cada una.

### **7.5.2.2 Almidón dañado**

El almidón dañado es una parte del almidón, el cual se rompe mecánicamente durante el proceso de aislamiento del almidón y esto ocurre durante el proceso de molienda, donde se rompen enlaces de hidrógeno y enlaces covalentes dentro de las moléculas de almidón. Debido a que estos gránulos dañados se hidratan fácilmente y son más susceptibles a la hidrólisis amilolítica, contribuyen significativamente a la absorción de agua y a algunas propiedades reológicas (Gibson et al, 1992). Se determinó para las dos muestras de almidón el porcentaje de almidón dañado el cual fue de 8.70 g/100g para el ASAH y de 0.61 g/100g para el AM. Según Viot (1992), los gránulos de almidón son dañados durante el proceso de molienda de un 5 a 12%. El porcentaje de daño en el ASAH no fue muy alto y este pudo deberse al tratamiento adicional para la extracción de proteínas.

**Tabla 5.** Composición química del ASAH y AM.

|                         | <b>Contenido (g/100g)</b> |                           |
|-------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                         | ASAH                      | AM                        |
| <b>Almidón total</b>    | 70.72 ± 0.64 <sup>a</sup> | 83.97 ± 2.81 <sup>b</sup> |
| <b>Almidón dañado</b>   | 8.70 ± 0.21 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.00 <sup>b</sup>  |
| <b>Amilosa aparente</b> | 16.03 ± 0.16 <sup>a</sup> | 26.64 ± 0.54 <sup>b</sup> |
| <b>Amilopectina</b>     | 83.97 ± 0.19 <sup>a</sup> | 72.75 ± 0.71 <sup>b</sup> |

Los resultados son el promedio de tres determinaciones ± error estándar; base seca.

Valores con letras diferentes en la misma fila son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

### **7.5.2.3 Amilosa aparente**

El almidón está conformado por la amilosa y la amilopectina. La proporción de estos dos componentes del almidón y su organización física dentro de la estructura granular confiere las propiedades fisicoquímicas y funcionales que son típicas de los almidones, ya que la amilosa es la responsable de la formación y estabilidad de los geles y la amilopectina de impartir viscosidad (Biliaderis, 1991). Los almidones con un alto contenido de amilopectina pueden formar geles con una baja tendencia a la retrogradación (BeMiller, 1993). Esta proporción depende de la fuente botánica de origen, por ejemplo el contenido de amilosa/amilopectina (%) de almidón de papa es 20/80, maíz 24/76, trigo 25/75, yuca 16/84, arroz 19/81 y plátano 27/73.

En este estudio el ASAH presentó un contenido de amilosa aparente de 16.03 g/100g y para el AM fue de 26.64 g/100g. Por su contenido de amilosa Tester et al. (2004) clasifica los almidones como “normales” cuando tienen del 15-35% de amilosa por lo que ambos almidones pueden clasificarse como un almidón normal. Por diferencia se calculó el contenido de amilopectina el cual fue de 83.97 g/100g para el ASAH y de 72.75 g/100g para AM. El contenido de amilosa del ASAH es similar al reportado para almidones de trigo sarraceno (12.4-17.1 %), quinoa (10-21%), sorgo (14-23.7 %), los cuales presentan también tamaño de granulo pequeño (2-20  $\mu\text{m}$ ) (Lorenz & Coulter, 1991; Sang et al., 2008; Christa et al 2009). El contenido de amilosa del almidón varía con la fuente botánica y es afectado por las condiciones climáticas y tipo de suelo durante el crecimiento. La actividad de las enzimas involucradas en la biosíntesis del almidón puede ser responsable de la variación en el contenido de amilosa entre diferentes almidones, así como los distintos procedimientos de aislamiento y los métodos analíticos usados para determinar el contenido de amilosa (Singh et al., 2003).

### **7.5.3 Propiedades térmicas**

Las propiedades térmicas del ASAH y del AM se muestran en la tabla 6. La temperatura de inicio de gelatinización fue de 70.03 °C para el ASAH, mientras que para AM de 69.16 °C. La temperatura pico de gelatinización ( $T_p$ ) en el ASAH fue de 75.66 °C,

ligeramente mayor a la del AM que fue de 74.62 °C. Noda et al. (1998) reportaron que la temperatura de gelatinización es influenciada por la arquitectura molecular de la región cristalina, la cual corresponde a la distribución de las cadenas cortas de la amilopectina (GP 6-11). Esto puede estar relacionado con el patrón de difracción de rayos X presentado por el ASAH, además de que tiene un mayor contenido de amilopectina, aunque la diferencia no se hace tan evidente debido a la presencia de proteínas de la muestra. Hernández-Lauzardo et al., (2002) determinaron la temperatura de gelatinización para maíz comercial (73 °C) y para un híbrido (74 °C), Bello-Pérez et al., 2006 reportaron una  $T_p$  de 73°C en almidón de maíz, valores que son similares a los del AM de este estudio y Palma- Rodríguez et al., 2012 obtuvieron una  $T_p$  en almidón de maíz de 70.43°C, ligeramente por debajo de los otros estudios. La  $T_p$  es importante especialmente para determinar condiciones en el procesamiento de productos donde se emplea almidón (Aparicio-Saguilán et al., 2006), por ejemplo almidones con  $T_p$  alta pueden emplearse en la elaboración de productos donde se requieren altas temperaturas. Los almidones no presentaron diferencia estadística significativa en ninguno de los parámetros analizados ( $T_i$ ,  $T_p$ ,  $T_f$ ,  $I_G$ ) a excepción de la entalpía ( $\Delta H$ ). La  $\Delta H$  de gelatinización fue de 6.93 J/g para ASAH y 12.19 J/g para AM. La entalpía de gelatinización indica la cantidad de energía requerida para que se lleve a cabo la disociación de las dobles hélice en la gelatinización, por lo que proporciona información sobre la cristalinidad (calidad y cantidad de los cristales) (Cooke y Gidley, 1992; Hoover y Vansanthan, 1994). Gernat et al., (1993) establecieron que la cantidad de las dobles hélices y la cristalinidad en almidones nativos está relacionado con el contenido de amilopectina. Espinosa-Solis et al., (2009) menciona que altas entalpías de gelatinización son debidas a la presencia de cadenas largas en la molécula de amilopectina, indicando un mayor arreglo de las dobles hélices. A pesar de que el ASAH tiene mayor porcentaje de amilopectina que el AM, presenta una menor cristalinidad que se corrobora con el estudio de Difracción de rayos X, por esta razón además del mayor porcentaje de almidón dañado, los cristales en el ASAH pueden tener un menor arreglo de las dobles hélices que en el AM, por lo tanto presentar una menor entalpía de gelatinización. Se han reportado entalpías en almidón de maíz de 12.1 J/g (Singh et al., 2003); 13. J/g (Bello-Pérez et al., 2006) y 11.20 J/g (Palma- Rodríguez et al., 2012), valores que son similares al del AM de este estudio.

**Tabla 6.** Propiedades térmicas del ASAH y AM obtenidas por calorimetría diferencial de barrido.

|             | Temperatura de inicio de gelatinización (Ti, °C) | Temperatura pico de Gelatinización (Tp, °C) | Temperatura final de gelatinización Uwt(Tf, °C) | $\Delta H$ (J/g)              | Intervalo de Gelatinización (Ig°C) |
|-------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| <b>ASAH</b> | 70.03 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>                    | 75.66 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>               | 81.43 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>                   | 6.93 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>  | 11.40 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>      |
| <b>AM</b>   | 69.16 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>                    | 74.62 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>               | 80.69 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>                   | 12.19 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup> | 11.52 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>      |

Los resultados son el promedio de tres determinaciones  $\pm$  error estándar.

Valores con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

El intervalo de gelatinización es un indicador de la heterogeneidad de los cristales del almidón. Jennings (2002) reportó que a una mayor distribución de tamaño del gránulo, el intervalo de gelatinización es mayor. En este trabajo los almidones analizados no presentaron diferencia estadística en los intervalos de gelatinización como se mencionó anteriormente, el  $I_G$  fue de 11.40 y 11.52°C para el ASAH y AM respectivamente.

#### **7.5.4 Solubilidad y poder de hinchamiento.**

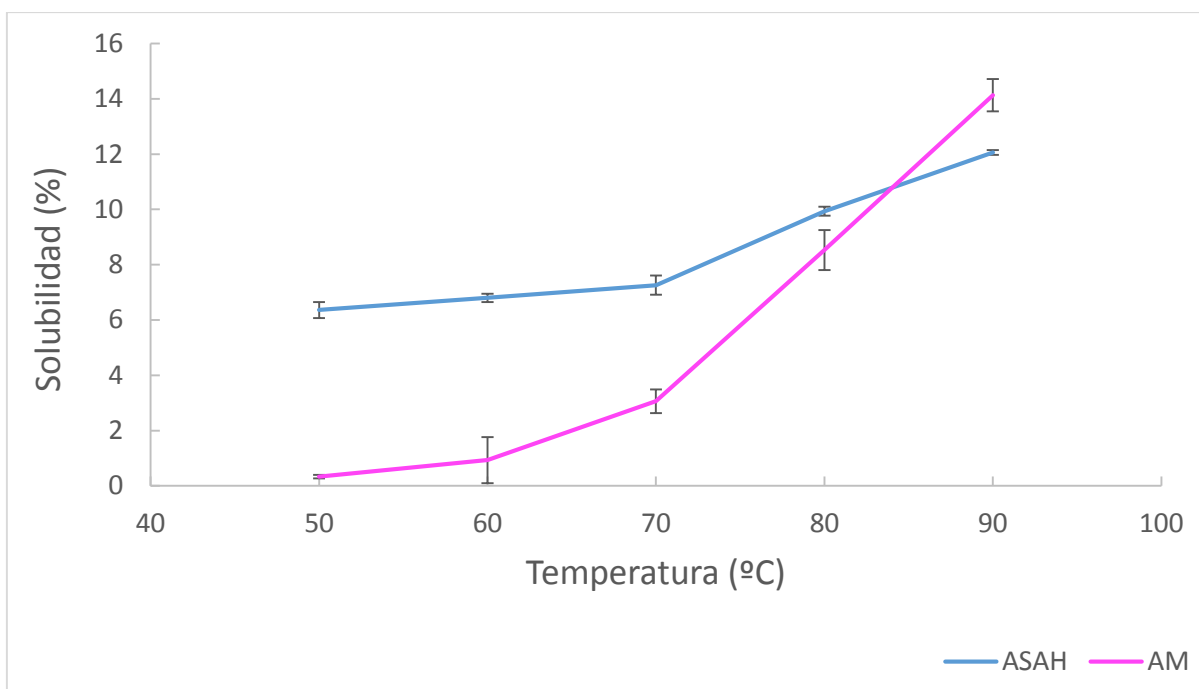
En la figura 12 se presenta el efecto de la temperatura sobre la solubilidad y el poder de hinchamiento de los almidones estudiados. Los resultados de solubilidad se presentan en la Figura 12a, en general, cuando la temperatura aumentó, se produjo un incremento gradual en los valores de solubilidad. La solubilidad del ASAH fue mayor que la del AM en las tres primeras temperaturas evaluadas (50-70°C), esta diferencia puede ser debido al tamaño del gránulo, ya que se ha reportado que los gránulos pequeños tienen una mayor solubilidad en agua y una alta capacidad de absorción de agua (Singhal y Kulkarni, 1990), aunque otra posible explicación puede estar en función del almidón dañado, el ASAH tiene un 8.7% de almidón dañado, el cual puede estar influyendo en la solubilidad del almidón a temperaturas por debajo de la temperatura de gelatinización. A los 80°C se presentó un incremento más notorio en la solubilidad del AM, aunque no hubo diferencia estadística significativa entre las dos muestras, a esta temperatura ya se llevó a cabo la gelatinización en los dos almidones, lo cual permitió la liberación de la amilosa. En la temperatura final (90°C) la solubilidad continuó aumentando y fue ligeramente mayor la del AM, esto se puede explicar en base al contenido de amilosa de cada almidón, ya que el AM presenta mayor porcentaje que el ASAH y se conoce que la lixiviación de la amilosa durante la gelatinización del almidón es la principal responsable del incremento en la solubilidad.

En el caso del poder de hinchamiento (figura 12b), los valores también aumentaron conforme la temperatura se incrementó, de 50 a 60 °C no hubo cambios notables en el hinchamiento de ambas muestras. A los 80°C, las muestras incrementaron su valor significativamente. El ASAH presentó valores más altos de hinchamiento que el AM de 50 a 70°C, el AM lo presentó a los 80°C, y concluyeron con un valor cercano (17.21 g H<sub>2</sub>O/g muestra en ASAH y 16.81 g H<sub>2</sub>O/g muestra en AM) de hinchamiento a los 90°C. De manera

general, el hinchamiento del almidón incrementa con la temperatura debido a que entre más alta sea mayor será la movilidad del agua y por lo tanto se provoca una difusión de la misma al gránulo de almidón (Roos, 1995). Se han reportado patrones similares de hinchamiento para almidones de maíz comerciales, para los cuales a las temperaturas más altas probadas se obtuvieron valores de hinchamiento de 15 g de agua/g de materia seca (Bello-Pérez et al., 2005b), similares a los encontrados en este estudio.

El poder de hinchamiento es una propiedad que indica el grado de hinchamiento de los gránulos individuales de almidón en un proceso hidrotérmico, donde las moléculas de agua se ligan por enlaces de hidrogeno a los grupos hidroxilo expuestos de la amilosa y amilopectina. Sin embargo, es una propiedad que está estrechamente relacionada con el contenido de amilopectina, siendo la amilosa un diluyente e inhibidor del hinchamiento (Cheng et al., 1996). Hernandez-Medina et al. (2008), reportaron que el almidón de yuca, que tenía un 17% de amilosa y 83% de amilopectina, presentó un poder de hinchamiento mayor en comparación con otras fuentes botánicas cuyo contenido de amilopectina era menor. Aunado a esto, se ha reportado que los gránulos pequeños pueden absorber mayor cantidad de agua que los gránulos grandes debido a la mayor área de contacto (Millán-Testa et al., 2005).

(a)



(b)

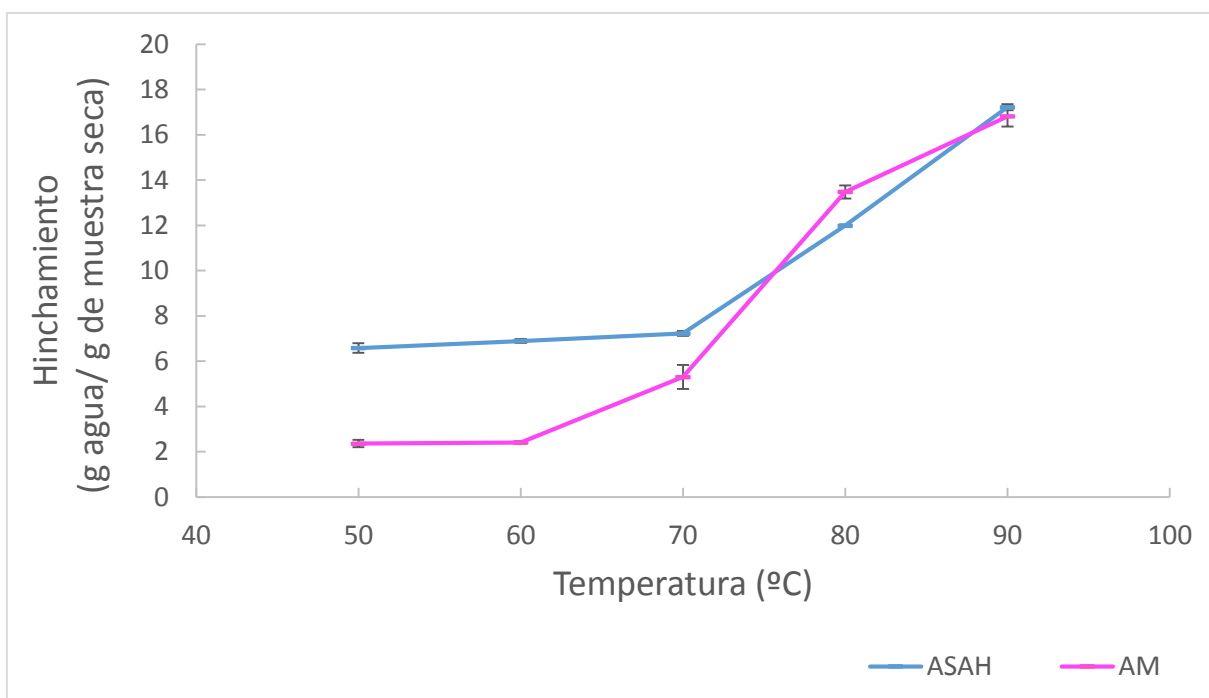


**Figura 12.** Patrones de solubilidad (a) e hinchamiento (b) en ASAH y AM.

### 7.5.5 Perfil de Formación de Pasta

Las propiedades de formación de pasta proporcionan información sobre el comportamiento y cambios morfológicos que ocurren en los gránulos de almidón durante el calentamiento, que dependen de la concentración de almidón, el perfil de temperatura y la fuerza de cizallamiento aplicada durante la medición (Rincón-Londoño et al., 2016). Los perfiles de formación de pasta de los almidones estudiados se muestran en la figura 13. En la primera etapa de calentamiento (30-90°C) se presentó un incremento gradual en la viscosidad hasta llegar a un punto máximo (viscosidad máxima o viscosidad pico). Como se observa la viscosidad pico del ASAH (1.67 Pa.s) fue ligeramente mayor al del AM (1.61 Pa.s). La viscosidad pico o viscosidad máxima depende del poder de hinchamiento que tienen los gránulos antes de su rompimiento físico (Singh et al., 2003); estos resultados tan semejantes en la viscosidad pico concuerdan con los patrones de hinchamiento (figura 12-b) donde a los 90°C los dos almidones presentaron casi el mismo poder de hinchamiento, y de igual manera el ASAH tuvo un ligero valor por encima del AM. Los valores de temperatura de formación de pasta fueron muy similares para las dos muestras: 90.5°C para el ASAH y 91.0°C para el AM, lo que indica que ambos almidones requieren casi la misma temperatura para alcanzar la máxima viscosidad, al igual que sucedió en la temperatura de gelatinización que fue semejante en los dos almidones. En cuanto al tiempo para alcanzar la viscosidad pico en el ASAH fue a los 384 s, un poco más que en el AM que fue a los 348 s.

Durante la fase isotérmica a 90°C la viscosidad disminuyó debido a la disociación del gránulo. En la etapa de enfriamiento (90-30°C) la viscosidad aumentó nuevamente debido a la reorganización de las cadenas (principalmente amilosa) lixiviadas en las etapas previas, lo cual produjo un mayor número de entrecruzamientos, originando una red que retuvo una gran cantidad de moléculas de agua, durante la formación de la pasta (Mali et al., 2003; Gimeno et al., 2004). La viscosidad final en el AM (2.68 Pa.s) fue mayor que en el ASAH (1.83 Pa.s), estos valores son indicativos de la tendencia a la retrogradación del almidón y se relaciona con el contenido de amilosa ya que el desarrollo de la red para formar el gel es debido a que sus cadenas lineales se orientan paralelamente por puentes de hidrógeno (Karim et al., 2000).

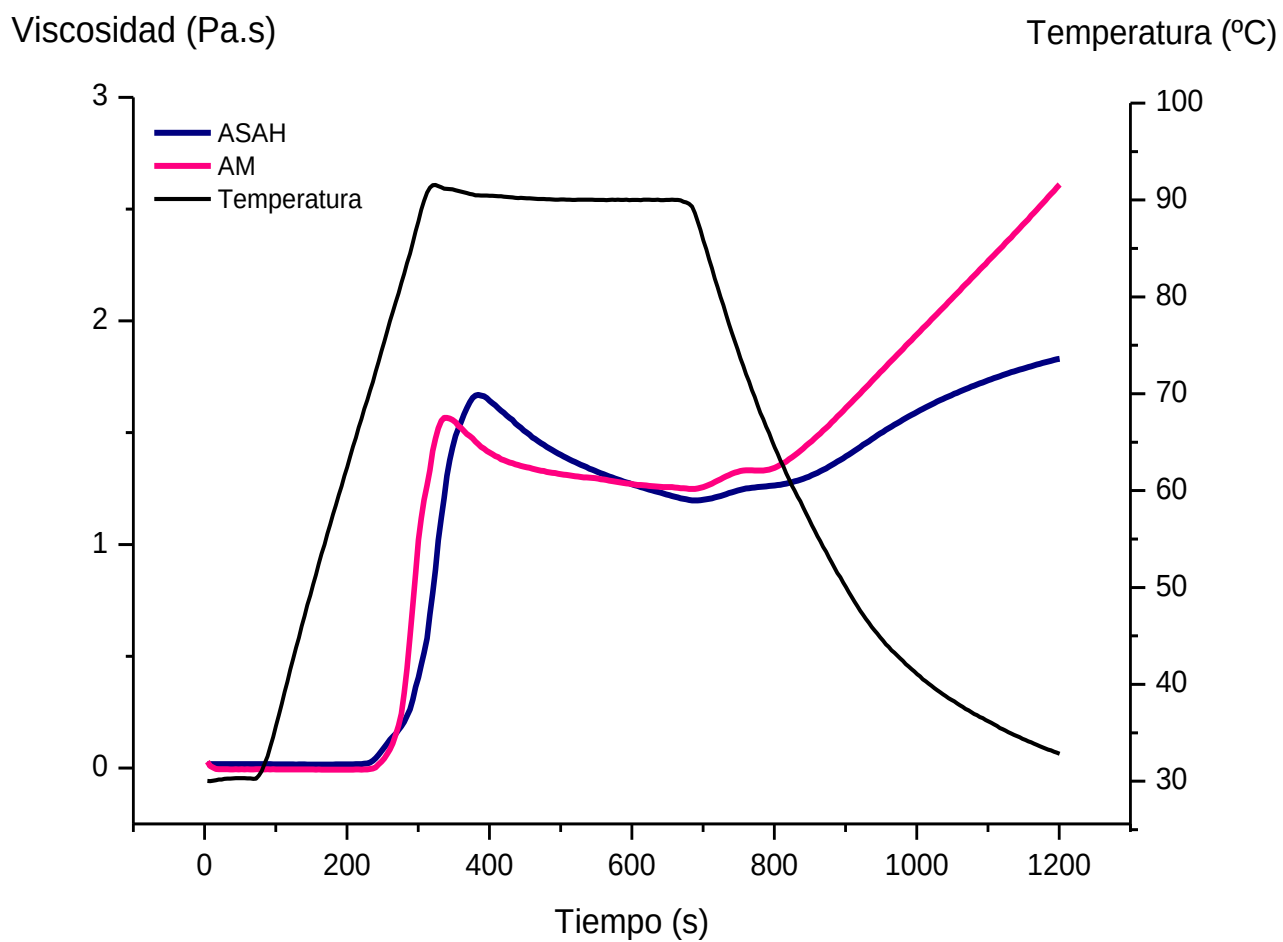


**Figura 13.** Perfiles de formación de pasta del ASA y AM

## **7.6 Caracterización morfológica**

### **7.6.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)**

En las figuras 14 y 15 se muestran las micrografías del ASAH y AM. El ASAH presentó gránulos redondos predominantemente, porque se observan otros con formas irregulares. Los gránulos se observan con una superficie lisa, sin la presencia de poros o canales, y formando agregados, los cuales pueden ser por la presencia de proteínas en la muestra. En las micrografías se logran observar que los gránulos redondos tienen un tamaño  $\leq 5 \mu\text{m}$ .

Se ha reportado la formación de agregados como racimo de uva, debido a la agregación de gránulos fuertemente empaquetados de forma nativa en el perispermo amiláceo, en micrografías de almidón de amaranto (Chandla et al., 2017), similares a los agregados observados en el ASAH.

El AM presentó gránulos de tamaño pequeño ( $\leq 5 \mu\text{m}$ ) con forma redonda y gránulos  $\leq 10 \mu\text{m}$  con forma poliédrica. Se puede observar la presencia de poros en la superficie de los gránulos.

La morfología y el tamaño de los gránulos de almidón puede ser atribuida al origen botánico, a la bioquímica de los amiloplastos, el grado de maduración del fruto y la fisiología de la planta. El tamaño de los gránulos de almidón influye sobre sus propiedades funcionales, por ejemplo, los más grandes desarrollan una alta viscosidad en pasta y los pequeños son más digeribles (Espinoza et al., 2009).

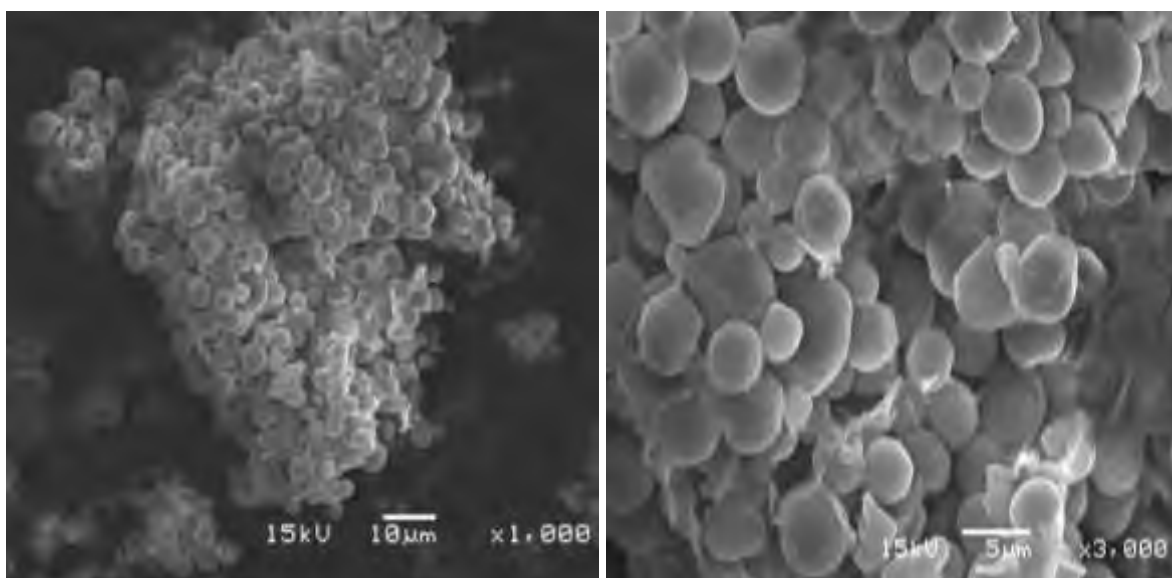


**Figura 14.** Micrografías del ASAH: (izquierda) 1000 y (derecha) 3000 aumentos.

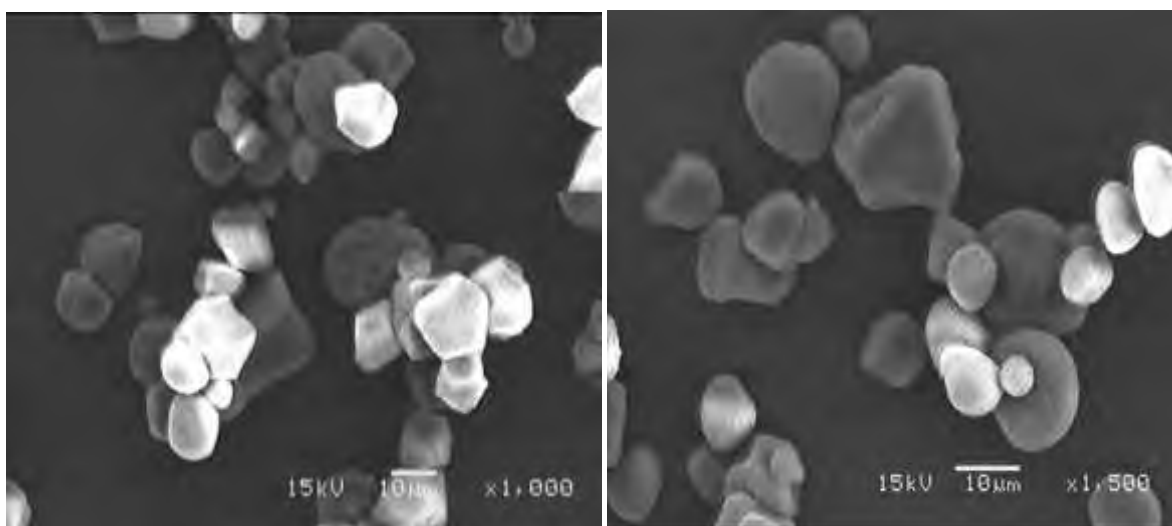


**Figura 15.** Micrografías del AM: (izquierda) 1000 y (derecha) 1500 aumentos.

### 7.6.2 Distribución de tamaño de partícula

En la figura 16 se muestra la distribución de tamaño de partícula del ASAH y el AM. Los dos almidones presentaron distribución bimodal. En general los gránulos del ASAH presentaron un  $D[v, 0.5]$  de  $8.92\ \mu\text{m}$  y los del AM un  $D[v, 0.5]$  de  $12.65\ \mu\text{m}$ . Se observa en el ASAH que una fracción del volumen total de la muestra que equivale al 38% presenta un tamaño de partícula en promedio de  $0.98\ \mu\text{m}$ , que sería la parte correspondiente a los gránulos pequeños y redondos que se observaron en la microscopía electrónica de barrido; la segunda fracción que representa el 62% del total presenta un tamaño en promedio de  $29.44\ \mu\text{m}$ , esta fracción es debido a la agregación de los gránulos por la presencia de proteína en la muestra ( $10.13\ \text{g}/100\text{g}$ ) que facilita la interacción entre ellos y que se observan en también en las micrografías en la figura 14. La formación de agregados en los gránulos de almidón es más típico en los gránulos pequeños como quinoa y amaranto. Además de la presencia de proteínas, los aglomerados pueden ocurrir *in situ* inmediatamente después de la biosíntesis a través de interacciones hidrofóbicas entre los constituyentes residuales de la membrana derivada de los amiloplastos (Wilhelm, 2002). En general, el tamaño del gránulo de almidón varía de  $1\ \mu\text{m}$  a  $100\ \mu\text{m}$  y de acuerdo a esto se han clasificado en gránulos grandes ( $>25\ \mu\text{m}$ ), medianos ( $10\text{-}25\ \mu\text{m}$ ), pequeños ( $5\text{-}10\ \mu\text{m}$ ) y muy pequeños ( $< 5\ \mu\text{m}$ ) (Lindeboom et al., 2004). De acuerdo a esta clasificación, el ASAH tiene gránulos muy pequeños como el de amaranto ( $1\text{-}2\ \mu\text{m}$ ), quinoa ( $0.5\text{-}3\ \mu\text{m}$ ), malanga ( $2\text{-}3\ \mu\text{m}$ ) (Jane et al 1992; Zheng & Sosulski, 1997).

En el AM la fracción predominante fue el 62% del volumen total de la muestra con un tamaño en promedio de  $17.97\ \mu\text{m}$ , y en la otra fracción (39%) fue de  $0.40\ \mu\text{m}$ . El almidón de maíz se ha reportado con un tamaño de  $3\text{-}21\ \mu\text{m}$  con forma poligonal sin la formación de aglomerados. Utrilla-Coello (2007) encontraron una distribución bimodal para el almidón de maíz azul con puntos máximos en  $3\ \mu\text{m}$  en la fracción que corresponde a gránulos pequeños y el segundo punto en  $9\ \mu\text{m}$ .

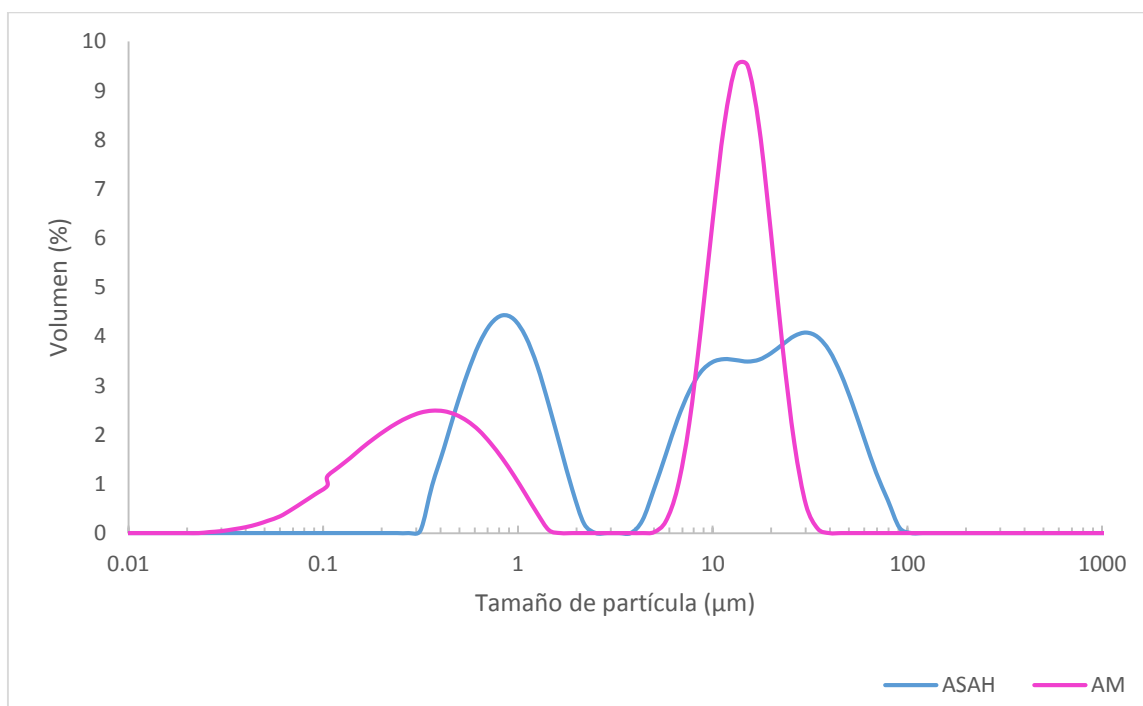


**Figura 16.** Distribución de tamaño de partícula del ASAH y AM.

El tamaño y la forma del granulo es uno de los factores que tienen una gran influencia en las propiedades reológicas, funcionales y estructurales de productos amiláceos (Schirmer et al., 2012). Esto es en parte, debido a que se ha reportado que el contenido de amilosa es proporcional al tamaño del gránulo (Jane y Shane, 1993, Pan y Jane, 2000), tal como ocurre en este trabajo (Tabla 5).

## **7.7 Caracterización estructural**

### **7.7.1 Difracción de rayos-X**

En la figura 17 se muestran los difractogramas del ASAH y AM. Los dos tipos de almidón presentaron patrones de difracción de rayos X tipo A, que se presenta comúnmente en cereales, y presenta picos de mayor intensidad de difracción para los ángulos  $2\theta = 15, 17, 18$  y  $23^\circ$ . El AM presentó picos de mayor intensidad que el ASAH, lo cual se refleja en una mayor cristalinidad (33.74 y 28.45% respectivamente). Se reporta que el porcentaje de cristalinidad es alto en almidones con mayor contenido de amilopectina (Cheetham y Tao, 1998), en este caso el ASAH presentó un porcentaje más bajo de cristalinidad a pesar de tener mayor contenido de amilopectina, esto se atribuye al contenido de proteína presente en la muestra. El patrón de difracción de rayos X tipo A hace referencia al tipo de cristal que se forma debido al empaquetamiento de las dobles hélices de las cadenas de amilopectina, el cual es relativamente compacto con un bajo contenido de agua (4-8 moléculas de agua por hélice), proporcionando una simetría monoclinica; los cristales tipo A suelen presentar longitudes cortas de las cadenas de amilopectina, con un GP de 26 (Zobel, 1988).

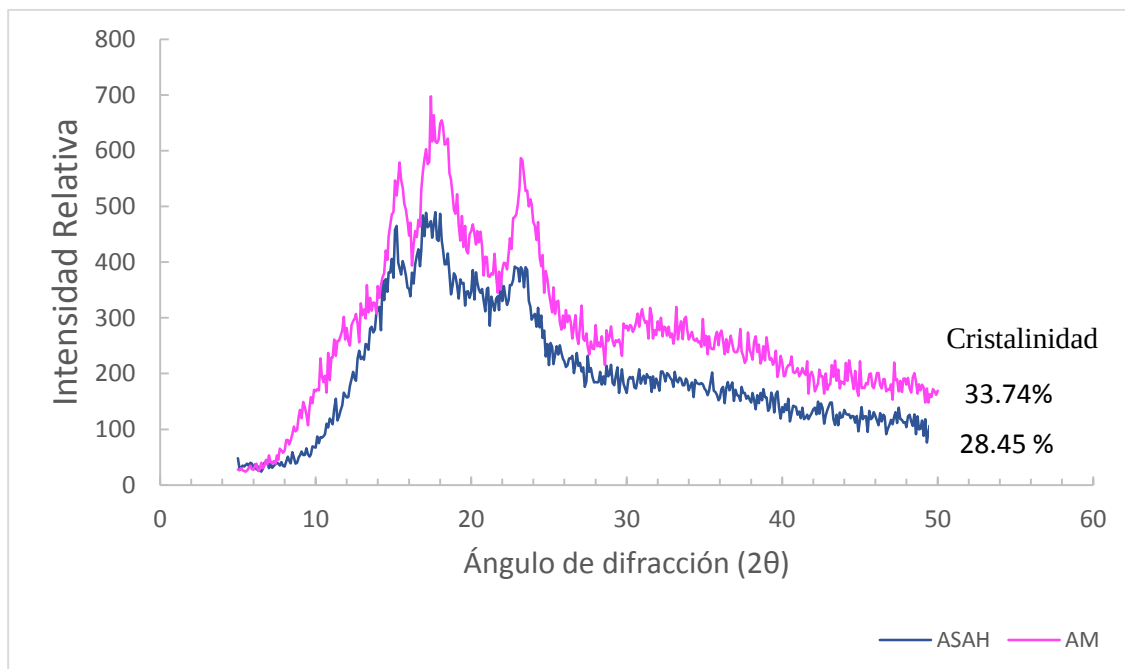


**Figura 17.** Difractogramas del ASAH y AM.

## 7.8 Análisis Reológico

### 7.8.1 Método viscosimétrico (Curvas de flujo)

Las pastas de almidón consisten en una mezcla de fases sólidas y líquidas (almidón y agua) donde la fase discontinua puede ser sólida o semisólida, por lo general, se compone de gránulos hinchados o de fragmentos de gránulos. Las pastas de almidón son el resultado de cambios en el gránulo de almidón durante un proceso de calentamiento. En exceso de agua y siempre que la temperatura sea superior a la temperatura de gelatinización, los gránulos de almidón se hinchan debido a la absorción de agua, al mismo tiempo, ocurre la solubilización de parte de las moléculas de almidón; el cambio general, se conoce como proceso de formación de pasta, y es irreversible. Dependiendo del grado de hinchamiento de los gránulos de almidón y del grado de solubilidad, se puede presentar una amplia gama de propiedades en las pastas (Thebaudin et al., 1998).

En este estudio se obtuvieron pastas de ASAH y de AM al 5% (p/v), las cuales presentaron un comportamiento característico de adelgazamiento en función de la velocidad de deformación, es decir, que presentaron menor viscosidad a medida que se incrementaba la velocidad de deformación (Figura 18). Este comportamiento recibe el nombre de reofluidizante y se refiere a los fluidos que son menos espesos al incrementarse la velocidad de deformación (o corte) y son independientes del tiempo (Macosko, 1994). Este comportamiento puede ocurrir cuando el esfuerzo de deformación o corte desorganiza el arreglo de las moléculas de la matriz formada durante el proceso de análisis o evaluación, además el contenido de amilosa y amilopectina también puede influir en este comportamiento según la fuente botánica del almidón.

Con los datos obtenidos se calcularon los parámetros del modelo de Ley de la potencia:  $\eta$  y  $K$  (Tabla 7), mostrando un buen ajuste del modelo, ya que se obtuvieron coeficientes de correlación ( $r^2$ ) para ambas muestras (ASAH y AM) muy cercano al valor de 1. De acuerdo a estos parámetros, ambos almidones presentaron un índice de comportamiento de flujo ( $\eta$ ) menor a 1, lo cual hace referencia a un material no-newtoniano de tipo pseudoplástico (reofluidizante).

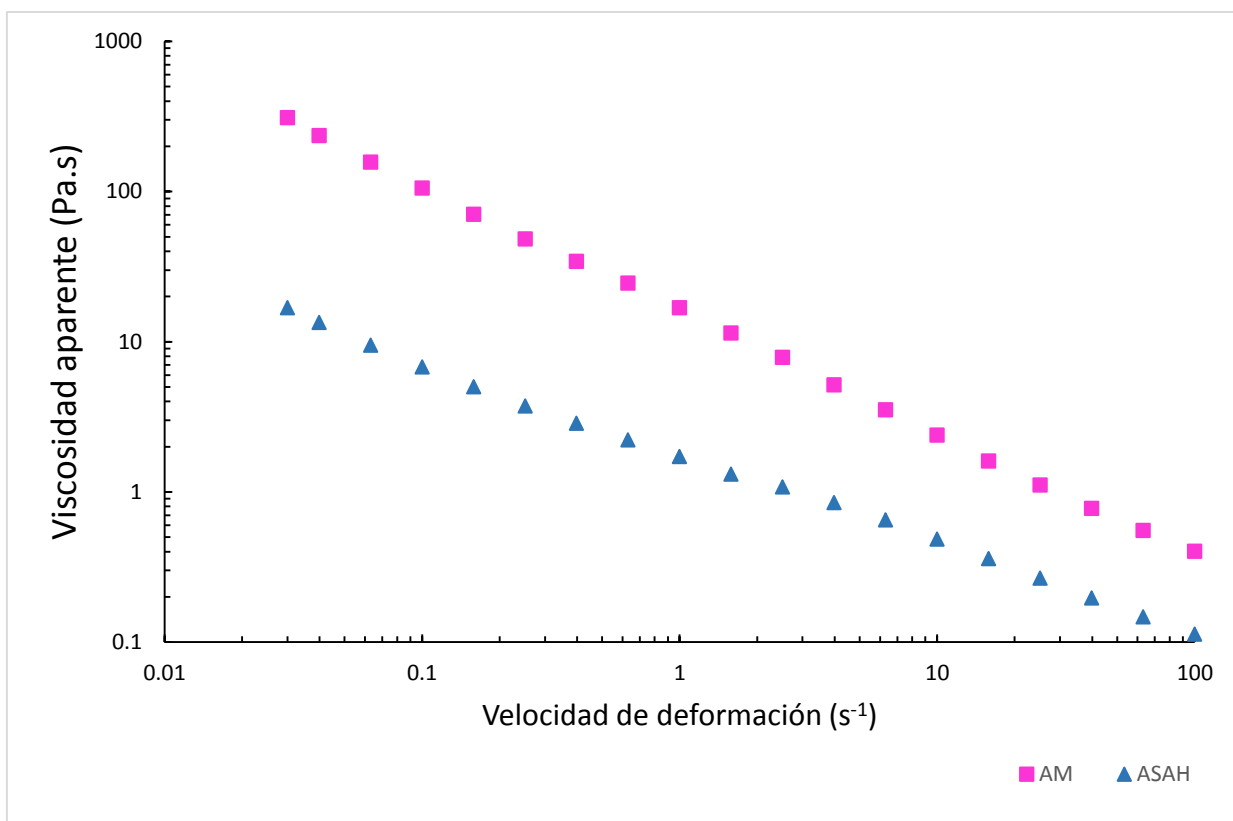


**Figura 18.** Perfil de viscosidad de suspensiones de ASAH y AM al 5% (p/v) de sólidos totales en función de la velocidad de deformación a 25 °C.

**Tabla 7.** Parámetros del modelo de Ostwald-de Waele (ley de la potencia) para los almidones: ASAH y AM

| <b>Muestra</b> | <b><math>r^2</math></b> | <b><math>\eta</math></b> | <b><math>K</math><br/>(Pa.s<sup>n</sup>)</b> |
|----------------|-------------------------|--------------------------|----------------------------------------------|
| <b>ASAH</b>    | 0.9981                  | 0.4029                   | 1.8063                                       |
| <b>AM</b>      | 0.9997                  | 0.1782                   | 16.3455                                      |

El ASAH presentó un valor de  $\eta$  mayor (0.4029) en comparación con el valor observado (0.1782) para el AM, por lo que su índice estuvo más cercano a 1 ( $\eta=1$ , comportamiento newtoniano), lo cual indica menos dependencia de la velocidad de corte o deformación. El valor de índice de consistencia ( $K$ ) fue menor (1.8063 Pa.s<sup>n</sup>) en el ASAH en comparación con el valor que presentó (16.3455 Pa.s<sup>n</sup>) el AM, habiendo una diferencia considerable. El valor de  $K$  está relacionado con la consistencia de la pasta, entre más alto sea este valor, mayor será la viscosidad de la muestra. Aprianita et al. (2009) sostienen que algunos almidones pueden presentar alta viscosidad, lo cual los hacen potencialmente aprovechables para aplicaciones en la industria alimentaria en la que se desee aumentar el poder espesante.

En este sentido el tamaño de gránulo de un almidón es importante en las características reológicas, pero más importante lo es la organización interna de sus componentes principales amilosa y amilopectina (Rincón-Londoño et al., 2016). Así como también algunos casos el comportamiento reológico puede verse influenciado por componentes menores como: proteínas y contenido de almidón dañado (Singh et al., 2003; Singh et al., 2007). En este sentido el contenido de almidón dañado fue mayor en el caso del ASAH, lo cual podría estar relacionado con valores de  $K$  y  $\eta$  y explicarse en términos de la gelatinización que sufren los gránulos dañados. Morrison et al. (1994) reportaron que los gránulos de almidón dañados tienen la capacidad de hidratarse espontáneamente en agua fría y este proceso es muy similar al fenómeno de gelatinización causado por calentamiento. Por lo tanto, los gránulos de almidón dañado pueden absorber agua, hincharse y lixiviar la amilosa y amilopectina, lo que podría causar un aumento en la viscosidad del sistema.

Por otro lado, se ha reportado que el tamaño de gránulo en almidones de maíz normal es de 5 a 18  $\mu\text{m}$  (Wilson et al., 1994; BeMiller y Whistler, 2009; Cui et al., 2014). Este tamaño es mucho mayor en comparación con el tamaño de gránulo ( $<5 \mu\text{m}$ ) que puede observarse en las micrografías de SEM para el ASAH. Sin embargo, este comportamiento reológico no siempre está ligado al de perfil de viscosidad de un almidón.

## 7.8.2 Método dinámico

### 7.8.2.1 Cinética de gelatinización-gelificación

La mayoría de los materiales manifiestan simultáneamente flujo viscoso y elasticidad, fenómeno denominado *viscoelasticidad*. Estos materiales se caracterizan por la presencia de una estructura tridimensional incompleta que se destruye por aplicación de un esfuerzo y solo se recupera parcialmente cuando el esfuerzo es removido. Mientras más completa y resistente a la ruptura es la estructura, más pronunciada es su elasticidad, y mientras más fácil se rompa su estructura, mayor es su comportamiento viscoso (Borwankar y Shoemaker, 1992; Steffe, 1996).

En la figura 19 se muestran los barridos de amplitud de deformación de las suspensiones de ASAH y AM para las etapas cocción a 90 °C y enfriamiento a 25 °C. Estos barridos se realizaron para determinar los límites del comportamiento viscoelástico lineal de la muestra (región viscoelástica lineal RVL), dado que en la región lineal las propiedades reológicas no dependen de la deformación ni del esfuerzo. En la figura 19a se presentan los barridos de amplitud para la primera etapa (90°C), cuando se provocó el máximo hinchamiento de los gránulos, en esta etapa se observó para ambas muestras el dominio del módulo elástico ( $G'$ ) sobre el módulo viscoso ( $G''$ ). Sin embargo, los valores de  $G'$  y  $G''$  son ligeramente más altos en el AM en comparación con los del ASAH. Estas diferencias entre estas dos fuentes de almidón sugieren que el almidón de ASAH fue menos resistente al calor y deformación mecánica, y por lo tanto este fue más susceptible en la pérdida de viscosidad debida a la deformación ejercida. Un comportamiento reológico ( $G' > G''$ ) muy similar reporto recientemente Chen et al. (2018) para almidón de maíz nativo.

En la figura 19b que corresponde a la etapa de enfriamiento (2º etapa) donde se forma propiamente el gel, se observa mayor diferencia entre ambos los módulos ( $G'$  y  $G''$ ) y muestras (ASAH y AM) en comparación con la etapa de cocción, con dominio del comportamiento elástico sobre el módulo viscoso. Las gráficas de amplitud de deformación muestran un comportamiento lineal de los módulos ( $G'$  y  $G''$ ), en las dos etapas y las dos muestras evaluadas, por lo que se podrían trabajar los barridos a frecuencia a cualquier

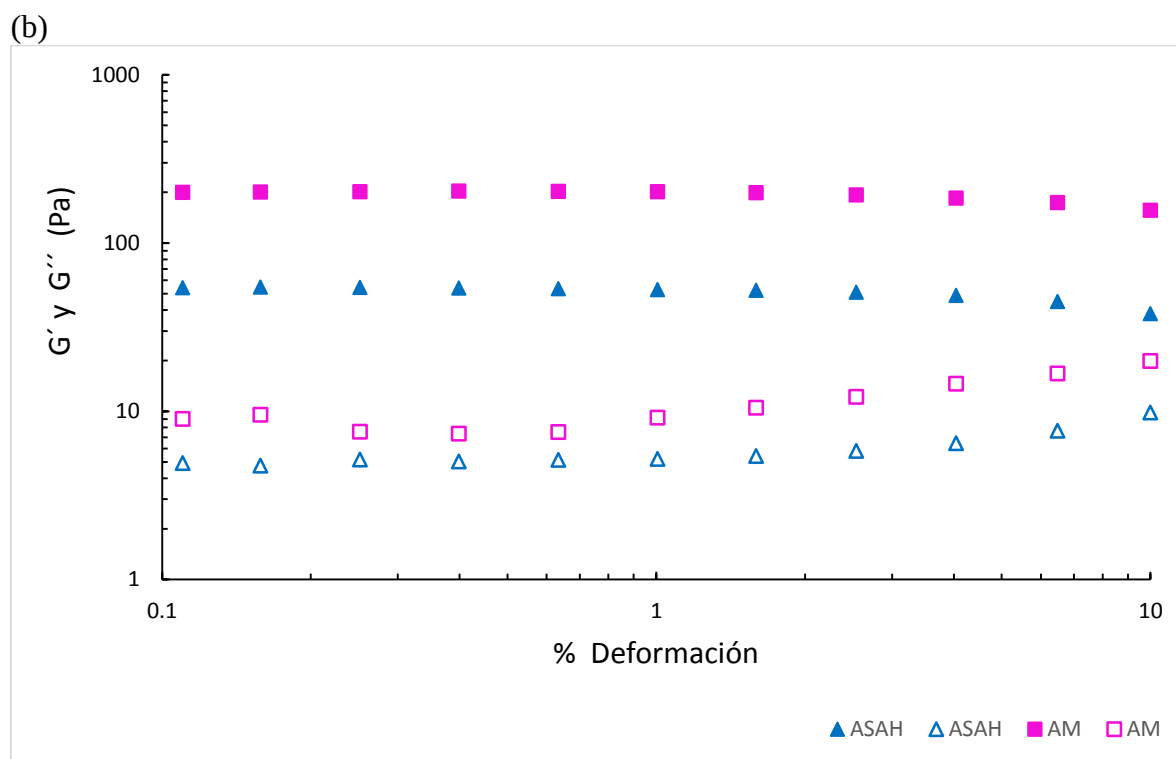
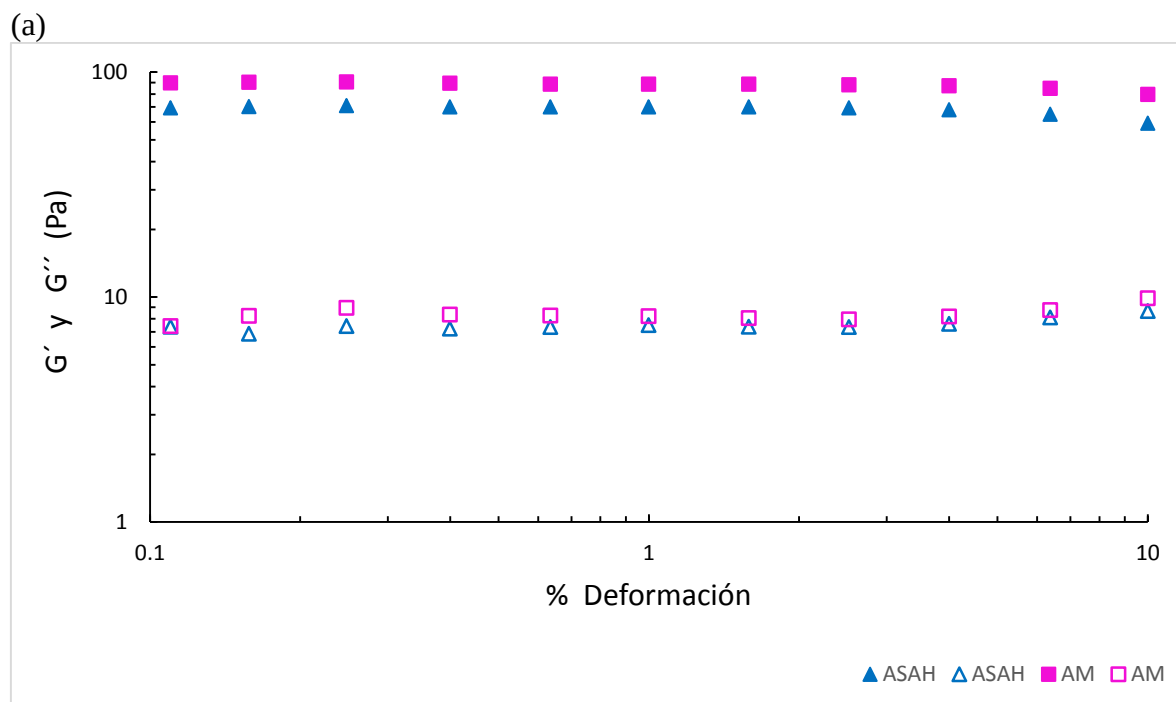


**Figura 19.** Barrido de amplitud de deformación (1 Hz) de las suspensiones de ASAH y AM correspondientes a las etapas de: a) Cocción a 90 °C y b) Enfriamiento a 25 °C. Símbolos llenos  $G'$ ; símbolos vacíos  $G''$ .

porcentaje de deformación dentro del rango de análisis; eligiéndose un 5 % de deformación en este estudio.

En la figura 20 se muestran los barridos de frecuencia, donde a diferencia de los barridos de amplitud, predominó el carácter viscoso ( $G''$ ). En la etapa de gelatinización a 90°C (Figura 20a), el módulo de pérdida ( $G''$ ) en ambas muestras fue similar a bajas frecuencias (0.1 Hz) y ligeramente diferente de 0.5 a 10 Hz. Un comportamiento similar ( $G'' > G'$ ) reportó Chel-Guerrero et al. (2016), en barridos de frecuencia (0.1 a 10 Hz) para almidón de maíz normal durante la etapa de cocción (95 °C), reportando valores en un intervalo más alto (100 a 1000 Pa) al observado en esta investigación (10 a 100 Pa), esto debido a que la concentración de la suspensión utilizada por estos autores fue del 10% (p/v) de sólidos totales.

Para el caso del módulo de almacenamiento ( $G'$ ) la diferencia entre ambas muestras (ASAH y AM) fue más notoria durante todo el rango de análisis (0.1 a 10 Hz). La magnitud de los módulos ( $G'$  y  $G''$ ) de AM fue mayor en comparación con los valores observados para el ASAH. Se presentó una ligera dependencia de  $G'$  y  $G''$  con la frecuencia, ya que ambos comportamientos (elástico y viscoso) aumentaban conforme aumentaba la frecuencia, el incremento de ambos módulos se atribuye al hinchamiento de los gránulos, así como a la liberación de pequeñas cantidades de amilosa de los gránulos de almidón (Eliasson, 1986). En la etapa de enfriamiento a 25°C (figura 20b) también predominó el comportamiento viscoso ( $G''$ ), ambas muestras (ASAH y AM) presentaron una ligera dependencia de la frecuencia. Los valores de  $G''$ , al igual que en la anterior (etapa de cocción), fueron mayores en el AM. Pero el comportamiento de los módulos fue inverso al caso anterior ya que a bajas frecuencias (0.1 Hz) el valor de los módulos ( $G'$  y  $G''$ ) para ambas muestras es diferente y a frecuencias mayores (10 Hz) la magnitud de los módulos tiende a ser muy parecida, especialmente en el caso de los valores registrados para  $G'$  desde una amplitud de 1 a 10 Hz. Estos resultados indican que los geles formados de ambos almidones tienen características de geles poco consistentes, en base al carácter que predominó. Este resultado difiere a lo reportado por Aparicio Saguilán et al., 2006 y Mendez Montealvo et al., 2006, quienes realizaron pruebas reológicas en almidón de maíz predominando el comportamiento elástico tanto en la etapa de gelatinización como en la de gelificación. López *et al.* (2010),

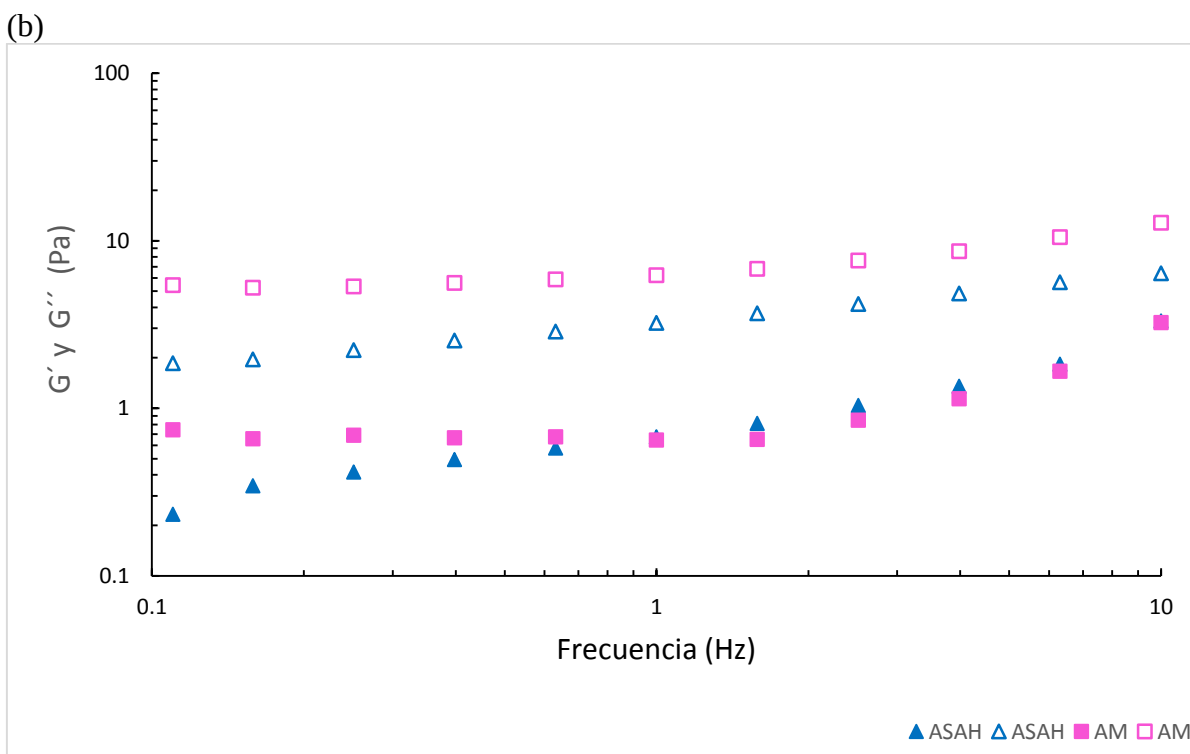
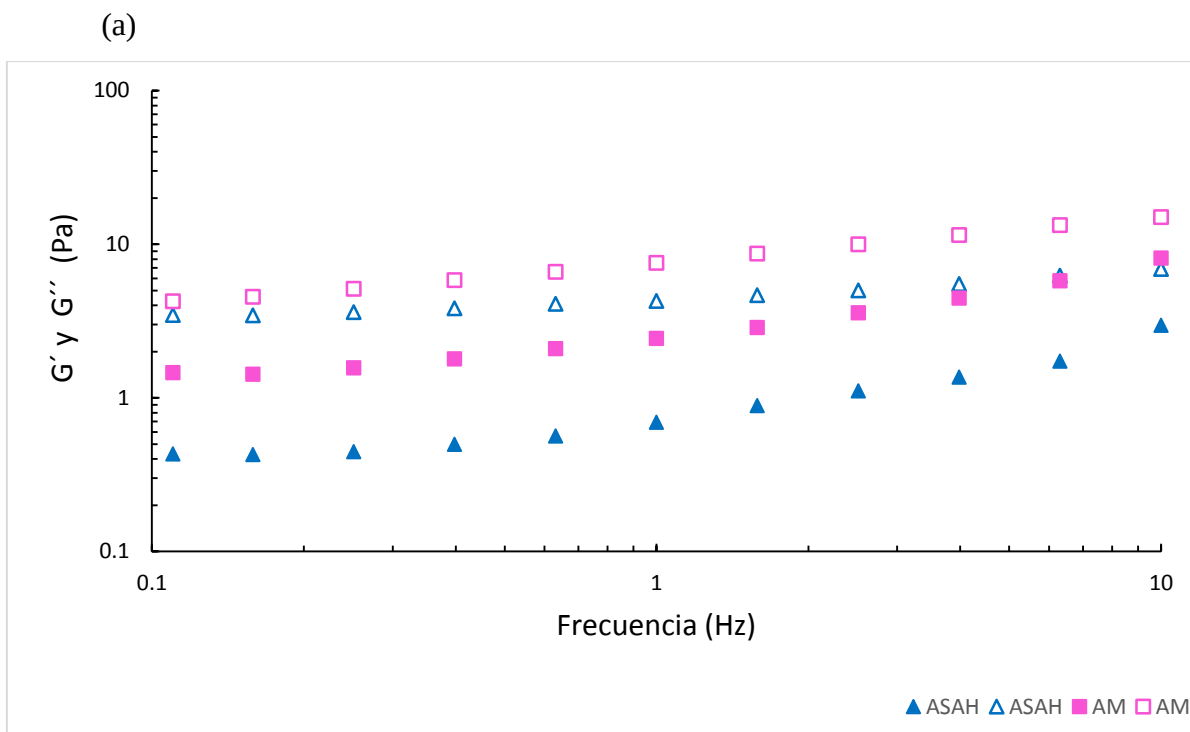


**Figura 20.** Barrido de frecuencia de los módulos dinámicos del ASA y AM (5% de deformación) durante las etapas a) primera (90°C) y b) segunda (25°C). Símbolos llenos  $G'$ ; símbolos vacíos  $G''$ .

encontraron un comportamiento viscoso para almidón nativo de maíz ( $G'' > G'$ ), al igual que en los ASAH y AM de este estudio.

La tangente del ángulo de desfaseamiento ( $\tan \delta$  o  $\tan \delta$ ) es también una función de la frecuencia que se utiliza también para describir el comportamiento viscoelástico de sistemas en alimentos, indica la relación entre la cantidad de energía disipada y la energía almacenada, o sea, entre la porción viscosa y elástica de la muestra. De acuerdo con algunos autores (Ferry, 1980; Agoda-Tandjawa et al. 2017) cuando  $\tan \delta$  es mayor a 1 y  $G'' > G'$  como es el caso de los dos almidones en las dos etapas durante el análisis de los barridos de frecuencia de la gráfica anterior (figura 20), se trata de soluciones diluidas, porque tanto el disolvente como el soluto contribuyen al componente viscoso ( $G''$ ).

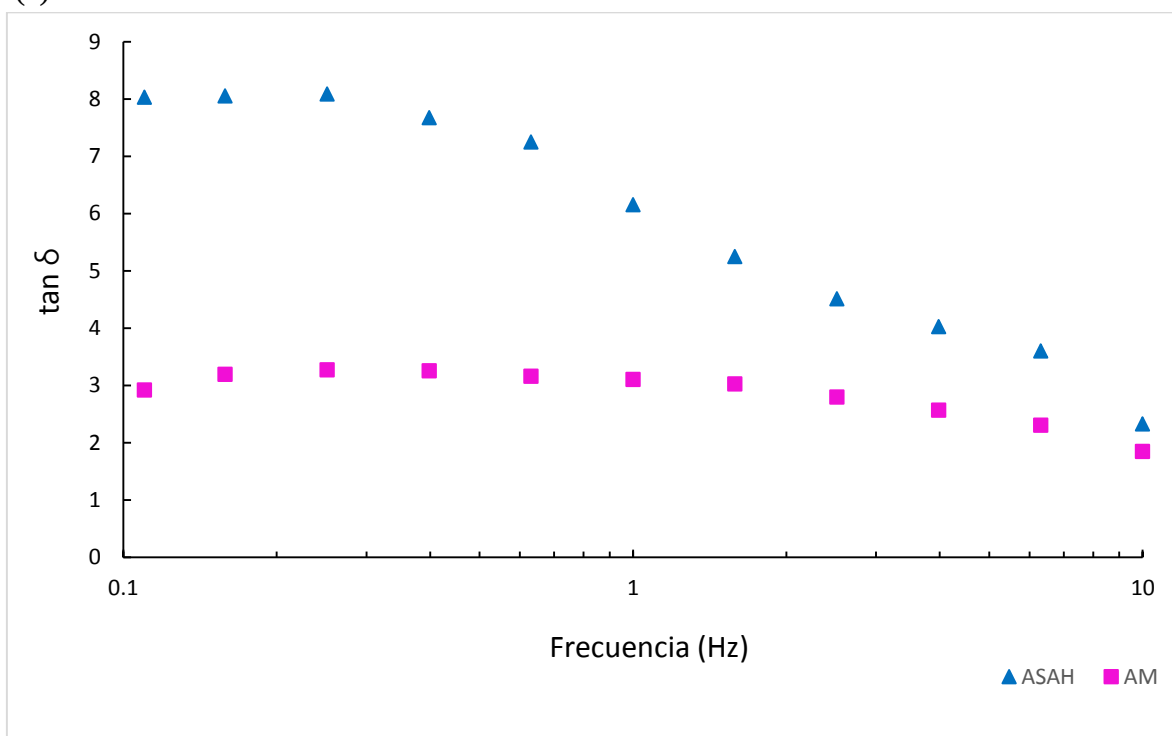
En la figura 21 se puede observar el comportamiento  $\tan \delta$  en función de la frecuencia de las suspensiones de ASAH y AM (5% de deformación) durante la etapa cocción a 90°C y enfriamiento a 25°C. Los valores de  $\tan \delta$  para ASAH durante la cocción (21a) fueron más altos y más bajos durante la etapa de enfriamiento (21b) en comparación con los valores observados para AM. Este valor más bajo de  $\tan \delta$  para AM en la primera etapa (90°C) podría ser relacionado con la formación de geles con mayor comportamiento elástico. Tal como ocurrió en el análisis de curvas de flujo en donde  $G' > G''$ .

Agoda-Tandjawa et al. (2017), reportaron valores de  $\tan \delta$  entre 0.1 a 10 a temperaturas de 60 a 80 °C para mezclas de almidón de maíz waxy/ carragenina /proteína de leche. Indicando que la formación de geles a partir de carragenina es más consistente en comparación con la mezcla de carragenina/almidón, del cual se forma una red menos estructurada e interrumpida que da pie a la formación de geles menos consistentes.

Lobato-Calleros et al. (2014) reportaron valores de  $\tan \delta$  de 0.24 a 0.36 para una mezcla de yogurt/almidón de maíz normal al (5% p/v), encontrando que la mezcla de yogurt almidón atribuye a la formación de geles de leche más estables.

Chen et al., (2014 y 2018), reportaron valores de  $\tan \delta$  para almidón de arroz y maíz normal entre 0.01 y 1. Este comportamiento en  $\tan \delta$  fue atribuido a las diferentes interacciones entre los componentes del almidón amilosa y amilopectina. Estas diferencias

(a)



(b)

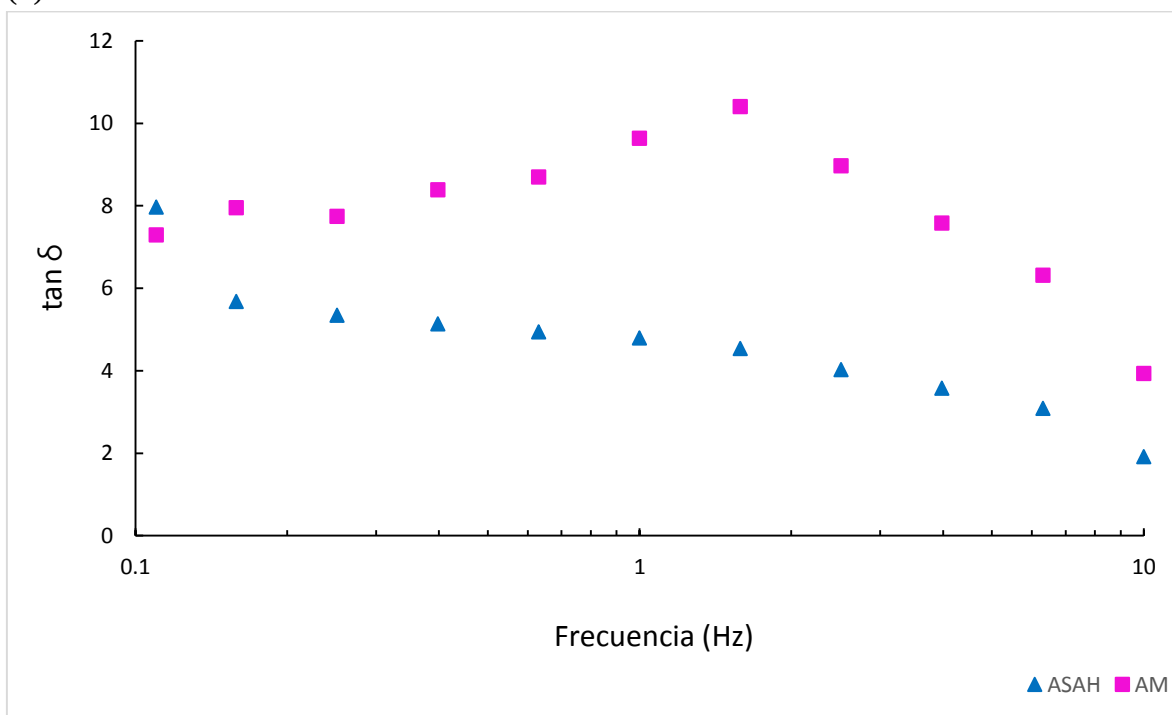


**Figura 21.** Dependencia del ángulo de pérdida con la frecuencia en el ASAH y AM (5% de deformación) durante las etapas a) primera (90°C) y b) segunda (25°C).

entre los valores de  $\tan \delta$  pueden ser atribuidos a la concentración utilizada de almidón para elaborar la suspensión y fuente botánica del almidón utilizado.

La viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) es una función dependiente de la frecuencia en los materiales viscoelásticos. En la figura 21a se presentan los resultados de viscosidad compleja  $\eta^*$  en función de la variación de la frecuencia para las suspensiones de ASAH y AM (5% de deformación) para la primera etapa a 90°C. En ambas muestras de almidón la  $\eta^*$  fue disminuyendo conforme se incrementaba la frecuencia (0.1 a 10 Hz). Este comportamiento es una respuesta típica ante esfuerzos de corte oscilatorios, disminución en los valores de la  $\eta^*$  son probablemente causados por una disminución en la interacción de las cadenas de la amilosa en la matriz de almidón durante el proceso de calentamiento.

La  $\eta^*$  en esta etapa de (gelatinización) fue ligeramente mayor para el AM, lo cual es característico de un fluido de comportamiento no-newtoniano de tipo reofluidizante, este comportamiento es clásico en los biopolímeros que adoptan una conformación de hélice al azar en solución (Tecante, 2001).

Tattiyakul y Rao (2000) reportaron valores de  $\eta^*$  entre 5.7 y 6 Pa.s a 95 °C para almidón de maíz waxy, con índices de consistencia ( $k$ ) entre 3.5 y 8. Estos valores son más bajos en comparación lo observado (16.34) para el AM y más altos en comparación al registrado (1.80) para ASAH. Won et al. (2017) reportó un valor de  $\eta^*$  de 3.95 para almidón de papa.

Durante la segunda etapa a 25°C (enfriamiento) el comportamiento fue muy semejante para las dos muestras de almidón (ASAH y AM), de igual manera que en la 1ª etapa el AM presentó mayor  $\eta^*$  que el ASAH. Esta diferencia entre los valores de  $\eta^*$  fueron más notorias en esta etapa de análisis en comparación con la 1ª etapa durante todo el intervalo de frecuencia (0.1 a 10 Hz). Yoo and Yoo (2005) reportaron valores de  $\eta^*$  de -1 y 5 para suspensiones de almidón de arroz al 10% (p/v). Chamberlain y Rao (1998) observaron esta misma tendencia en almidón de maíz waxy  $\eta^*$  disminuyó conforme aumentó la frecuencia. Sin embargo, los valores de  $\eta^*$  fueron más altos (entre 1 y 1000 Pa.s) en comparación con los observados en esta investigación a 25 °C. Ellos atribuyen este comportamiento a la heterogeneidad de las pastas y contenido de amilopectina presente en la fuente de almidón.

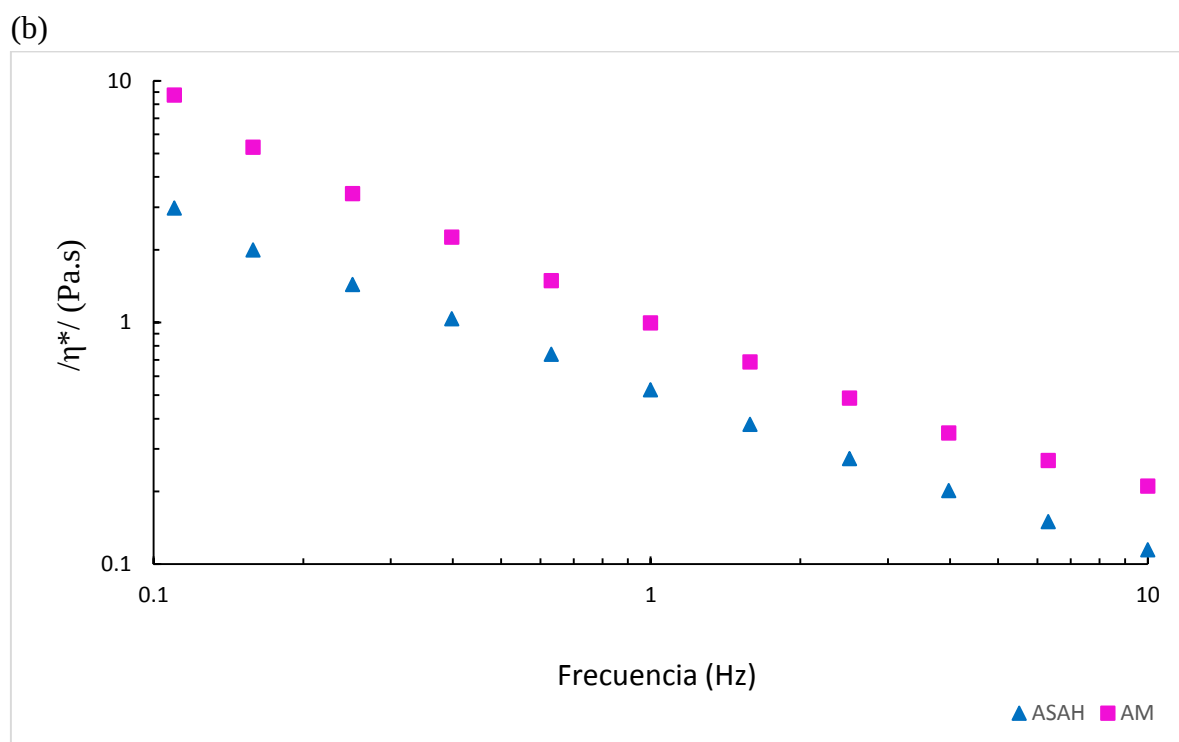
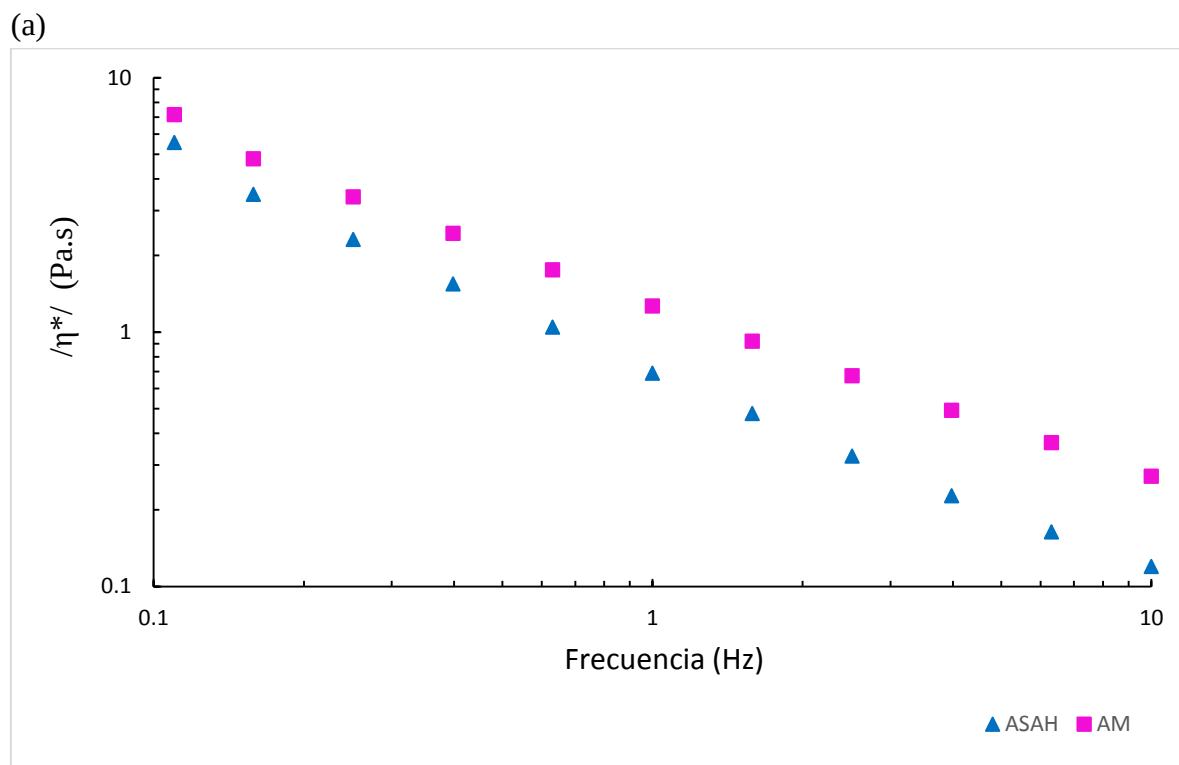


**Figura 22.** Dependencia de la viscosidad compleja con la frecuencia en el ASA y AM (5% de deformación) durante las etapas a) primera (90°C) y b) segunda (25°C).

## 8. CONCLUSIONES

Se estableció un método que permitió obtener almidón a partir de la harina de las semillas del árbol del hule; a pesar de que se tuvo un bajo rendimiento (6.47%), las semillas de hule no son utilizadas, por lo que la extracción de almidón podría considerarse como una alternativa para su aprovechamiento. La pureza del almidón (70 g/100 g) se vio influenciada por la matriz proteica que formó aglomerados de gránulos de almidón. El proceso de aislamiento del almidón dañó los gránulos en un 8.7% el cual tuvo un efecto en la solubilidad. El ASAH presentó un contenido de amilosa menor que el AM y un tamaño de gránulo menor a 5 micras, el cual influyó en el poder de hinchamiento. El ASAH presentó al igual que el AM un patrón de difracción de rayos X tipo A, típico de los cereales. Los geles que formaron ambos almidones mostraron un comportamiento pseudoplástico ( $\eta < 1$ ) y un comportamiento predominantemente viscoso, ya que el módulo de pérdida fue mayor que el módulo de almacenamiento ( $G'' > G'$ ). Por el tamaño de gránulo pequeño el ASAH podría tener un uso potencial como sustituto de grasa, en la elaboración de películas biodegradables o en la encapsulación de compuestos bioactivos.

## **9. PERSPECTIVAS**

El almidón de las semillas del árbol del hule muestra potencial para ser utilizado tanto en la industria alimentaria como no alimentaria, como acarreador de compuestos, agente encapsulante, estabilizante de emulsiones, entre otros. Por lo que, para trabajos futuros, se debe de encontrar un método de aislamiento que mejore el rendimiento. La interacción almidón-proteína puede ser aprovechada para la formación de agregados esféricos que puedan servir como acarreador de diferentes compuestos. El tamaño de gránulo pequeño tiene una gran variedad de aplicaciones, por lo tanto, es una fuente de almidón que puede ser ampliamente utilizada.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AACC, (2000). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. Tenth Edition. Vol. I y II
- Agoda-Tandjawa, G., Le Garnec, C., Boulenguer, P., Gilles, M., & Langendorff, V. (2017). Rheological behavior of starch/carrageenan/milk proteins mixed systems: Role of each biopolymer type and chemical characteristics. *Food Hydrocolloids*, 73, 300-312.
- Aigbodion, A. I., Okieimen, F. E., Ikhuoria, E. U., Bakare, I. O., & Obazee, E. O. (2003). Rubber seed oil modified with maleic anhydride and fumaric acid and their alkyd resins as binders in water-reducible coatings. *Journal of applied polymer science*, 89(12), 3256-3259.
- Aparicio-Saguilán, A., Méndez-Montevalvo, G., Solorza-Feria, J., & Bello-Pérez, L. A. (2006). Thermal and viscoelastic properties of starch gels from maize varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(7), 1078-1086.
- Aprianita, A., Purwandari, U., Watson, B., & Vasiljevic, T. (2009). Physico-chemical properties of flours and starches from selected commercial tubers available in Australia. *International Food Research Journal*, 16(4), 507-520.
- ASERCA (Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria). (1996). Alternativas de Comercialización del Hule Mexicano. *Claridades agropecuarias*. Mexico. 66 p.
- Atwell, W. A., Hood, L. F., Lineback, D. R., Varriano-Marston, E., & Zobel, H. F. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal foods world (USA)*.
- BBCRESEARCH, 2013, "Starches/Glucose: Global Markets.", [Online]. Available:<http://www.bccresearch.com/market-research/food-and-beverage/starch-glucose-fod037b.html>.
- Bello-Pérez, L. A. (1995). Amilopectina: Caracterización molecular y funcional. *Amilopectina: Caracterización molecular y funcional*.
- Bello-Perez, L. A., Paredes-Lopez, O., Roger, P., & Colonna, P. (1996). Molecular characterization of some amylopectins. *Cereal Chemistry*, 73(1), 12-17.
- Bello-Perez, L. A., Roger, P., Baud, B., & Colonna, P. (1998). Macromolecular features of starches determined by aqueous high-performance size exclusion chromatography. *Journal of Cereal Science*, 27(3), 267-278.
- BeMiller, J., & Whistler, R. (2009). *Starch Chemistry and Technology*. San Diego: Elsevier.

- BeMiller, J.N. (1993). Starch-based gums. In R.L. Whistler & J.N. BeMiller (Eds.), *Industrial gums* (pp. 579–600). USA: Academic Press.
- Biliaderis, C. G. (1991). The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 69(1), 60-78.
- Borwankar, P.R. y Shoemaker, E.C. (Eds.). (1992). *Rheology of Foods*.
- Bowen, R. (2006). *Fundamental Physiology and Anatomy of the Digestive System*. [En línea] Disponible en: [http:// www.vivo.colostate.edu](http://www.vivo.colostate.edu)
- Bravo, L., Siddhuraju, P., and Saura-Calixto, F. 1998. Effect of various processing methods on the *in vitro* starch digestibility and resistant starch content of indian pulses. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 4667-4674.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International journal of biological macromolecules*, 23(2), 85-112.
- Centurion, J. F., Centurion, M. A. P. C., & Andrioli, I. (1995). Rubber growing soils of São Paulo, Brazil. *Indian J. Nat. Rubber Res*, 8(2), 75-84.
- Chamberlain, E. K., & Rao, M. A. (1999). Rheological properties of acid converted waxy maize starches in water and 90% DMSO/10% water. *Carbohydrate Polymers*, 40(4), 251-260.
- Chandla, N. K., Saxena, D. C., & Singh, S. (2017). Amaranth (*Amaranthus* spp.) starch isolation, characterization, and utilization in development of clear edible films. *Journal of Food Processing and Preservation*.
- Cheetham, N. W., & Tao, L. (1998). Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. *Carbohydrate polymers*, 36(4), 277-284.
- Chel-Guerrero, L., Barbosa-Martín, E., Martínez-Antonio, A., González-Mondragón, E., & Betancur-Ancona, D. (2016). Some physicochemical and rheological properties of starch isolated from avocado seeds. *International journal of biological macromolecules*, 86, 302-308.
- Chen, L., Tian, Y., Bai, Y., Wang, J., Jiao, A., & Jin, Z. (2018). Effect of frying on the pasting and rheological properties of normal maize starch. *Food Hydrocolloids*, 77, 85-95.
- Chen, L., Tong, Q., Ren, F., & Zhu, G. (2014). Pasting and rheological properties of rice starch as affected by pullulan. *International journal of biological macromolecules*, 66, 325-331.
- Christa, K., Soral-Śmietana, M., & Lewandowicz, G. (2009). Buckwheat starch: structure, functionality and enzyme *in vitro* susceptibility upon the roasting process. *International journal of food sciences and nutrition*, 60(sup4), 140-154.
- CMH (2001) Información de Campo. Unidad de Investigación y Desarrollo. Consejo Mexicano del Hule A. C. 60 p.
- CMH (2002) Estadísticas Básicas. Consejo Mexicano del Hule, A.C. 90 p.

- Compagnon, P. (1998). El caucho natural: biología, cultivo, producción. *Edición en español. Consejo Mexicano del Hule y CIRAD. Ciudad de México. Pg, 701.*
- Cooke, D., & Gidley, M. J. (1992). Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition. *Carbohydrate research*, 227, 103-112.
- Cui, L., Dong, S., Zhag, J., Liu, P. (2014). Starch granule size distribution and orphogenesis in maize (*Zea mays* L.) grains with different endosperm types. *Australain Journal and rops Science*, 8(11):1560-1565.
- Devi, V. M., Prasad, P. N., Syndia, L. A. M., Rajakohila, M., & Ariharan, V. N. (2012). Physico-chemical characterization of rubber seed oil (*Hevea Brasiliensis*)-A promising feedstock for biodiesel production. *Parameters*, 10(B20), B100.
- Duong, D. D. (2003, March). Use of rubber seed meal in diets for colored feather chickens. In *Proceedings of Final National Seminar-Workshop on Sustainable Livestock Production on Local Feed Resources. HUAF-SAREC, Hue City* (pp. 25-28).
- Ebewele, R. O., Iyayi, A. F., & Hymore, F. K. (2010). Considerations of the extraction process and potential technical applications of Nigerian rubber seed oil. *International Journal of the Physical sciences*, 5(6), 826-831.
- Edwards, C. A., & Parrett, A. M. (1996). Starch: Physicochemical and functional aspects. *Carbohydrates in Food. A.-C. Eliasson, eds. Marcel Dekker: New York*, 319-345.
- Eerlingen, R. C., & Delcour, J. A. (1995). Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. *Journal of Cereal Science*, 22(2), 129-138. Europe. 17-21.
- Eka, H. D., Tajul Aris, Y., & Wan Nadiah, W. A. (2010). Potential use of Malaysian rubber (*Hevea brasiliensis*) seed as food, feed and biofuel. *International Food research journal*, 17, 527-534.
- Eliasson, A. C. (1986). Viscoelastic behaviour during the gelatinization of starch i. Comparison of wheat, maize, potato and waxy-barley starches. *Journal of texture studies*, 17(3), 253-265.
- Eliasson, A. C., & Gudmundsson, M. (1996). Starch: physicochemical and functional aspects. *Food Science And Technology-New York-Marcel Dekker-*, 431-504. Elsevier Science Publishers, LTD: Londres.
- FAOSTAT. (2001) Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Database. Roma, Italy.
- Ferry, J. D. (1980). *Viscoelastic properties of polymers*. John Wiley & Sons.
- French, D. (1972). Fine structure of starch and its relationship to the organization of starch granules. *淀粉科学*, 19(1), 8-25.
- Gallant, D. J., Bouchet, B., & Baldwin, P. M. (1997). Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. *Carbohydrate polymers*, 32(3), 177-191.

- Gibson, T. S., Al Qalla, H., & McCleary, B. V. (1992). An improved enzymic method for the measurement of starch damage in wheat flour. *Journal of cereal science*, 15(1), 15-27.
- Gimeno, E., Moraru, C. I., & Kokini, J. L. (2004). Effect of xanthan gum and CMC on the structure and texture of corn flour pellets expanded by microwave heating. *Cereal Chemistry*, 81(1), 100-107.
- GIOK, L. T., & TARWOTJO, I. (1967). Nutritional value of rubber-seed protein. *The American journal of clinical nutrition*, 20(12), 1300-1303.
- Goñi, I., Garcia-Alonso, A., & Saura-Calixto, F. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, 17(3), 427-437.
- Greenwood, C. T., & Robertson, J. S. M. (1954). Physicochemical studies on starches. Part I. The characterization of the starch present in the seeds of the rubber tree, *Hevea brasiliensis*. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 3769-3778.
- Grist, P., & Menz, K. M. (1995). Modelling rubber growth as a function of climate and soils.
- Guilbot, A., Mercier, C. (1985). Starch. In: *The Polysaccharides*. Aspinall, O. (Ed.), New York. Pp. 209-282.
- Hassan, S. N. A. M., Ishak, M. A. M., Ismail, K., Ali, S. N., & Yusop, M. F. (2014). Comparison Study of Rubber Seed Shell and Kernel (*Hevea Brasiliensis*) as Raw Material for Bio-oil Production. *Energy Procedia*, 52, 610-617.
- Hermansson, A. M., & Svegmärk, K. (1996). Developments in the understanding of starch functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 7(11), 345-353.
- Hernández-Medina, M., Torruco-Uco, J. G., Chel-Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2008). Caracterización físicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Food Science and Technology (Campinas)*, 28(3), 718-726.
- Hizukuri, S. (1985). Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. *Carbohydrate research*, 141(2), 295-306.
- Hizukuri, S. (1986). Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins, and its significance. *Carbohydrate research*, 147(2), 342-347.
- Hoover, R., & Ratnayake, W. S. (2002). Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. *Food Chemistry*, 78(4), 489-498.
- HOSSAIN, M. E., KARIM, M. H., Alam, S., & NATH, S. K. (2015). NUTRITIVE VALUE OF RUBBER SEED (*Hevea brasiliensis*). *Online Journal of Animal and Feed Research (OJAFR)*, 5(1), 18-21.
- Ikwuagwu, O. E., Ononogbu, I. C., & Njoku, O. U. (2000). Production of biodiesel using rubber [*Hevea brasiliensis* (Kunth. Muell.)] seed oil. *Industrial crops and products*, 12(1), 57-62.

- Imberty, A., & Pérez, S. (2000). Structure, conformation, and dynamics of bioactive oligosaccharides: theoretical approaches and experimental validations. *Chemical Reviews*, 100(12), 4567-4588.
- Imberty, A., Buléon, A., Tran, V., & Péerez, S. (1991). Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch-Stärke*, 43(10), 375-384.
- International Rubber Study Group IRSG (2000) Rubber Statistical Bull. 37:12-60 p.
- Izquierdo Bautista, H. (2008). Diagnóstico del manejo de cosecha y aplicación de estimulante en plantaciones de hule *Hevea brasiliensis* Muell Arg. en Tabasco.
- Jacobs, H., & Delcour, J. A. (1998). Hydrothermal modifications of granular starch, with retention of the granular structure: A review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(8), 2895-2905.
- James, M. G., Denyer, K., & Myers, A. M. (2003). Starch synthesis in the cereal endosperm. *Current opinion in plant biology*, 6(3), 215-222.
- Jamieson, G. S., & Baughman, W. F. (1930). Para rubber seed oil. *Oil & Fat Industries*, 7(11), 419-421.
- Jane, J. L., Kasemsuwan, T., Leas, S., Zobel, H., & Robyt, J. F. (1994). Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. *Starch-Stärke*, 46(4), 121-129.
- Jane, J. L., Shen, L., Wang, L., & Maningat, C. C. (1992). Preparation and properties of small-particle corn starch. *Cereal Chem*, 69(3), 280-283.
- Jane, J., Chen, Y. Y., Lee, L. F., McPherson, A. E., Wong, K. S., Radosavljevic, M., & Kasemsuwan, T. (1999). Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch 1. *Cereal chemistry*, 76(5), 629-637.
- Jenkins, P. J., Comerson, R. E., Donald, A. M., Bras, W., Derbyshire, G. E., Mant, G. R., & Ryan, A. J. (1994). In situ simultaneous small and wide angle x-ray scattering: A new technique to study starch gelatinization. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 32(8), 1579-1583.
- Jennings, S. D., Meyers, D. J., Johnson, L. A., & IM Pollak, L. (2002). Effect of maturity of corn starch properties. *Cereal chemistry*, 79(5), 703.
- Jobling, S. (2004). Improving starch for food and industrial applications. *Current opinion in plant biology*, 7(2), 210-218.
- Karim, A. A., Norziah, M. H., & Seow, C. C. (2000). Methods for the study of starch retrogradation. *Food chemistry*, 71(1), 9-36.
- Karim, A. A., Norziah, M. H., & Seow, C. C. (2000). Methods for the study of starch retrogradation. *Food chemistry*, 71(1), 9-36.
- Kasemsuwan, T., Jane, J., Schnable, P., Stinard, P., & Robertson, D. (1995). Characterization of the dominant mutant amylose-extender (Ae1-5180) maize starch. *Cereal chemistry*, 72(5), 457-464.

- Katz, F. R., Furcsik, S. L., Tenbarger, F. L., Hauber, R. J., & Friedman, R. B. (1993). Behavior of starches derived from varieties of maize containing different genetic mutations: effects of starch genotype on granular morphology. *Carbohydrate polymers*, 21(2), 133-136.
- Kim HB, Winnink NA. (1994). Effect of surface acid group neutralization on rubber latex films. *Macromolecules*. 27:1007-12.
- Lai, L. S., & Kokini, J. L. (1991). Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion. (A review). *Biotechnology progress*, 7(3), 251-266.
- Lindeboom, N., Chang, P. R., & Tyler, R. T. (2004). Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. *Starch-Stärke*, 56(3-4), 89-99.
- Lineback, D. R. (1984). The starch granule. Organization and properties. *Baker Digest*, March, 16-21.
- Lineback, D. R., V. F. Rasper. (1988). Wheat carbohydrates, chemistry and technology. In: Y. Pomeranz (Ed.). Vol. 1. p. 277-372. American Association of Cereal Chemists, Minnesota, U.S.A.
- Lobato-Calleros, C., Ramírez-Santiago, C., Vernon-Carter, E. J., & Alvarez-Ramirez, J. (2014). Impact of native and chemically modified starches addition as fat replacers in the viscoelasticity of reduced-fat stirred yogurt. *Journal of Food Engineering*, 131, 110-115.
- Lorenz, K., & Coulter, L. (1991). Quinoa flour in baked products. *Plant Foods for Human Nutrition*, 41(3), 213-223.
- Lund, D., & Lorenz, K. J. (1984). Influence of time, temperature, moisture, ingredients, and processing conditions on starch gelatinization. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 20(4), 249-273.
- Ly, J., Ty, C., & Phiny, C. (2001). Evaluation of nutrients of rubber seed meal in Mong Cai pigs. *Livestock Research for Rural Development*, 13(2).
- Macosko, C. W. (1994). *Rheology: principles, measurements, and applications*. Wiley-vch.
- Mali, S., Ferrero, C., Redigonda, V., Beleia, A. P., Grossmann, M. V. E., & Zaritzky, N. E. (2003). Influence of pH and hydrocolloids addition on yam (*Dioscorea alata*) starch pastes stability. *LWT-Food Science and Technology*, 36(5), 475-481.
- Manners, D. J. (1989). Recent developments in our understanding of amylopectin structure. *Carbohydrate Polymers*, 11(2), 87-112.
- Martínez, G. E. R., Martínez, A. V., Mata, J. J., Hernández, J. V., & López, D. J. P. (2005). Biomasa aérea en plantaciones comerciales de hule (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.) en el estado de Oaxaca, México. *Agrociencia*, 39(4), 449-458.

- McGrance, S. J., Cornell, H. J., & Rix, C. J. (1998). A simple and rapid colorimetric method for the determination of amylose in starch products. *Starch-Stärke*, 50(4), 158-163.
- Medina, J. A., & Salas, J. C. (2008). Morphological Characterization of Native Starch Granule: Appearance, Shape, Size and its Distribution. *Revista de Ingeniería*, (27), 56-62.
- Mendez-Montealvo, G., Sánchez-Rivera, M. M., Paredes-López, O., & Bello-Perez, L. A. (2006). Thermal and rheological properties of nixtamalized maize starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 40(1), 59-63.
- Mendez-Montealvo, G., Wang, Y. J., & Campbell, M. (2011). Thermal and rheological properties of granular waxy maize mutant starches after  $\beta$ -amylase modification. *Carbohydrate polymers*, 83(3), 1106-1111.
- Millan-Testa, C. E., Mendez-Montealvo, M. G., Ottenhof, M. A., Farhat, I. A., & Bello-Perez, L. A. (2005). Determination of the molecular and structural characteristics of okenia, mango, and banana starches. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(3), 495-501.
- Mmereole, F. U. C. (2008). The effects of replacing groundnut cake with rubber seed meal on the haematological and serological indices of broilers. *International Journal of Poultry Science*, 7(6), 622-624.
- Morrison, w. R., & Karkalas, j. (1990). 9 starch. *Carbohydrates*, 2, 323.
- Morrison, W.R., Tester, R.F., (1994). Properties of damaged starch granules. IV. Composition of allmilled wheat starches and of fractions obtained on hydration. *J. Cereal Sci.* 20, 69–77.
- Njoku, O. U., & Ononogbu, I. C. (1995). Preliminary studies on the preparation of lubricating grease from bleached rubber seed oil. *Ind. J. NR. Res*, 8(20), 140-141.
- Njoku, O. U., Ononogbu, I. C., & Owusu Ansah, J. Y. (1996). An investigation on oil of rubber seed (Hevea brasiliensis). *J. Rubber Research Inst. Sri Lanka*, 78, 52-59.
- Noda, T., Takahata, Y., Sato, T., Suda, I., Morishita, T., Ishiguro, K., & Yamakawa, O. (1998). Relationships between chain length distribution of amylopectin and gelatinization properties within the same botanical origin for sweet potato and buckwheat. *Carbohydrate Polymers*, 37(2), 153-158.
- Onwurah, I. N. E., Otitoju, O., Njoku, O. U., Okafor, F. C., & Obidiegwu, C. (2010). Nutritional value of rubber seed flour for poultry feed-stock, using adult insect *Tribolium castaneum* as a model. *Archives of Applied Science Research*, 2(5), 422-428.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2004). Perspectivas a plazo medio de los productos básicos agrícolas.
- Ottenhof, M. A. (2004). *A multi-technique study of the retrogradation of concentrated starch systems* (Doctoral dissertation, University of Nottingham).

- Palma-Rodriguez, H. M., Agama-Acevedo, E., Mendez-Montealvo, G., Gonzalez-Soto, R. A., Vernon-Carter, E. J., & Bello-Pérez, L. A. (2012). Effect of acid treatment on the physicochemical and structural characteristics of starches from different botanical sources. *Starch-Stärke*, 64(2), 115-125.
- Paredes-López, O., Barba de la Rosa, A.P., Hernández-López, D. y Crabez-Trejo, A. (1990). Amarantho- Características alimentarias y aprovechamiento agroindustrial. Secretaría general de los Estados Americanos. Washintong, D.C.
- Paredes-López, O., Bello-Perez, L. A., & López, M. G. (1994). Amylopectin: structural, gelatinisation and retrogradation studies. *Food chemistry*, 50(4), 411-417.
- Paredes-López, O., Schevenin, M. L., Hernández-López, D., & Cárabez-Trejo, A. (1989). Amaranth Starch-Isolation and Partial Characterization. *Starch-Stärke*, 41(6), 205-207.
- Pérez, E., Lares, M., & González, Z. (1997). Some characteristics of Sagu (*Canna edulis* Kerr) and Zulu (*Maranta* sp.) rhizomes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(7), 2546-2549.
- Pineda-Gómez, P., Coral, D. F., Arciniegas, M. L., Rorales Rivera, A., & Rodríguez García, M. E. (1794). Papel del agua en la gelatinización del almidón de maíz: estudio por calorimetría diferencial de barrido. *Revista Ingeniería y Ciencia, ISSN, 9165*(6), 11.
- Plan Rector sistema nacional de hule. 2005. Segunda fase: Diagnóstico inicial, base de referencia y estructura estratégica. Villahermosa, Tabasco. 44 p.
- Publishers Cp. Ltd. 1
- Radosavljevic, M., Jane, J., & Johnson, L. A. (1998). Isolation of amaranth starch by diluted alkaline-protease treatment. *Cereal Chemistry*, 75(2), 212-216.
- Ravindran, V., & Ravindran, G. (1988). Some nutritional and anti-nutritional characteristics of para-rubber (*Hevea brasiliensis*) seeds. *Food chemistry*, 30(2), 93-102.
- Rincón-Londoño, N., Millan-Malo, Beatriz., Rodríguez-García, M. E. (2016). Analysis of thermal pasting profile in corn starch rich in amylose and amylopectin: Physicochemical transformations, Part II. *International Journal of Biological Macromolecules*, 89, 43-53.
- Rincón-Londoño, N., Vega-Rojas, L. J., Contreras-Padilla, M., Acosta-Orsorio, A. A., & Rodríguez-García, M. E. (2016). Analysis of the pasting profile in corn starch: Structural, morphological, and thermal transformations, Part I. *International journal of biological macromolecules*, 91, 106-114.
- Robin, J. P. (1974). Lint-nerized starches. Gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. *Cereal Chem.*, 51, 389-406.
- Rodríguez Montes de Oca, R. (1993). *Enfermedades del hule Hevea brasiliensis Muell. Arg* (No. Folleto 14950).

- Röper, H. (2002). Renewable raw materials in Europe—industrial utilisation of starch and sugar [1]. *Starch-Stärke*, 54(3-4), 89-99.
- Sang, Y., Bean, S., Seib, P. A., Pedersen, J., & Shi, Y. C. (2008). Structure and functional properties of sorghum starches differing in amylose content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6680-6685.
- Santoso, H., & Inggrid, M. (2014). Effects of temperature, pressure, preheating time and pressing time on rubber seed oil extraction using hydraulic press. *Procedia Chemistry*, 9, 248-256.
- Schirmer, M., Höchstötter, A., Jekle, M., Arendt, E., & Becker, T. (2013). Physicochemical and morphological characterization of different starches with variable amylose/amylopectin ratio. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 52-63.
- Singh J, Kaur, L., McCarthy O. J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications areview. *Food Hydrocolloids* 21:1-22.
- Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Sodhi, N. S., & Gill, B. S. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, 81(2), 219-231.
- Singh. N., Singh, J., Kaur, L., Singh, S, N., Singh, G. B, (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chem* 81:219-231.
- Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (1990). Some properties of *Amaranthus paniculatas* (Rajgeera) starch pastes. *Starch-Stärke*, 42(1), 5-7.
- Siriwardene, J. A., & Nugara, D. (1972). Metabolizable energy of rubber seed meal in poultry diets. *Ceylon Veterinary Journal*, 20, 61-63.
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*. Freeman press.
- Stick, R. V. (2001). *Carbohydrates: the sweet molecules of life*. Academic press.
- Swinkels, J. J. M. (1985). Composition and properties of commercial native starches. *Starch-Stärke*, 37(1), 1-5.
- Takeda, Y., Shibahara, S., & Hanashiro, I. (2003). Examination of the structure of amylopectin molecules by fluorescent labeling. *Carbohydrate Research*, 338(5), 471-475.
- Tang, H., Mitsunaga, T., & Kawamura, Y. (2006). Molecular arrangement in blocklets and starch granule architecture. *Carbohydrate Polymers*, 63(4), 555-560.
- Tattiyakul, J., & Rao, M. A. (2000). Rheological behavior of cross-linked waxy maize starch dispersions during and after heating. *Carbohydrate Polymers*, 43(3), 215-222.
- Taylor, S., Sivak, M. N., & Preiss, J. (1998). *Starch: basic science to biotechnology* (Vol. 41). Academic Press.

- Tecante, A. (2001). Viscoelasticity. In: G. V. Barbosa-Cánovas, P. Juliano, and M. A. Rao (Eds.). *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*. p. 292-304. Eolss
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151-165.
- Tester, R.F., Karkalas, J., (2002). Starch. In: Steinbu"chel, A. (Series Ed.) Vandamme, E.J., De Baets, S., Steinbu"chel, A. (vol. Eds.), *Biopolymers*, vol. 6. Polysaccharides. II. Polysaccharides from Eukaryotes, Wiley-VCH, Weinheim, pp. 381–438.
- Thebaudin, J. Y., Lefebvre, A. C., & Doublier, J. L. (1998). Rheology of starch pastes from starches of different origins: applications to starch-based sauces. *LWT-Food Science and Technology*, 31(4), 354-360.
- Thomas, V. I. N. O. T. H., Mercykutty, V. C., & Saraswathymma, C. K. (1996). Seed biology of para rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg. Euphorbiaceae)—a review. *Phytomorphology*, 46, 335-342.
- Thurn, A., & Burchard, W. (1985). Heterogeneity in branching of amylopectin. *Carbohydrate polymers*, 5(6), 441-460.
- Ukhun, M. E., & Uwatse, G. M. (1988). Nutritional evaluation of selected Nigerian rubber seed products—a chemical approach. *Plant Foods for Human Nutrition*, 38(4), 309-318.
- Utrilla-Coello, R. G., Agama-Acevedo, E., de la Rosa, A. P. B., Martinez-Salgado, J. L., Rodriguez-Ambriz, S. L., & Bello-Perez, L. A. (2009). Blue maize: morphology and starch synthase characterization of starch granule. *Plant foods for human nutrition*, 64(1), 18-24.
- Vargas-Canales, J. M., Palacios-Rangel, M. I., Acevedo-Peralta, A. I., & Leos-Rodríguez, J. A. (2016). Profitability analysis for natural rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) production in Oaxaca, Mexico. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 22(1), 45-58.
- Wang, L., & Wang, Y. J. (2001). Comparison of protease digestion at neutral pH with alkaline steeping method for rice starch isolation. *Cereal Chemistry*, 78(6), 690-692.
- Wilhelm, E., Aberle, T., Burchard, W., & Landers, R. (2002). Peculiarities of aqueous amaranth starch suspensions. *Biomacromolecules*, 3(1), 17-26.
- Wilson, J. A. 1994. Action of the soft-starch (h) gene in conditioning starch particle volume in *Zea mays* L. MS thesis. Purdue University, West Lafayette, IN.
- World News Network, 2014, "Starch Derivatives Market to Grow at a CAGR of 6.2% to 2019 in New Research...", [Online]. Available: [http://article.wn.com/view/2014/05/09/Starch\\_Derivatives\\_Market\\_to\\_Grow\\_at\\_a\\_CAGR\\_of\\_62\\_to\\_2019\\_in](http://article.wn.com/view/2014/05/09/Starch_Derivatives_Market_to_Grow_at_a_CAGR_of_62_to_2019_in).
- Yamaguchi, M., Kainuma, K., & French, D. (1979). Electron microscopic observations of waxy maize starch. *Journal of Ultrastructure Research*, 69(2), 249-261.

- Yoo, D., & Yoo, B. (2005). Rheology of rice starch-sucrose composites. *Starch-Stärke*, 57(6), 254-261.
- Yoo, S. H., & Jane, J. L. (2002). Structural and physical characteristics of waxy and other wheat starches. *Carbohydrate Polymers*, 49(3), 297-305.
- Zhang, J., Huss, V. A., Sun, X., Chang, K., & Pang, D. (2008). Morphology and phylogenetic position of a trebouxiophycean green alga (Chlorophyta) growing on the rubber tree, *Hevea brasiliensis*, with the description of a new genus and species. *European Journal of Phycology*, 43(2), 185-193.
- Zhao, J., & Whistler, R. L. (1994). Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. *Food Technology*, 48(7), 104-105.
- Zheng, G. H., & Sosulski, F. W. (1997, October). Physicochemical properties of small granule starches. In *Proceedings of the AACCC Annual Meeting*.
- Zhu, Y., Xu, J., Li, Q., & Mortimer, P. E. (2014). Investigation of rubber seed yield in Xishuangbanna and estimation of rubber seed oil based biodiesel potential in Southeast Asia. *Energy*, 69, 837-842.
- Zobel, H. F. (1988a). Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch-Stärke*, 40(1), 1-7.
- Zobel, H. F. (1988b). Molecules to granules: a comprehensive starch review. *Starch-Stärke*, 40(2), 44-50.