



**UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN**

**CAMPUS TUXTEPEC**

***“OBTENCIÓN DE ALMIDÓN RESISTENTE TIPO III A PARTIR DE  
UNA MODIFICACIÓN DUAL DEL ALMIDÓN DE MALANGA  
(Colocasia esculenta Schott) Y PLÁTANO (Musa paradisiaca L.):  
CARACTERIZACIÓN DE DIGESTIBILIDAD, PROPIEDADES  
TÉRMICAS Y MOLECULAR. “***

**TESIS**

**Para obtener el grado de  
Maestro en Biotecnología**

**PRESENTA:**

**YOEL FERNÁNDEZ OCEGUEDA**

**Director de Tesis**

**DR. ALEJANDRO**

**APARICIO SAGUILÁN**

**Co-director de Tesis**

**DR. ERICK ADRIAN**

**JUÁREZ ARELLANO**

---

**SAN JUAN BAUTISTA TUXTEPEC, OAXACA**

**AGOSTO 2018**



# UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

OFICIO	DEP/2018/MB/060
ASUNTO	Revisión de tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oax., a 16 de marzo de 2018

**C. YOEL FERNÁNDEZ OCEGUEDA**  
ESTUDIANTE DE LA MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA  
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.


M.C. Miguel A. García Muñoz	UNPA	Presidente
Dra. Ana Karin Navarro Martínez	UNPA	Vocal
Dr. Alejandro Aparicio Saguilán	UNPA	Secretario
Dra. Delia Esther Páramo Calderón	UNPA	1er Suplente
Dra. Rubí G. Utrilla Coello	UNPA	2º Suplente

Sin más por el momento, le envío saludos cordiales.

Atentamente

*terra uberrima, mens aperta*  
Bou Lo-tama, chí ji jú

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

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

C.c.p. Dr. Alejandro Aparicio Saguilán – Director de tesis.  
C.c.p. L. P. Yesenia Barrientos Arenal – Jefa de Servicios Escolares.  
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

OFICIO	DEP/2018/052
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 Maestría en Biotecnología del **C. Yoel Fernández Ocegueda**, matrícula 14140007, ha autorizado la impresión del manuscrito que lleva por título **“Obtención de almidón resistente tipo III a partir de una modificación dual del almidón de malanga (*Colocasia esculenta schott*) y plátano (*Musa paradisiaca L.*): caracterización de digestibilidad, propiedades térmicas y molecular”** 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 uberrima, mens aperta*  
Bou Lo-tama, chí jí jú

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



C.c.p. C. Yoel Fernández Ocegueda  
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

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mis padres**, Sara y Francisco por apoyarme siempre y en todo momento, también les agradezco mi ser y existir.

**A mis compañeros y amigos**, por hacer que, en el transcurso de este tiempo, las horas pasaran sin darme cuenta, y por los ratos tan agradables que pasamos juntos, muchas gracias.

**A todos mis mentores**, por brindarme un poco de sus conocimientos, la paciencia y atenciones hacia mi persona y por su amistad.

**A mis asesores de tesis**, el Dr. Alejandro y el Dr. Erick, por su apoyo y dedicación que me brindaron para la realización de este proyecto.

**Al CONACYT**, por la beca otorgada, CVU: 637230, para la realización de este proyecto, ya que fue parte fundamental para lograrlo.

**A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo / instituto de ciencias agropecuarias (AUEH / ICAP) y al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica / Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (IPICYT / LINAN)**, por las instalaciones prestadas para la estancia de investigación.

## DEDICATORIA

Esta tesis esta dedica a:

Mis padres, en testimonio de gratitud ilimitada por su apoyo, aliento y estímulo, mismos que posibilitaron la conquista de esta meta, a ustedes quiero agradecer mi existencia, mi formación como ser humano y formación profesional.

A mis amigos, por su gran cariño y aprecio, esas largas horas de pláticas y momentos tan agradables que pasamos juntos, ahora que los considero como parte de mi familia, también quiero agradecerles por su apoyo incondicional y formar parte de mi vida.

† Al Dr. Mario Alberto de Jesús Domínguez Magaña, por su gran apoyo y aliento a culminar y seguir adelante en este camino, este proyecto va dedicado a ti amigo, hasta donde te encuentres.

*La inteligencia es más poderosa que la suerte y puede regir su rumbo a cualquier parte y ser la causante de su infelicidad o de su desgracia.*

*Séneca*

# ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN.....	1
2	ANTECEDENTES.....	3
2.1	ALIMENTOS FUNCIONALES.....	3
2.2	PREBIOTICOS.....	3
2.3	EL PLÁTANO.....	4
2.4	LA MALANGA.....	5
2.5	ALMIDÓN.....	6
2.5.1	GENERALIDADES DEL ALMIDÓN.....	6
2.6	COMPONENTES PRINCIPALES DEL ALMIDÓN.....	7
2.6.1	AMILOSA.....	7
2.6.2	AMILOPECTINA.....	8
2.7	ORGANIZACIÓN DEL GRÁNULO DE ALMIDÓN.....	9
2.8	PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS.....	11
2.9	PROPIEDADES TÉRMICAS DE LOS ALMIDONES.....	13
2.9.1	GELATINIZACIÓN.....	13
2.9.2	RETROGRADACIÓN.....	14
2.10	DIGESTIÓN DEL ALMIDÓN.....	15
2.10.1	FACTORES QUE AFECTAN LA DIGESTIÓN DEL ALMIDÓN.....	18
2.11	CLASIFICACIÓN NUTRICIONAL DEL ALMIDÓN.....	19
2.11.1	CLASIFICACIÓN DEL ALMIDÓN RESISTENTE.....	20
2.12	EFFECTOS FISIOLÓGICOS DEL AR Y ADL.....	21
2.13	PROCESOS DE OBTENCIÓN DE AR Y ADL.....	22
2.13.1	MODIFICACIONES FÍSICAS.....	23

2.14	MOLIENDA MECÁNICA.....	23
2.14.1	MOLINO PLANETARIO DE BOLAS.....	23
2.15	EXTRUSIÓN Y AUTOCLAVE .....	25
3	JUSTIFICACIÓN.....	26
4	HIPÓTESIS.....	27
5	OBJETIVOS.....	28
5.1	OBJETIVO GENERAL .....	28
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	28
6	PARTE EXPERIMENTAL .....	29
6.1	DIAGRAMA DE FLUJO.....	29
6.1.1	DISEÑO EXPERIMENTAL .....	30
6.2	AISLAMIENTO DEL ALMIDÓN.....	31
6.3	MODIFICACIÓN DEL ALMIDÓN .....	31
6.3.1	CONDICIONES DE MOLIENDA MECÁNICA DE LOS ALMIDONES	31
6.3.2	OBTENCIÓN DE AR POR AUTOCLAVE .....	31
6.4	ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL.....	32
6.5	DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i> .....	32
6.5.1	DETERMINACIÓN DE LAS FRACCIONES ADR, ADL Y AR.....	32
6.5.2	MEDICIÓN DE LA DIGESTIÓN DEL ALMIDÓN.....	33
6.6	PROPIEDADES TÉRMICAS.....	34
6.7	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).....	34
6.8	DIFRACCIÓN DE RAYOS X.....	35
6.9	ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	35
6.10	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	36

7	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	37
7.1	ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL.....	37
7.2	MOLIENDA MECÁNICA.....	38
7.3	DIFRACCIÓN DE RAYOS X.....	39
7.4	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO .....	47
7.5	ESPECTROSCOPIA DE INFRA ROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	52
7.6	CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC).....	58
7.7	DIGESTIBILIDAD .....	61
8	CONCLUSIÓN.....	63
9	REFERENCIAS .....	65

## ÍNDICE DE FIGURA

<b>FIGURA 1.-</b> MICROGRAFÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL ALMIDÓN DE PLÁTANO.....	5
<b>FIGURA 2.-</b> ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA AMILOSA. ....	8
<b>FIGURA 3.-</b> ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA AMILOPECTINA.....	9
<b>FIGURA 4.-</b> PATRONES DE DIFRACCIÓN DE ALMIDONES TIPO A, B Y C.....	10
<b>FIGURA 5.-</b> EMPAQUETAMIENTO DE LAS DOBLES HÉLICES DE AMILOPECTINA EN BASE AL TIPO DE POLIMORFISMO. ....	11
<b>FIGURA 6.-</b> TRANSICIONES DE FASE EN EL ALMIDÓN SOMETIDO A PROCESOS HIDROTÉRMICOS. ....	12
<b>FIGURA 7.-</b> ESQUEMA DE UN TERMOGRAMA OBTENIDO POR CBD, MOSTRANDO EL ENDOTERMA CORRESPONDIENTE A UNA TRANSICIÓN DE PRIMER ORDEN. ....	13
<b>FIGURA 8.-</b> GELATINIZACIÓN Y RETROGRADACIÓN DEL ALMIDÓN.....	15
<b>FIGURA 9.-</b> REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL PROCESO DE DIGESTIÓN DEL ALMIDÓN.....	16
<b>FIGURA 10.-</b> REPRESENTACIÓN HIPOTÉTICA SOBRE LA DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE GLUCÉMICO.....	18
<b>FIGURA 11.-</b> REPRESENTACIÓN DE LAS FRACCIONES DE ALMIDÓN.....	21
<b>FIGURA 12.-</b> MOLINO PLANITARIO DE BOLAS.....	24
<b>FIGURA 13.-</b> ESQUEMA REPRESENTATIVO DEL INTERIOR DE UN TAZÓN EN UN MOLINO PLANETARIO DE BOLAS.....	24
<b>FIGURA 14.-</b> IMAGEN DE LAS MUESTRAS DE ALMIDÓN DESPUÉS DEL TRATAMIENTO DE MOLIENDA. ....	39
<b>FIGURA 15.-</b> PATRÓN DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE LOS ALMIDONES NATIVOS.....	40
<b>FIGURA 16.-</b> PATRÓN DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE ALMIDÓN NATIVO DE PLÁTANO Y A DIFERENTES TIEMPOS DE MOLIENDA MECÁNICA.....	41
<b>FIGURA 17.-</b> PATRONES DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE ALMIDONES DE MAÍZ A) A00, B) A30, C) A60 Y D) A90 MIN.....	42
<b>FIGURA 18.-</b> PATRÓN DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE ALMIDÓN NATIVO DE	

MALANGA Y A DIFERENTES TIEMPOS DE MOLIENDA MECÁNICA.....	43
<b>FIGURA 19.-</b> PATRÓN DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DE ALMIDÓN DE PLÁTANO CON LA MODIFICACIÓN DUAL Y ENFRIAMIENTO.....	44
<b>FIGURA 20.-</b> PATRÓN DE DIFRACCIÓN DE RAYO X DE ALMIDÓN DE MALANGA CON LA MODIFICACIÓN DUAL Y ENFRIAMIENTO.....	46
<b>FIGURA 21.-</b> MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO, DE IZQUIERDA A DERECHA SE MUESTRAN LOS GRÁNULOS NATIVOS DE PLÁTANO Y POSTERIORMENTE LOS DE MALANGA.....	47
<b>FIGURA 22.-</b> MICROGRAFÍAS TOMADAS POR SEM, EN A) SON LOS GRÁNULOS DE PLÁTANO NATIVOS; EN B), C) Y D) SE OBSERVAN LOS TIEMPOS DE 5, 20 Y 80 MINUTOS DE MOLIENDA; EN E), F) Y G) MOLIENDA CON TRATAMIENTOS EN AUTOCLAVE/ENFRIAMIENTO A 5, 20 Y 80 MINUTO.....	49
<b>FIGURA 23.-</b> MICROGRAFÍAS TOMADAS POR SEM, EN A) SON LOS GRÁNULOS DE MALANGA NATIVOS; EN B) Y C), SE OBSERVAN LOS TIEMPOS DE 5, Y 80 MINUTOS DE MOLIENDA; EN D) Y E), MOLIENDA CON TRATAMIENTO EN AUTOCLAVE/ENFRIAMIENTO A 5 Y 80 MINUTOS.....	51
<b>FIGURA 24.-</b> ESPECTROS OBTENIDOS POR IR DE LOS ALMIDONES NATIVOS.....	53
<b>FIGURA 25.-</b> ESPECTROS OBTENIDOS POR IR, DEL ALMIDÓN NATIVO Y MOLIDO DE PLÁTANO.....	54
<b>FIGURA 26.-</b> ESPECTROS OBTENIDOS POR IR, DEL ALMIDÓN NATIVO Y MOLIDO DE MALANGA.....	55
<b>FIGURA 27.-</b> ESPECTROS OBTENIDOS POR IR DEL ALMIDÓN NATIVO Y DOBLEMENTE MODIFICADOS DE MALANGA.....	56
<b>FIGURA 28.-</b> ESPECTROS OBTENIDOS POR IR DEL ALMIDÓN NATIVO Y DOBLEMENTE MODIFICADOS DE PLÁTANO.....	57
<b>FIGURA 29.-</b> ENDOTERMAS TOMADOS POR DSC DE LOS ALMIDONES NATIVOS DE PLÁTANO Y MALANGA.....	59

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA 1.-TEMPERATURAS Y ENTALPÍAS DE GELATINIZACIÓN DE ALGUNOS ALMIDONES.....</b>	<b>14</b>
<b>TABLA 2.-ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LOS ALMIDONES NATIVOS.....</b>	<b>38</b>
<b>TABLA 3.- TEMPERATURAS DE TRANSICIÓN OBTENIDAS POR DSC DE LOS ALMIDONES.....</b>	<b>60</b>
<b>TABLA 4.- FRACCIONES OBTENIDAS DEL ALMIDÓN DE MALANGA CON UNO Y DOS TRATAMIENTOS.....</b>	<b>61</b>
<b>TABLA 5.- FRACCIONES OBTENIDAS DEL ALMIDÓN DE PLÁTANO CON UNO Y DOS TRATAMIENTOS.....</b>	<b>62</b>

## ABREVIATURAS

**AN**= almidón nativo

**AR**= almidón resistente

**ARD**= almidón de rápida digestión

**ALD**= almidón de lenta digestión

**ANM**= almidón nativo de malanga

**ANP**= almidón nativo de plátano

**GRM**= almidón de malanga con autoclave-enfriamiento

**GRP**= almidón de plátano con autoclave-enfriamiento

**M-M5**= almidón de malanga con 5 minutos de molienda

**M/GR-M5**= almidón de malanga con doble modificación a 5 minutos

**M-P5**= almidón de plátano con 5 minutos de molienda

**M/GR-P5**= almidón de plátano con doble modificación a 5 minutos

**M-M10**= almidón de malanga con 10 minutos de molienda

**M/GR-M10**= almidón de malanga con doble modificación a 10 minutos

**M-P10**= almidón de plátano con 10 minutos de molienda

**M/GR-P10**= almidón de plátano con doble modificación a 10 minutos

**M-M15**= almidón de malanga con 15 minutos de molienda

**M/GR-M15**= almidón de malanga con doble modificación a 15 minutos

**M-P15**= almidón de plátano con 15 minutos de molienda

**M/GR-P15**= almidón de plátano con doble modificación a 15 minutos

**M-M20**= almidón de malanga con 20 minutos de molienda

**M/GR-M20**= almidón de malanga con doble modificación a 20 minutos

**M-P20**= almidón de plátano con 20 minutos de molienda

**M/GR-P20**= almidón de plátano con doble modificación a 20 minutos

**M-M40**= almidón de malanga con 40 minutos de molienda

**M/GR-M40**= almidón de malanga con doble modificación a 40 minutos

**M-P40**= almidón de plátano con 40 minutos de molienda

**M/GR-P40**= almidón de plátano con doble modificación a 40 minutos

**M-M80**= almidón de malanga con 80 minutos de molienda

**M/GR-M80**= almidón de malanga con doble modificación a 80 minutos

**M-P80**= almidón de plátano con 80 minutos de molienda

**M/GR-P80**= almidón de plátano con doble modificación a 80 minutos

## Resumen

El almidón de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) y malanga (*Colocasia esculenta schott*) fueron sometidos a una modificación dual por medio de molienda mecánica a diferentes tiempos de molienda (5, 10, 15, 20, 40 y 80 min) y a tres ciclos de calentamiento en autoclave y enfriamiento con el objetivo de generar estructuras cristalinas resistentes a la digestión enzimática. Una vez modificado el almidón se evaluó el contenido de almidón resistente, y se realizó una caracterización estructural, térmica, morfológica mediante las técnicas de difracción de rayos X, FTIR, Calorimetría Diferencial de Barrido y Microscopía electrónica de Barrido, respectivamente. Los resultados de difracción de rayos X mostraron un patrón de difracción tipo A para ambas fuentes de almidón nativo. Sin embargo, durante los tratamientos de molienda mecánica se obtuvo un material amorfo a partir de los 5 min, mientras que con los tratamientos de molienda y autoclave/enfriamiento se formaron nuevas estructuras cristalinas en todos los tiempos de molienda para el almidón de plátano, mientras que para la fuente de malanga sólo se observó hasta los 40 min. La entalpía de gelatinización mostró una tendencia a disminuir con la molienda mecánica. Con los tratamientos de molienda con autoclave la temperatura incrementó en comparación a su contraparte nativa en ambos almidones. Los estudios morfológicos mostraron que la molienda mecánica degradó la estructura granular del almidón de plátano y malanga, sin embargo, con ambos tratamientos (molienda y autoclave/enfriamiento) se observó que a los 80 min el almidón de plátano mostró una estructura más compacta en comparación al almidón de malanga.

# 1 INTRODUCCIÓN

El interés en el desarrollo de alimentos funcionales ha aumentado debido a la demanda de alimentos que puedan mantener y mejorar el estado de salud de los consumidores. Los alimentos funcionales incluyen a los alimentos que ejercen un efecto benéfico sobre la salud humana y contribuyen a reducir el riesgo de enfermedades crónicas más allá de las funciones básicas de nutrición (Huggett & Schliter, 1996). La acción benéfica ejercida por los alimentos funcionales se debe principalmente a un componente o diversos componentes, que bien pueden estar presentes en los alimentos a bajas concentraciones. Estos componentes son denominados ingredientes funcionales (Plaza *et al.*, 2008). Por esta razón, la industria de alimentos está interesada en obtener ingredientes funcionales para ser añadidos a los distintos productos alimenticios e incrementar su acción benéfica en los consumidores. Los prebióticos son ingredientes funcionales que se definen como sustancias no digeribles (hidratos de carbono no digeribles), que ejercen algún efecto biológico en los seres humanos, mediante la estimulación selectiva del crecimiento a la actividad biológica de microorganismos benéficos presentes o introducidos en el intestino.

La lactulosa, galactooligosacaridos, fructooligosacaridos, inulina y sus hidrolizados, maltooligosacaridos, y el almidón resistente (AR), son los prebióticos que más son utilizados dentro de la alimentación humana (Grajek *et al.*, 2005). El AR es la fracción de almidón que no es hidrolizado por las enzimas digestivas humanas (Asp, 1994). Diferentes estudios han demostrado que el AR presenta funciones fisiológicas similares a las de la fibra dietética (Asp, 1994; Eerlingen&Delcour, 1995). El AR es fermentado en el intestino grueso por la microflora del colon para producir ácidos grasos de cadena corta (AGCC), donde uno de los principales es el butirato; este ácido ha sido fuertemente vinculado con la prevención de cáncer de colon (Topping& Clifton,2001). El consumo de AR puede ayudar a reducir la ingesta calórica, la respuesta glucémica y los niveles de colesterol y triglicéridos en sangre (Brounset *al.*,

2007). En este mismo sentido, otra fracción de almidón que ha recibido interés en los últimos años debido a sus efectos benéficos en la salud es el almidón de digestión lenta (ADL) (Englyst *et al.*, 1992; Wolf *et al.*, 1999; Han & BeMiller, 2007; He *et al.*, 2008). La característica importante del ADL es que se digiere lentamente a lo largo de todo el intestino delgado, proporcionando una liberación sostenida de glucosa hacia la sangre. Por lo tanto, ADL es considerado benéfico para ser utilizado en el tratamiento dietético de personas con trastornos metabólicos de enfermedades como la obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares (Wolever & Mehling, 2002). Por ejemplo, el ADL produce saciedad y puede ser incorporado en productos alimenticios comercializados para los programas de pérdida de peso (Han & BeMiller, 2007). Debido a la ya mencionada importancia del AR y del ADL en el presente trabajo se pretendió modificar la estructura del almidón de plátano y malanga mediante un procedimiento dual (Molienda mecánica y tratamientos hidrotérmicos/enfriamiento), con la finalidad de formar estructuras de lenta y resistente a la digestión enzimática, que pudieran ser utilizadas más adelante como aditivo o sustituto en la elaboración de algún alimento funcional.

## **2 ANTECEDENTES**

### **2.1 ALIMENTOS FUNCIONALES**

Se dice de cualquier alimento que, en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona, es un alimento funcional. En Europa se define alimento funcional a "aquel que satisfactoriamente ha demostrado afectar benéficamente una o más funciones específicas en el cuerpo, más allá de los efectos nutricionales adecuados en una forma que resulta relevante para el estado de bienestar y salud o la reducción de riesgo de una enfermedad".

Los alimentos funcionales producen efectos beneficiosos a la salud superiores a los de los alimentos tradicionales. Dentro de la gama de alimentos funcionales están los prebióticos, los probióticos y los simbióticos. Los prebióticos son ingredientes no digeribles de la dieta que estimulan el crecimiento o la actividad de uno o más tipos de bacterias en el colon. Los probióticos son microorganismos vivos que, al ser agregados como suplemento en la dieta, favorecen el desarrollo de la flora microbiana en el intestino. Los simbióticos combinan en sus formulaciones la unión de prebióticos y probióticos, lo que permite aprovechar más los beneficios de esa unión. La industria alimentaria cubana ha comenzado la producción de alimentos funcionales.

### **2.2 PREBIOTICOS**

Los prebióticos son ingredientes no digeribles de la dieta, que producen efectos beneficiosos estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de uno o más tipos de bacterias en el colon, las que tienen a su vez la propiedad de elevar el potencial de salud del hospedero. Para que una sustancia (o grupo de sustancias) pueda ser definida como tal debe cumplir los requisitos siguientes:

- Ser de origen vegetal.
- Formar parte de un conjunto muy heterogéneo de moléculas complejas.

- No ser digerida por las enzimas digestivas.
- Ser parcialmente fermentada por las bacterias colónicas.
- Ser osmóticamente activa.

### 2.3 EL PLÁTANO

El plátano es un término general que abarca un gran número de especies o híbridos del género *Musa* de la familia *Musaceae*. La especie *Musa paradisiaca* comprende al plátano macho o largo, mientras que otras variedades como dominico, manzano y Roatán, entre otros, pertenecen a la especie *Musa sapientum* (Zhang *et al.*, 2005).

El plátano es considerado uno de los cultivos más importantes en la agricultura. Dentro de las frutas ocupa el primer lugar, es considerado como una fruta básica en la alimentación mexicana, debido a su bajo precio, sabor y disponibilidad durante todo el año. Destaca su contenido de hidratos de carbono, por lo que su valor calórico es elevado. Los nutrientes más representativos del plátano son el potasio, el magnesio, el ácido fólico y su elevado aporte de fibra. La composición por cada 100 gramos de fracción comestible es la siguiente:

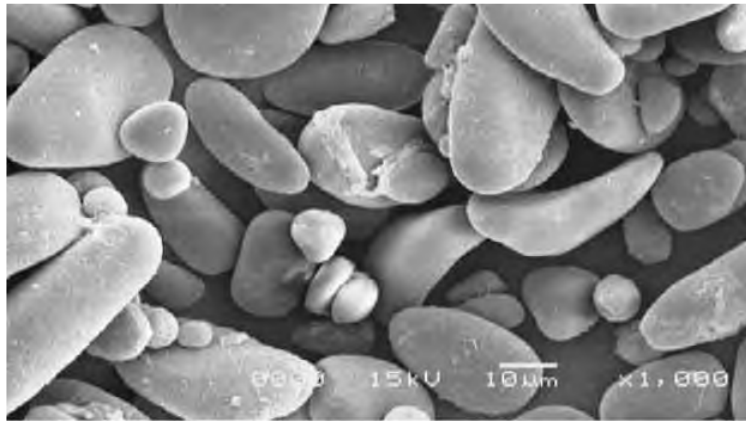
- Calorías 85.2
- Hidratos de carbono 20.8 g
- Fibra 2.5 g
- Magnesio 36.4 mg
- Potasio 350 mg

En el caso de la industrialización del plátano, existen diversas técnicas para su procesamiento en verde, con la finalidad de obtener productos como:

- Harina de plátano (mezclas para concentrado animal)
- Harinas para consumo humano
- Hojuelas de plátano: secas o fritas

En 2010 se produjeron 2,103,362 toneladas de plátano en todo el país, de las cuales en el estado de Oaxaca alcanzó las 53,619 toneladas (SIAP-SAGARPA, 2012).

En general los gránulos de almidón de plátano “macho” (*Musa paradisiaca* L.) pueden presentar forma ovales, elipsoidales o irregulares alargadas con un tamaño promedio de entre 20 a 50  $\mu\text{m}$  (**Figura 1**) (Carmona-García *et al.*, 2009). Se ha reportado que los gránulos pequeños pueden adsorber una mayor cantidad de agua que los gránulos grandes debido a la mayor área de contacto (Millan-Testa *et al.*, 2005).



**Figura 1.-** Micrografía electrónica de barrido del almidón de plátano.

(Carmona-García *et al.*, 2009)

## 2.4 LA MALANGA

La malanga, también conocida como Taro, Dashen o Ñame, es considerada una de las especies de raíces y tubérculos con gran potencial en las zonas tropicales. Los cormos, denominación botánica del tallo subterráneo, se utilizan para la alimentación humana, animal y para diferentes usos industriales. Es una especie poco conocida en México, sin embargo, en Veracruz, el Colegio de Postgraduados ha llevado a cabo diversas investigaciones relativas a este cultivo desde 1988. Este tipo de tubérculo forma parte de la dieta diaria de millones de personas alrededor del mundo, originaria de África, Asia, Oceanía, y debido sobre todo a la fuerte inmigración a occidente, recientemente en América y Europa (FAOSTAT, 2008). En México existen varias regiones que cuentan con las condiciones adecuadas para siembra y explotación del cultivo de malanga, lo que lo hace un producto con alto potencial para su implantación en el país, participando activamente en la reconversión de cultivos

que lo necesiten.

Actualmente, Tuxtepec y Valle Nacional son los únicos municipios del estado de Oaxaca que producen y promueven este tubérculo, el cual no sólo crea 60 mil 411 jornales por labores de cultivo y cosecha, sino también genera una derrama económica superior a los seis millones de pesos anuales (SIAP-SAGARPA, 2005). Químicamente, el almidón consiste de dos polímeros, amilosa y amilopectina, la organización física de estos dos biopolímeros dentro de la estructura granular, influye en las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón (Bello-Pérez *et al.*, 2002). Por lo cual es muy importante conocer las características estructurales de los almidones, con la finalidad de poder sugerir posibles aplicaciones en diversos productos alimenticios y no alimenticios.

Los gránulos de almidón de malanga son pequeños (0.5-5  $\mu\text{m}$ ) y forman geles de textura suave y se ha encontrado que es fácilmente digerible.

## **2.5 ALMIDÓN**

### **2.5.1 GENERALIDADES DEL ALMIDÓN**

El almidón es el principal carbohidrato de reserva sintetizado por las plantas y es una fuente de energía para muchos organismos, principalmente el hombre (Buleonet *et al.*, 1998). Está presente en un gran número de productos agrícolas como; cereales (maíz, trigo, arroz, avena, etc.), en donde se puede encontrar desde un 30 hasta un 80%, en leguminosas (frijol, chícharo, haba, lentejas, etc.) con un contenido de 25 a 50%, en tubérculos (papa, yuca, camote y malanga) con un 60 a 90%, y en frutos como el plátano en estado inmaduro los cuales pueden alcanzar un contenido hasta del 70% (Bello-Pérez & Paredes-López, 1999).

El almidón está organizado en partículas discretas llamadas “gránulos”, cuya morfología, composición química y estructura son características de cada especie botánica. El tamaño de los gránulos de almidón varía desde 0.5 a 100  $\mu\text{m}$ . Ejemplo

de ello, es la papa con tamaños de gránulo grande que van de 15 a 100  $\mu\text{m}$  y el almidón de amaranto con gránulos pequeños (0.8-2.5  $\mu\text{m}$ ) (Bello-Pérez & Paredes-López, 1999).

Químicamente el almidón está compuesto por dos homopolímeros de glucosa de diferente estructura, amilosa y amilopectina. Las cantidades relativas de estos dos biopolímeros, así como también su organización física dentro del gránulo, le confieren propiedades fisicoquímicas y funcionales características a cada fuente botánica de almidón (Bello-Pérez, 1995).

## **2.6 COMPONENTES PRINCIPALES DEL ALMIDÓN**

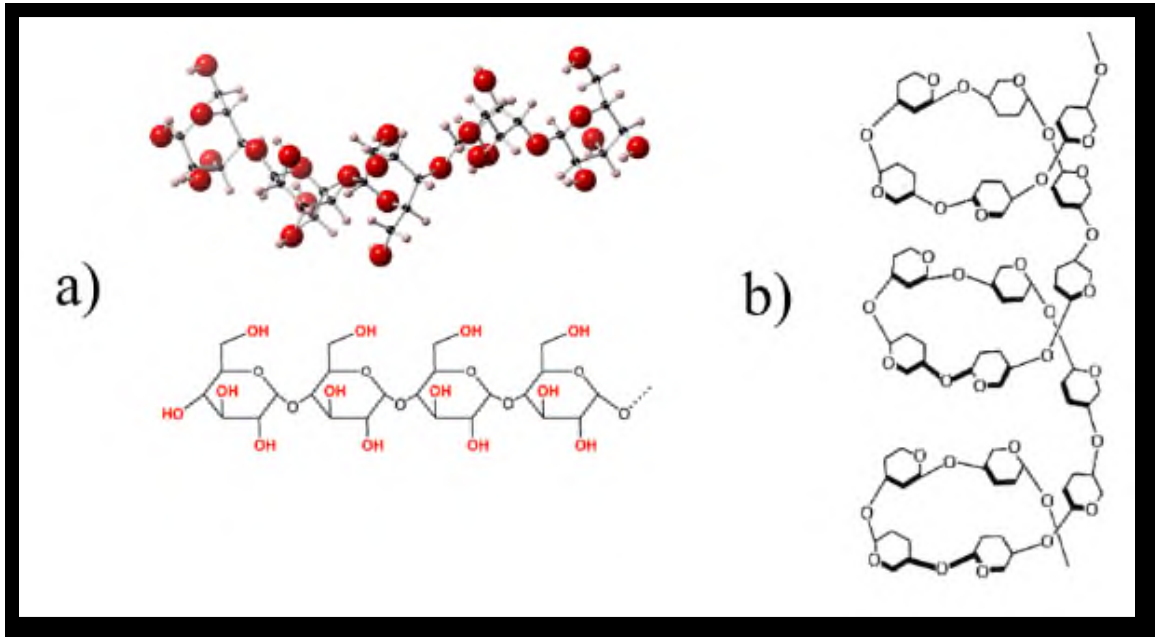
Cuando los gránulos de almidón son extraídos y secados, presentan una apariencia polvosa y con forma y tamaño regular o irregular, depende de la fuente botánica de donde es aislado. Desde el punto de vista químico el almidón está compuesto principalmente de dos polisacáridos de diferente estructura (amilosa y amilopectina), así como de proteínas (0.05-0.5%), lípidos (0.1-1.0%) y cenizas (0.1-3.0%) (Guilbert & Mercier, 1985). La proporción de amilosa y amilopectina dependen del origen o fuente botánica de extracción del almidón, la mayoría de los almidones presenta de 20 a 25% de amilosa y son considerados almidones “normales”. Algunos almidones presentan un contenido de amilosa muy bajo (<1% p/p), estos son conocidos como almidones cerosos o (BeMiller & Huber, 2007).

### **2.6.1 AMILOSOSA**

La amilosa es un polisacárido esencialmente lineal, conformado por unidades de D-glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ -1,4; tal como se muestra en la **Figura 2 a**, y se ha encontrado la presencia de algunas ramificaciones, las cuales están unidas por enlaces  $\alpha$ -1,6 (Thomas & Atwell, 1999).

La amilosa en soluciones neutras forma una hélice, la cual presenta de 6 a 8 unidades de glucosa por cada vuelta, estas vueltas se aprecian en la **Figura 2 b**. La amilosa tiene la capacidad de formar complejos con el yodo, los lípidos y los

alcoholes de longitud de cadena larga. La amilosa tiene una masa molar aproximadamente de  $1 \times 10^5$ - $1 \times 10^6$  Dalton (Da), con un promedio de 500 a 6000 unidades de D-glucosa, repartidas en un número de cadenas que van de 1 a 20 (MacAllister, 1979).



**Figura 2.-** Estructura química de la amilosa.

(Whistler & Daniel, 1984)

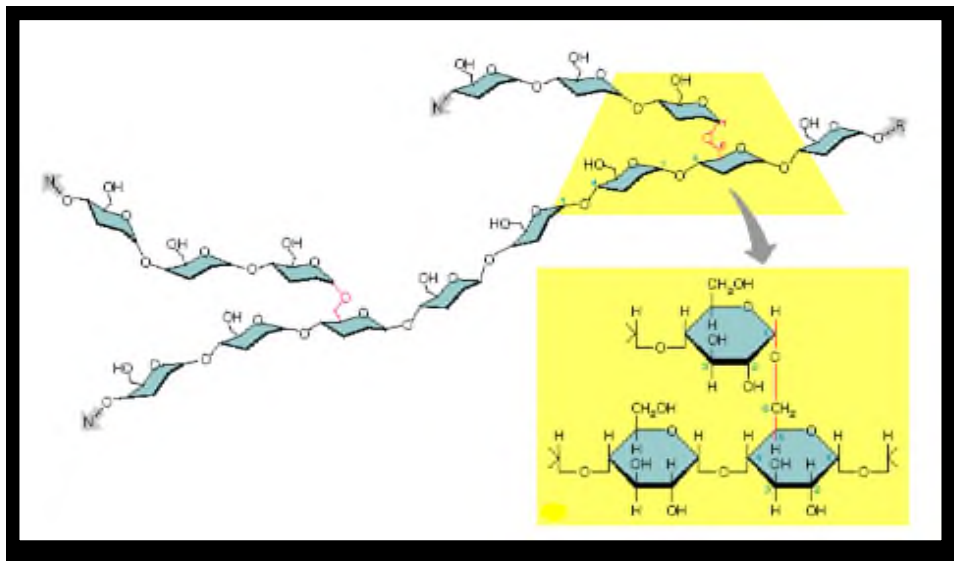
La amilosa y el yodo forman un complejo de color azul oscuro y es convencionalmente usado para cuantificar el contenido de amilosa en los almidones. La intensidad del color azul resultante del acomplejamiento amilosa-yodo, proporciona información acerca de la longitud de cadena de la amilosa. Por su parte los complejos formados entre la amilosa y los alcoholes de cadena larga o los lípidos son capaces de prevenir la retrogradación. Estos complejos pueden utilizarse para separar la amilosa de la amilopectina y para modificar las propiedades de la amilosa, en un sistema que contenga agentes formadores de complejos (Thomas & Atwell, 1999)

### 2.6.2 AMILOPECTINA

La amilopectina es el componente ramificado del almidón, está formada por cadenas

de residuos  $\alpha$ -D-glucopiranosidos unidos por enlaces  $\alpha$ -1,4 en su región lineal y presenta enlaces  $\alpha$ -1,6 en los puntos de ramificación, los cuales representan un 5 a 6% de los enlaces totales (Buleón *et al.*, 1998), como se aprecia en la **Figura 3**. Es el componente mayoritario del almidón, se encuentra en una proporción de 70 a 80% en los almidones considerados como normales y en ciertos casos alcanza niveles de hasta 98-99%, los cuales son considerados como cerosos (Zobel, 1988).

Su estructura, composición y proporción en el gránulo contribuyen notablemente en las propiedades funcionales del almidón, por esta razón, ha sido estudiada ampliamente en términos de su tamaño molecular, ramificación y longitud de las cadenas internas y externas (Bello-Pérez *et al.*, 2002). La masa molar de la amilopectina varía de entre  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^8$  Da, estas variaciones dependen del origen botánico del almidón, de las condiciones de fraccionamiento de las moléculas de amilosa y amilopectina y del método usado para determinar la masa molar (Bello-Pérez *et al.*, 2002).



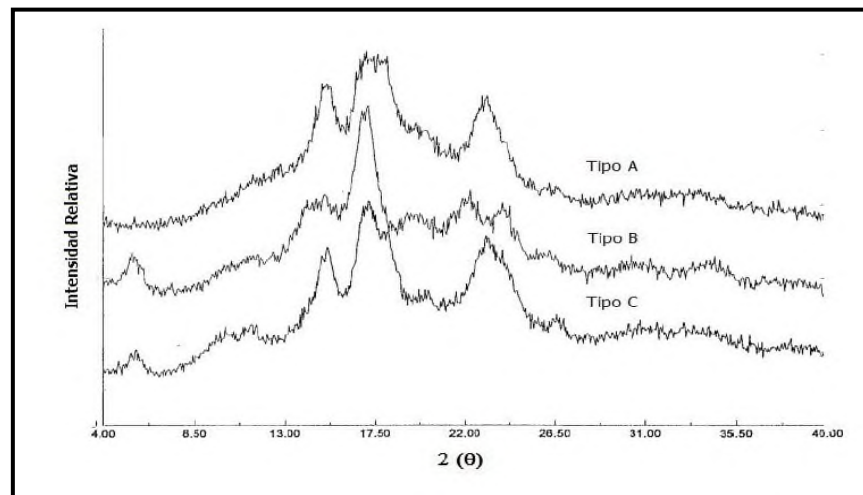
**Figura 3.-** Estructura química de la amilopectina.

(Tester & karkalas, 2004)

## 2.7 ORGANIZACIÓN DEL GRÁNULO DE ALMIDÓN

En la naturaleza, la amilosa y amilopectina se encuentran en forma semi-cristalina,

en entidades llamadas gránulos, los cuales pueden ser estudiados mediante microscopia electrónica de barrido (MEB). Esta técnica ha probado ser una herramienta efectiva para su caracterización morfológica. Cuando los gránulos de almidón nativo son sometidos a microscopia de luz polarizada, muestran un patrón de birrefringencia conocida como Cruz de Malta. La presencia de la Cruz de Malta indica un alto orden dentro del gránulo (French, 1984). La difracción de rayos X puede utilizarse para examinar la naturaleza cristalina de los gránulos de almidón y para definir las cantidades relativas de las áreas amorfas y cristalinas dentro del gránulo. Las dobles hélices, formadas por las cadenas de la amilopectina, se pueden ordenar en tres arreglos diferentes, dando lugar a la formación de tres patrones de difracción de rayos X: tipo A, B y C (Zobel, 1988), estos patrones de difracción se muestran en la **Figura 4**.



**Figura 4.-** Patrones de difracción de almidones tipo A, B y C.

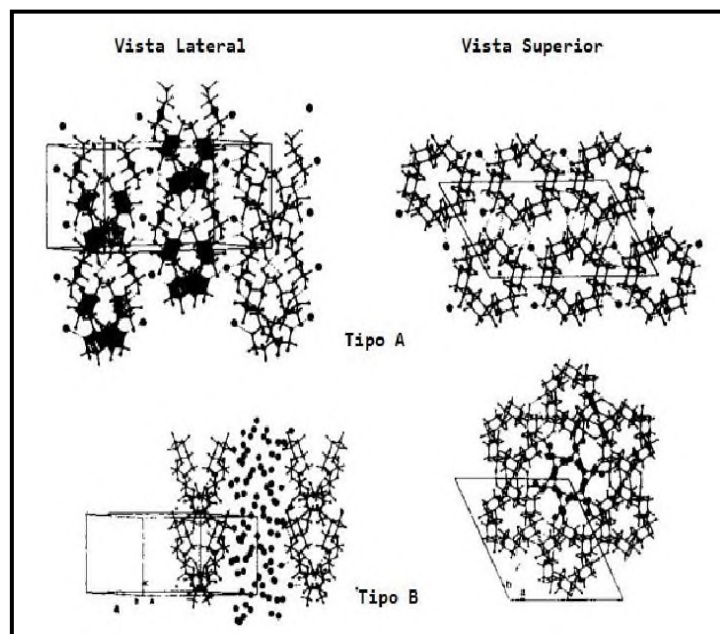
(Spence & Jane, 1999)

Las dobles hélices son estabilizadas por puentes de hidrógeno y fuerzas de Vander Waals (Imberty *et al.*, 1991). EL polimorfismo tipo A, es encontrado común mente en la mayoría de los cereales y algunas raíces (yuca y camote), las dobles hélices de la amilopectina están empaquetadas en forma monoclinica y contiene de 4 a 8 moléculas de agua, el polimorfismo tipo B, por lo regular es encontrado en tubérculos y raíces (papa y canna) y presentan dobles hélices de amilopectina empaquetadas

en forma hexagonal y con 36 moléculas de agua, en la **Figura 5**, se observan estos tipos de polimorfismo. El polimorfismo C, es una mezcla de los polimorfismos A y B, y es característico de almidones de leguminosas (Buleon *et al.*, 1998; Imberty *et al.*, 1991).

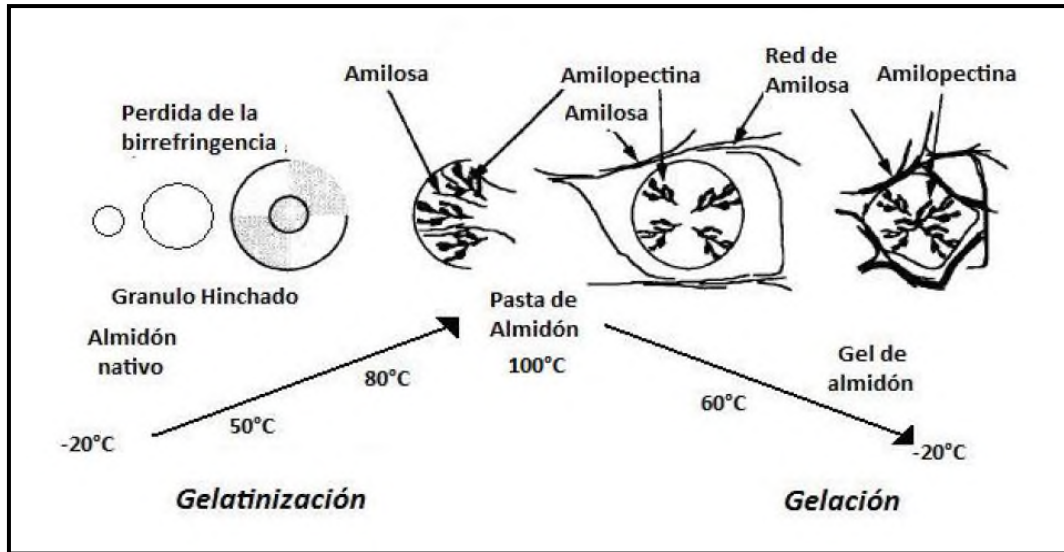
## 2.8 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

Los almidones nativos son insolubles en agua fría, pero cuando son suspendidos en agua pueden presentar un hinchamiento limitado y reversible. Cuando el almidón nativo es sometido a calentamiento en exceso de agua y por encima de los 60 °C, ocurren cambios en la estructura del gránulo, la **Figura 6** muestra dicha transición de fase del almidón cuando es sometido a procesos hidrotérmicos.



**Figura 5.**-Empaquetamiento de las dobles hélices de amilopectina en base al tipo de polimorfismo.

(Gallant *et al.*, 1997).



**Figura 6.**-Transiciones de fase en el almidón sometido a procesos hidrotérmicos.

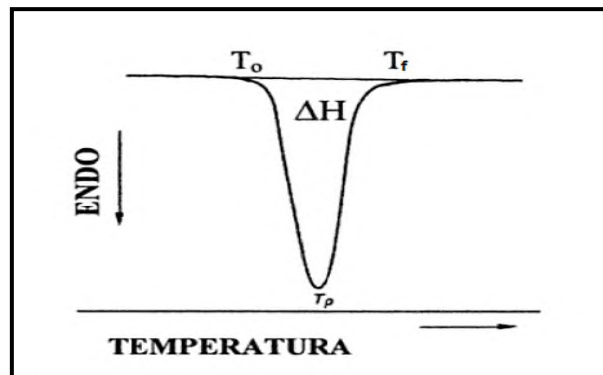
(Bornet, 1993).

Cuando el almidón se encuentra con suficiente agua, los gránulos absorben una pequeña cantidad de ésta y se hincha hasta cierto límite (30-50% del peso seco de almidón) (French, 1984). Este proceso es reversible antes de alcanzar la temperatura de gelatinización ( $T_p$ ). Mediante el calentamiento de los gránulos de almidón en exceso de agua y sobrepasando la temperatura de gelatinización, los gránulos de almidón pierden su arreglo molecular manifestándose cambios irreversibles en sus propiedades, tales como pérdida de la estructura cristalina nativa y pérdida de la birrefringencia (Atwell *et al*, 1988). Este fenómeno es conocido como gelatinización y es un proceso endotérmico que corresponde a la disociación de las moléculas de almidón, las cuales se encuentran en una conformación de dobles hélices, pasando a una conformación amorfa. La temperatura de gelatinización e incremento de la entalpía de gelatinización, pueden ser determinados utilizando la técnica de Calorimetría de Barrido Diferencial (CBD). El pico característico de una endoterma de CBD refleja la pérdida de dobles hélices de la amilopectina (Srichuwong & Jane, 2007).

## 2.9 PROPIEDADES TÉRMICAS DE LOS ALMIDONES

### 2.9.1 GELATINIZACIÓN

La gelatinización es un fenómeno de transición de fase orden-desorden en donde se absorbe calor y este proceso está en función del contenido de agua. Este proceso endotérmico es analizado mediante CBD, para determinar la temperatura de gelatinización y entalpía ( $\Delta H$ ) de la misma, se lleva a cabo la transición de fase (Zhang *et al.*, 2005; Liu, 2005). En la **Figura 7** se muestra un termograma típico obtenido por CBD, en donde se observa un endoterma producida por una transición de primer orden como la fusión. La integración de los límites que conforman el pico, la cantidad de muestra y la velocidad de calentamiento permiten calcular la entalpía de transición de fase ( $\Delta H$ ) (Donovan, 1979).



**Figura 7.**-Esquema de un termograma obtenido por CBD, mostrando el endoterma correspondiente a una transición de primer orden.

$T_o$ = temperatura inicial de la transición,  $T_p$ = Temperatura de pico o gelatinización y  $T_f$ = Temperatura final de la transición.

(Martínez-Navarrete *et al.*, 1998).

La CBD es una herramienta útil para analizar el proceso de gelatinización en almidones, la cual es una propiedad fisicoquímica importante, que varía de acuerdo a la composición química (relación amilosa-amilopectina, contenido de fósforo, lípidos, proteínas y enzimas, etc.), estructura molecular de la amilopectina (longitud de cadena, grado de ramificación, peso molecular), morfología y distribución de tamaño

de los almidones (Singh *et al.*, 2007), en la **Tabla 1** se pueden observar las temperaturas y entalpías de gelatinización de algunos almidones.

**Tabla 1.**-Temperaturas y entalpías de gelatinización de algunos almidones.

Fuente	T <sub>i</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>f</sub> (°C)	ΔH (J/g)	Referencia
Arroz normal	61.7	69.6	78.4	9.7	Liu <i>et al.</i> , 1999
Arroz ceroso	0.5	68.3	78.1	9.8	Liu <i>et al.</i> , 1999
Maíz común	66.11	77.71	10.45	10.45	Núñez-Santiago <i>et al.</i> , 2004
Plátano ( <i>Musa paradisiaca</i> )	75.46	80.70	16.82	16.82	Núñez-Santiago <i>et al.</i> , 2004
Tapioca	61.5	66.6	14.3	14.3	Atichokudomchai y Varavinit, 2003
Papa	56.7	60.1	14.0	14.0	Morikawa y Nishinari, 2000
Cassava	66.8	72.4	10.2	10.2	Jyothiet <i>et al.</i> , 2006
Malanga	73.6	80.6	87.6	10.6	Agama-Acevedo <i>et al.</i> , 2011

(Rodríguez-Marín, 2009)

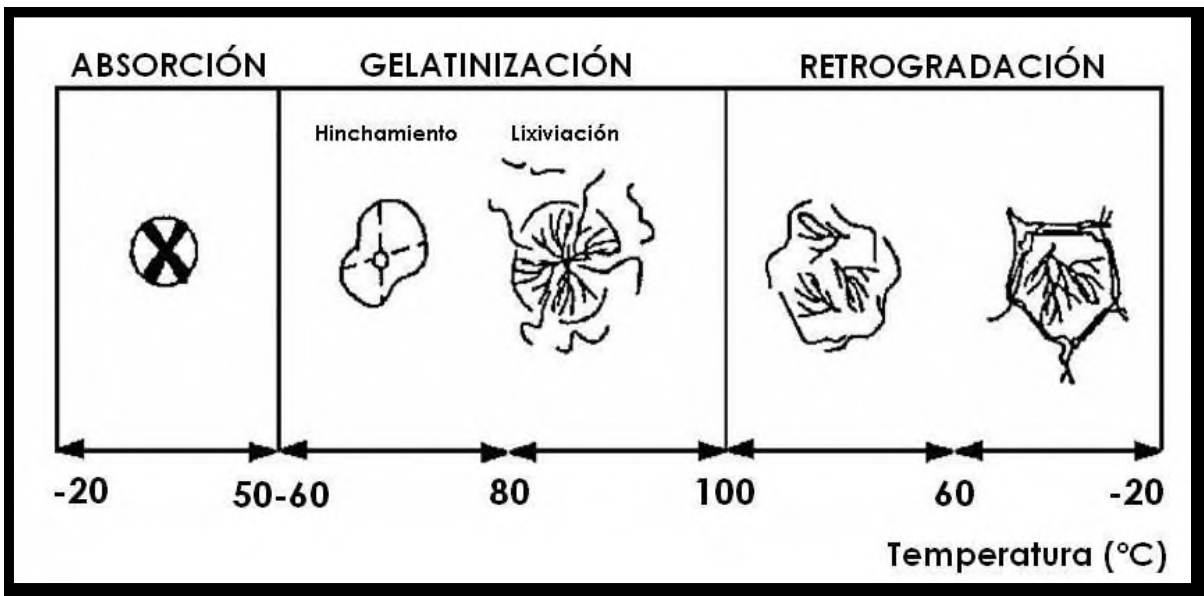
### 2.9.2 RETROGRADACIÓN

Por otro lado, si la pasta de almidón gelatinizado se enfría lentamente, las moléculas de amilosa tendrán tiempo suficiente para alinearse de tal manera que forman varios enlaces por puente de hidrogeno entre cadenas paralelas adyacentes (Lineback&Rasper, 1988), a este fenómeno se le conoce con el nombre de retrogradación (**Figura 8**).

Una vez que ocurre el enfriamiento, la amilosa se recristaliza rápidamente y casi la mitad se insolubiliza una vez que se alcanza la temperatura ambiente. Por otra parte, la amilopectina retrograda de forma más lenta. A temperatura ambiente, la vida

promedio para el proceso de re cristalización es de 2 a 10 días.

La retrogradación es un proceso complejo y depende de varios factores, como el tipo y concentración del almidón, regímenes de cocimiento y enfriamiento, pH y la presencia de solutos como lípidos, sales, azúcares y se manifiesta por la formación de precipitados o geles, y afecta la textura, aceptabilidad y digestibilidad de los alimentos que contienen almidón (Biliaderis, 1991). Consiste en dos procesos: la gelatinización de las moléculas de amilosa que son exudadas del gránulo durante la gelatinización y la recristalización de la amilopectina.



*Figura 8.-Gelatinización y Retrogradación del almidón.*

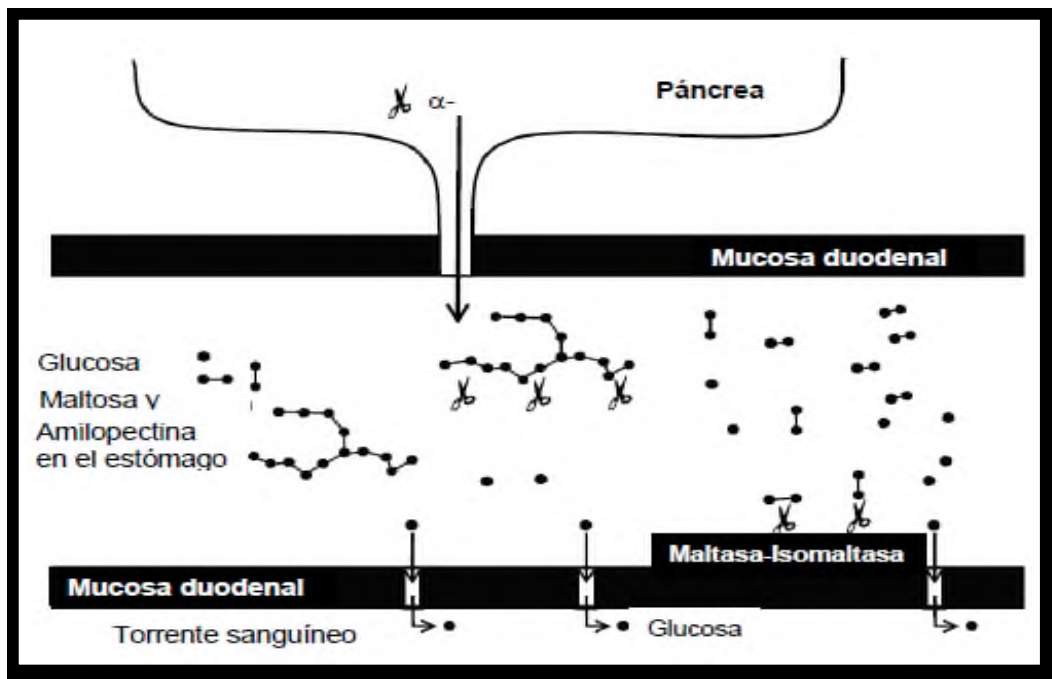
(Colonna *et al.*, 1992)

## 2.10 DIGESTIÓN DEL ALMIDÓN

La digestión de los gránulos de almidón es un proceso complejo que depende de diferentes fases: la difusión de la enzima hacia el sustrato, la presencia de poros y/o canales, la absorción de la enzima al material amiláceo y el evento hidrolítico (Colonna *et al.*, 1992) (**Figura 9**).

La velocidad a la cual el almidón y los azúcares son digeridos y absorbidos durante el tránsito en el intestino delgado, ha recibido considerable interés debido a la asociación con la respuesta glucémica y el metabolismo postprandial del sustrato (carbohidratos no glucémicos).

Los carbohidratos de los alimentos que contienen azúcares libres, almidón gelatinizado y que presentan una fácil dispersión de la matriz del almidón, son digeridos y absorbidos más rápidamente. Sin embargo, aquellos carbohidratos que restringen el acceso de las enzimas digestivas al almidón y liberan a los carbohidratos lentamente de la matriz del alimento, prolongan el proceso de digestión (Englyst *et al.*, 2003). La respuesta glucémica generada por el alimento después de su absorción, va a ser diferente dependiendo del tipo de alimento consumido. Cuando se toma como referencia un alimento estándar ésta se puede reportar como índice glucémico.



**Figura 9.**-Representación esquemática del proceso de digestión del almidón.

(Barboza et al., 2009)

El índice glucémico (IG) se relaciona con la velocidad de hidrólisis y digestión del almidón, existen reportes en los cuales realizaron estudios en pacientes con diabetes mellitus, aplicando diferentes dietas; en estos estudios se encontró que en las dietas que contenían alimentos con almidón de digestión lenta como cereales integrales, pastas y legumbres, el IG fue bajo; mientras en las dietas con productos de digestión rápida como pan, cereales para el desayuno y patatas, el IG fue alto (Brand-Miller, 2003).

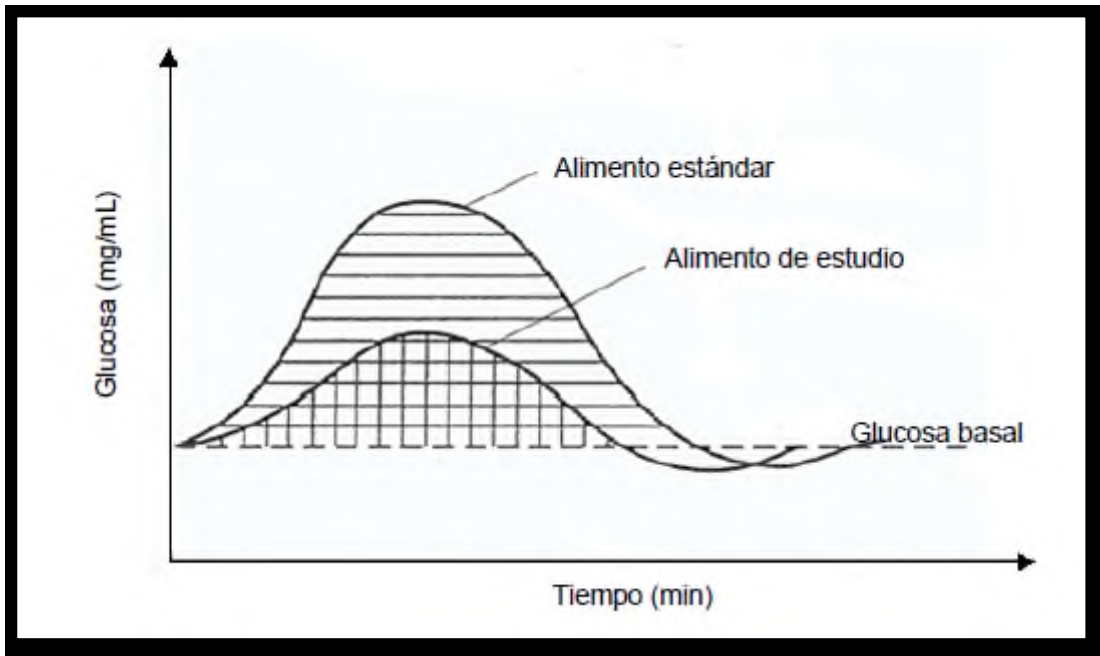
El IG se define como el área bajo la curva de la respuesta glucémica de una porción de 50 g de carbohidratos de un alimento de ensayo, expresada en porcentaje de respuesta a la misma cantidad de carbohidratos de un alimento estándar (glucosa o pan blanco) ingerido por el mismo sujeto (Jenkis *et al.*, 2002; Jiménez-Cruz *et al.*, 2003; Englyst *et al.*, 2005) **(Figura 10)**. Este puede determinarse como:

$$IG = \frac{\text{Área bajo la curva del alimento de estudio}}{\text{Área bajo la curva del alimento estándar}} \times 100$$

El IG de un alimento es una herramienta para determinar la velocidad a la cual los carbohidratos presentes en un alimento son digeridos y absorbidos como glucosa generalmente, al alimento que tiene un efecto similar o más grande que el alimento estándar (IG entre 70-100), es considerado un alimento de IG alto, los que presentan un IG entre 55-70, son considerados como alimentos de IG medio, y los que tienen un IG menor de 55, se clasifican como alimentos de IG bajo (Brennan, 2005).

El almidón tiene una estructura semicristalina compleja y altamente ordenada, entre los factores que afectan la susceptibilidad enzimática del almidón se encuentran: el nivel molecular, la estructura cristalina y el empaquetamiento de la región amorfa (Colonna *et al.*, 1992) y la cantidad de enlaces  $\alpha$ -1,6 dificultan la  $\alpha$ -amilólisis (Park & Rollings, 1994). Además la longitud de cadena de la amilopectina se correlaciona con la digestibilidad debido a que cadenas cortas en las dobles hélices, son

digeribles lentamente, mientras que las cadenas largas forman hélices más estables en la región cristalina, que producen una disminución en la digestibilidad (Lehmann & Robin, 2007).



**Figura 10.**-Representación hipotética sobre la determinación del índice glucémico.

(Constantiniet *al.*, 1999).

Se ha reportado también que el tipo de cristalinidad repercute en la digestibilidad del almidón, ya que el tipo A muestra una mayor susceptibilidad a la hidrólisis, comparado con gránulos de almidón con cristalinidad tipo B y tipo C, esto es debido a la diferencia que hay en el empaquetamiento de sus dobles hélices y por lo tanto en la cantidad de agua que contienen (Zhang *et al.*, 2006).

### **2.10.1 FACTORES QUE AFECTAN LA DIGESTIÓN DEL ALMIDÓN**

La digestibilidad del almidón depende de diversos factores tanto intrínsecos como extrínsecos tales: la fuente botánica, la presencia de proteínas, lípidos y otros

carbohidratos, los tipos de tratamientos térmicos durante el procesamiento, las condiciones y tiempo de almacenamiento (Bello-Perez & Paredes-Lopez., 2009) y la proporción amilosa/amilopectina (Lehmann & Robin., 2007). La mayoría del almidón consumido en la dieta está presente en los alimentos cocidos, el cual es parcial o totalmente gelatinizado, y por lo tanto es fácilmente digerible.

Otros factores que pueden influir en la formación de AR, se encuentran, las propiedades inherentes del almidón (cristalinidad del almidón, estructura granular, relación amilosa/amilopectina, retrogradación de la amilosa, longitud de la cadena de amilosa y ramificación de la amilopectina), calentamiento y humedad, interacción del almidón con otros componentes (proteínas, fibra dietética, inhibidores de enzima, iones, azúcares y lípidos), condiciones de procesamiento, procesos térmicos y condiciones de almacenamiento (Sajilata *et al.*, 2006).

Tomando en cuenta estos factores, se han reportado estudios en los que se realizan modificaciones a los almidones, con el objetivo de incrementar el contenido de AR.

## **2.11 CLASIFICACIÓN NUTRICIONAL DEL ALMIDÓN**

La calidad nutricional del almidón depende en gran medida de la transformación y el estado del almidón, se pensaba que prácticamente todo el almidón era hidrolizado y adsorbido en el intestino delgado. Hoy en día se ha comprobado la existencia de diferentes tipos de almidón, que están en función de su velocidad de hidrólisis de hidrólisis y adsorción en el intestino delgado (**Figura 11**). Englyst *et al.*, (1992) propusieron una clasificación del almidón en: almidón de digestión rápida (ADR), almidón de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR).

- ADR es aquella fracción en la que la cantidad de glucosa es liberada después de los 20 minutos de hidrólisis.
- ADL es la fracción de almidón en que la cantidad de glucosa es liberada entre 20 y 120 minutos después de la hidrólisis.

- AR es la cantidad de almidón que no es hidrolizado después de los 120 minutos de la hidrólisis.

### **2.11.1 CLASIFICACIÓN DEL ALMIDÓN RESISTENTE**

El almidón resistente es clasificado en 5 clases o tipos:

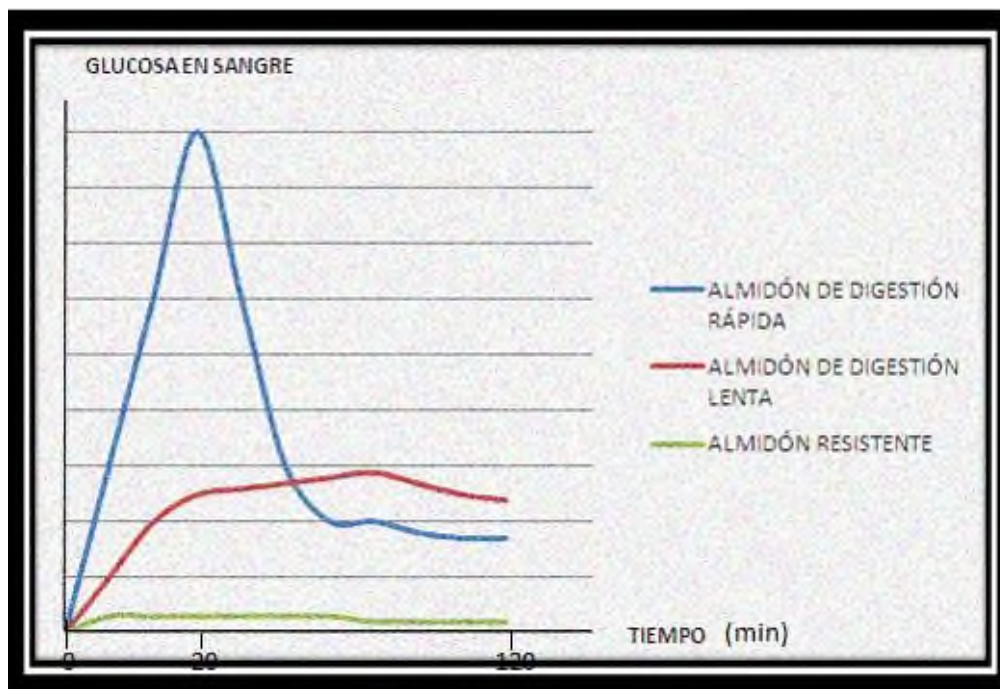
AR<sub>1</sub>: el almidón que está protegido por las paredes celulares y otras barreras a las acciones de las enzimas del aparato digestivo y a las condiciones ácidas del tracto digestivo se considera AR Tipo I, ejemplos de este tipo de AR sería el almidón de semillas y granos parcialmente molidos.

AR<sub>2</sub>: el almidón nativo altamente cristalino como el de los plátanos o las papas crudas no puede reducirse a los productos de degradación que pueden ser absorbidos por el intestino delgado y se consideran AR de tipo II.

AR<sub>3</sub>: el almidón en un sistema alimenticio es gelatinizado, posteriormente se enfría y se deja retrogradar, es creado un almidón resistente similar, conocido como AR tipo III, las hojuelas de maíz, papas cocidas y chicharos enlatados, contienen un poco de almidón retrogradado que es resistente (Englyst *et al.*, 1992).

AR<sub>4</sub>: en adición a éstos tres tipos de almidón resistente, el almidón que es modificado químicamente, alterando su estructura nativa ha sido definido como AR tipo IV (Lineback, 1997, Sajilata *et al.*, 2006).

AR<sub>5</sub>: a partir del 2006, Brown, hace mención de un quinto tipo de almidón resistente basado en la formación de complejos amilosa-lípidos, el cual presenta un patrón de difracción del tipo-V polimórfico.



**Figura 11.-**Representación de las fracciones de almidón.

Englyst *et al.*, (1992)

## 2.12 EFECTOS FISIOLÓGICOS DEL AR Y ADL

El término “almidón resistente” (AR), fue adoptado por Hans Englyst, un fisiólogo británico, en la década de 1980. El AR se define como la suma de almidón y productos de la degradación del almidón que no es absorbido en el intestino delgado de personas saludables, pero puede ser fermentado y absorbido en el intestino grueso (EURESTA, 1992; Saura-Calixto *et al.*, 1993).

El AR se comporta por lo tanto como fibra dietética, y tiene potencial como un ingrediente relacionado con la salud en los productos alimenticios. La principal diferencia entre almidón digerible y resistente es la accesibilidad del almidón al proceso de digestión (Stephen, 1995).

En general, los almidones con un contenido alto de amilosa son usados como fuente de almidón resistente (AR), mientras que el almidón ceroso o “waxy” sirve como fuente de almidón digerible rápidamente (Lehmann & Robin. 2007). Una serie de efectos fisiológicos se le han atribuido al AR que han demostrado ser benéficos para la salud.

En los últimos años, el AR se ha introducido como un ingrediente funcional importante en la nutrición humana (Bello-Pérez & Paredes-López, 1999). El AR al no ser digerido, es una fuente potencial de energía para la micro flora presente en el colon (Björck & Asp, 1994). El AR es capaz de incrementar el bolo fecal, la fermentación del AR en el colon da como productos de degradación ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (ácido acético, propiónico y butírico), los cuales disminuyen el pH intestinal.

Los AGCC contribuyen al buen funcionamiento del intestino grueso y la prevención de patologías a través de su acción en el lumen, en la musculatura colónica y vascular, así como por medio del metabolismo de los colonocitos.

El ácido butírico es el principal substrato de energía para los colonocitos y tienen un papel importante en la prevención y tratamiento de enfermedades de la mucosa colónica como colitis ulcerativa y cáncer. Con respecto a este último, se ha reportado que el ácido butírico estimula la apoptosis en las células del colon e inhibe el crecimiento de células cancerígenas *in vitro*. El ácido propionico y el acético son absorbidos y metabolizados por el hígado a través de diversos mecanismos, que podrían disminuir los niveles de colesterol plasmático y actuar de forma positiva sobre enfermedades cardiovasculares (García-Alonso et al., 1997).

### **2.13 PROCESOS DE OBTENCIÓN DE AR Y ADL**

Los almidones nativos de distintas fuentes vegetales tienen sus propias y únicas propiedades. En la medida de lo posible, estas características son inherentes para satisfacer las necesidades específicas de los alimentos. Los almidones nativos, sin embargo, carecen de la versatilidad para funcionar adecuadamente en su totalidad a la gama de productos alimenticios actualmente disponibles en el mercado.

Dentro de las estrategias para mejorar las características de los almidones que se emplean en las industrias, se encuentran las modificaciones, las modificaciones se realizan por métodos y/o técnicas físicas, químicas y enzimáticas.

## **2.13.1 MODIFICACIONES FÍSICAS**

### **A) TRATAMIENTO CALOR HÚMEDO**

El tratamiento de Calentamiento por calor-húmedo del almidón se realiza a una temperatura por encima de su punto de gelatinización con la humedad suficiente para causar gelatinización. Este consiste en el calentamiento del almidón a temperaturas por debajo de su punto de gelatinización por periodos prolongados de tiempo (Singh *et al*; 2007).

### **B) PRE-GELATINIZACIÓN:**

La pre-gelatinización de almidones es instantánea, el almidón es inflamado en un tambor de secado preparado con agua fría para su posterior calentamiento por aspersion y extrusión, procesado a base de solventes (Singh *et al*;2007).

## **2.14 MOLIENDA MECÁNICA**

Se define a la molienda mecánica como la ruptura mecánica de sólidos en partículas más pequeñas, sin cambiar su estado de agregación. Puede ser utilizada para crear partículas de cierto tamaño y forma, para aumentar el área superficial y producir defectos en las partículas (Balaz, 2008).La molienda mecánica es un proceso tecnológico utilizado desde hace muchos años que intenta mejorar el afino y la homogeneización de los polvos o material de partida, tales como metales, cerámicos, compuestos Inter metálicos o polvos pre aleados, sin que sea necesaria la transferencia de material para alcanzar dicha homogeneización (Suryanarayana, 2001).

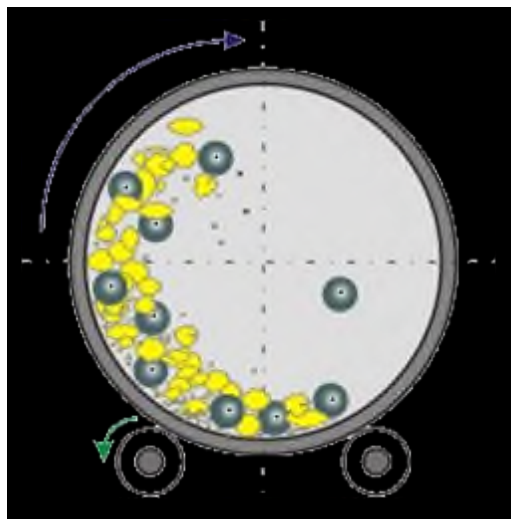
### **2.14.1 MOLINO PLANETARIO DE BOLAS**

El molino planetario de bolas debe su nombre al movimiento de sus viales como el movimiento de planetas en el sistema solar (**Figura 12**).



*Figura 12.-Molino planetario de bolas.*

Los tazones están dispuestos en un soporte de disco giratorio y un mecanismo de accionamiento que causa que roten alrededor de sus propios ejes. De esta forma se tiene la fuerza centrífuga producida por el giro de los viales alrededor de sus propios ejes y la fuerza producida por el soporte de disco giratorio. Debido a que los tazones y el disco de soporte giran en direcciones opuestas, las fuerzas centrífugas actúan en direcciones opuestas. Esto hace que las bolas trituren por efecto de fricción, al correr por la pared interior del tazón, y por efecto del impacto de las bolas al despegar y viajar libremente a través de la cámara interior del tazón y chocar con la pared. Además, las bolas de molienda impactan entre sí intensificando considerablemente el efecto de impacto (**Figura 13**).



*Figura 13.-Esquema representativo del interior de un tazón en un molino planetario de bolas.*

En este trabajo se propone como una alternativa para producir AR tipo III y ADL, una modificación dual de la estructura del almidón mediante molienda mecánica (el uso del molino planetario de bolas) y tratamientos en autoclave-enfriamiento,

## **2.15 EXTRUSIÓN Y AUTOCLAVE**

Firmas industriales utilizan procesos patentados para producir AR, mediante la aplicación de múltiples ciclos de calentamiento en autoclave-enfriamiento a temperaturas alrededor de 4 °C. Otros utilizan una desramificación previa al almidón para obtener cadenas moliméricas más cortas, las cuales presentan mayor tendencia a la retrogradación, favoreciendo mayor contenido de AR. Sin embargo, el problema aquí es controlar el grado de desramificación del almidón para obtener mayor contenido de AR, ya que se ha demostrado que cuando la longitud de la cadena es muy corta se tarda la reorganización de las moléculas poliméricas y por lo tanto la retrogradación del almidón resulta atenuada.

Tratamientos hidrotérmicos como la extrusión, pueden ser utilizados para producir AR, con la ventaja que con este tipo de equipos el proceso es continuo y podría ahorrar costo de mano de obra. Sin embargo, los contenidos de AR obtenidos son menores que los encontrados con autoclave.

En un estudio realizado por Pomeranz (1992), verificó que el número de ciclos de autoclave-enfriamiento ejerció un gran efecto en la producción de AR.

### 3 JUSTIFICACIÓN

México ocupa uno de los primeros lugares con índices altos de personas que padecen enfermedades crónico degenerativas como son la obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares y cáncer de colon, por tal motivo diversos grupos de investigación así como la industria de alimentos se han dado a la tarea de buscar procesos tecnológicos que permitan modificar la estructura de los gránulos de almidón con la finalidad de generar fracciones resistentes o de lenta digestión y usarlo como ingrediente para la elaboración de alimentos funcionales. Diversas investigaciones han demostrado la utilidad que los carbohidratos tienen en el cuerpo, así como su desempeño en numerosas funciones en procesos bioquímicos y contribuyen en la dieta humana proporcionando energía y fibra. Los alimentos procesados que contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutricional han tomado gran importancia en la industria alimentaria. Por lo tanto, la modificación dual del almidón mediante la molienda mecánica y tratamientos en autoclave-enfriamiento podría ser una buena alternativa para incrementar el contenido de almidón resistente y de lenta digestión ya que en la actualidad no existen estudios de modificación física usando dichos métodos y pudiera ser utilizado como aditivo algunos alimentos funcionales. Aunado a esto, el alto contenido de almidón en el plátano y malanga pueden ser aprovechados como una fuente de almidón no convencional para producir AR y ADL.

## **4 HIPÓTESIS**

La molienda mecánica y el método de autoclave – enfriamiento, permitirán obtener cadenas de almidón cortas que favorezcan el fenómeno de retrogradación y por lo tanto la formación de estructuras cristalinas resistentes y de lenta digestión enzimática, obteniéndose de esta manera almidón resistente tipo III.

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 OBJETIVO GENERAL

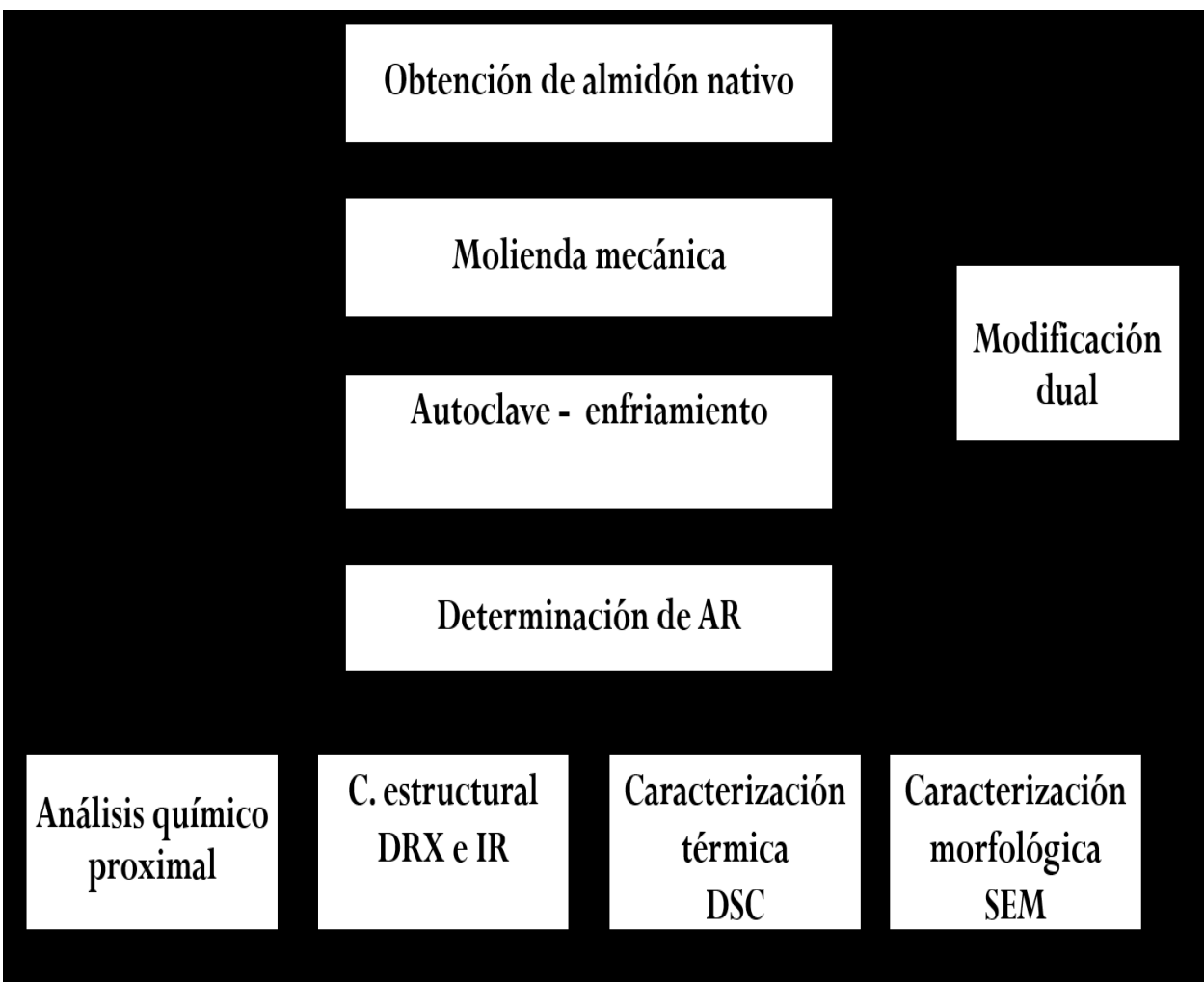
Evaluar el efecto de la modificación dual en el contenido de almidón resistente tipo III y de lenta digestión del almidón de malanga (*Colocasia esculenta* Schott) y plátano macho (*Musa paradisiaca* L.).

### 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener almidón nativo de fuentes no convencionales como la malanga y el plátano.
- Realizar la modificación dual por molienda mecánica y tratamientos en autoclave/enfriamiento de almidón de malanga y plátano.
- Determinar el contenido de almidón resistente y de lenta digestión en el almidón modificado de malanga y plátano.
- Determinar las propiedades térmicas del almidón resistente tipo III y ADL.
- Determinar las características moleculares del almidón resistente tipo III y ADL.
- Determinar las propiedades morfológicas del almidón modificado mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

## 6 PARTE EXPERIMENTAL

### 6.1 DIAGRAMA DE FLUJO



### 6.1.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

			TRATAMIENTOS												
			AN	MOLIENDA						MOLIENDA / A-E					
				5	10	15	20	40	80	5	10	15	20	40	80
FENTES	MALANGA	M1													
		M2													
		M3													
	PLÁTANO	M1													
		M2													
		M3													

## **6.2 AISLAMIENTO DEL ALMIDÓN**

El almidón nativo se aislado a nivel planta piloto por el método propuesto por Flores-Gorosquera *et al.*, (2004). La malanga y plátano (por separado) se pelaron y cortaron en trozos de 5 a 6 cm<sup>3</sup> (100 kg de peso total), inmediatamente después fueron sumergidos en una solución de ácido cítrico (3 g/L). Posteriormente se molieron en una licuadora tipo industrial, a velocidad baja (600 g de fruto por litro de solución) durante 2 minutos. El homogenizado se tamizó consecutivamente en mallas de 40, 100 y 200 U.S. hasta que el agua del lavado fue clara. Posteriormente se centrifugó a 10750 rpm en una centrifuga. Los sedimentos de las mallas 100 y 200 U.S. se maceraron, tamizaron y centrifugaron por segunda ocasión. Los procesos de tamizado fueron colocados en un secador de bandeja a 45°C durante 24 horas. Finalmente, el polvo obtenido se tamizó en malla 100 U.S y se almacenó a temperatura ambiente (25°C).

## **6.3 MODIFICACIÓN DEL ALMIDÓN**

La modificación dual de los almidones de malanga y plátano se realizó utilizando el molino planetario de bolas, modelo Planetary Micro Mill Pulverisette 7, marca Fritsch; posteriormente se realizarán los tratamientos en autoclave, el método de Autoclave - enfriamiento.

### **6.3.1 CONDICIONES DE MOLIENDA MECÁNICA DE LOS ALMIDONES**

La modificación de los almidones se realizó por molienda mecánica en seco, utilizando un molino planetario de bolas, marca Pulverisette7, se colocaron 5 g de almidón en cada tazón con 15 balines de 10 mm de diámetro, ambos del mismo material (carburo de tungsteno). El estudio de la modificación de los almidones se realizó en función de los tiempos de molienda a 5, 10,15, 20, 40 y 80 minutos, a una velocidad de giro de 600 rpm. La molienda se realizó en ciclos de 5 minutos, para cada una de las fuentes de almidón, para evitar sobrecalentamiento.

### **6.3.2 OBTENCIÓN DE AR POR AUTOCLAVE**

Para la preparación de AR por autoclave se usó el método propuesto por Berry

(1986). Se pesaron 60 g del almidón y se mezclarán con 210 mL de agua, la dispersión de almidón se sometió a calentamiento en autoclave a 121 °C por 1 h. Posteriormente se enfriará a temperatura ambiente y se almacenará a 4 °C por 24 h. Este procedimiento se realizó tres veces, después del cual se molió y se tamizará por malla 150 U. S. Se almacenará en recipientes cerrados hasta su caracterización.

#### **6.4 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL**

La determinación de humedad (14.004), proteína (2.057), lípidos (7.056) se determinarán de acuerdo a las técnicas recomendadas por el AOAC, (1980), mientras que para el contenido de cenizas se realizará por el método 32.10 de la AACC, (2000). Estos estudios se realizarán para los almidones nativos y modificados de plátano y malanga.

#### **6.5 DIGESTIBILIDAD *IN VITRO***

##### **6.5.1 DETERMINACIÓN DE LAS FRACCIONES ADR, ADL Y AR**

Se pesaron 800 mg de muestra y 50 mg de goma guar en matraces Erlenmeyer de 125 mL. Se adicionó 10 mL de una solución de pepsina (50 mg enzima/10 mL de HCl 0.05M) y 5perlas de ebullición, se homogeneizo el contenido con el vórtex. Los matraces se colocaron en un baño de agua con agitación orbital (200 strokes/min) a 37 °C durante 30 min. Después se adicionaron 5 mL de acetato de sodio 0.5 M, se dispersará el contenido. Los matraces se colocaron en baño de agua a 37 °C para equilibrar. Se adicionó 5 mL de una mezcla de enzimas (pancreatina invertasa y amiloglucosidasa) a intervalos de 1 min entre cada tubo, el baño de agua se ajustó a una velocidad de agitación oscilatoria de 200 stoker/min. Después de 20 min, se tomó una alícuota ( $G_{20}$ ) de 0.5 mL de la muestra, se transfirió a una centrifuga de 50 mL, el cual contendrá 20 mL de etanol al 66% y se homogenizó con la ayuda del vortex. Después de 120 min, se tomó la segunda alícuota ( $G_{120}$ ) de 0.5 mL. De igual manera la alícuota se transfirió a un tubo de centrifuga con 20 mL de etanol al 66%. Los tubos con las muestras ( $G_{20}$  y  $G_{120}$ ) se centrifugaron a 1500 g por 5 min y se

cuantificó el contenido de glucosa con el reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa (GOD-POD) a 510 nm. Se utilizó las siguientes ecuaciones para la determinación de glucosa y las fracciones del almidón de digestión rápida, lenta y resistente.

$$\% \text{ glucosa} = \frac{At \times Vt \times C \times D}{As \times Wt} \times 100$$

Donde:

At= Absorbancia de la muestra

Vt= Volumen total

C= Concentración del estándar usado

As= absorbancia del estándar usado

Wt= peso de la muestra

D= Factor de dilución

$$ADR = (G20 - FG) \times 0.9$$

$$ADL = (G120 - G20) \times 0.9$$

$$AR = AT - (ADR - ADL)$$

### 6.5.2 MEDICIÓN DE LA DIGESTIÓN DEL ALMIDÓN

La solución enzimática se preparará de acuerdo a Englyst *et al.*, (1992) con algunas modificaciones. Se adicionará 1 g de pancreatina a 12 mL de agua desionizada en un vaso de 50 mL y agitado con un agitador magnético por 10 min. La solución de pancreatina será después centrifugada en una centrifuga marca Clinaseal a 1500 x g por 10 min. Una porción del sobrenadante turbio será transferida a un matraz que contenía 0.2 y 1.8 mL de amiloglucosidasa y agua desionizada respectivamente. La digestibilidad del almidón se medirá como sigue: un buffer acetato de sodio (0.1 M, pH 5.2, 0.75 mL) y unas perlas de vidrio serán adicionadas a un microtubo (2 mL) que contendrán almidón (30 mg, base seca). Cada muestra será cocida en un baño eléctrico por 10 min y mezclado con un vortex (cada 2 min) y luego se colocará horizontalmente en una incubadora con agitación (250 rpm) a 37 °C durante 15 min

para enfriar. La solución enzimática (75 mL) se adicionará a la muestra cocida e incubada en una incubadora con agitación (250 rpm) por 240 min. Los tubos serán removidos a 10, 20, 60, 120 y 240 min, hervidos para parar la reacción y centrifugados en una centrifuga marca Clinaseal a 5000 rpm por 10 min. La glucosa en el sobrenadante será medida con el kit GOD-POD kit (YD Diagnostics Co., Seoul, Korea). El almidón de digestión rápida y almidón de digestión lenta será medido después de la incubación con la solución enzimática a 37 °C por 10 y 240 min respectivamente. El almidón resistente será el almidón no hidrolizado después de 240 min de incubación.

## **6.6 PROPIEDADES TÉRMICAS**

Las propiedades térmicas del AR y ADL fueron estudiadas usando un calorímetro diferencial de barrido (TA Instruments, NewCastle, USA). Se evaluaron por el método propuesto por Paredes-López y col., (1994). Se pesó 2 mg de muestra (en base seca, mínimo de tres réplicas) dentro de una charola de aluminio, posteriormente se le adicionaron 7  $\mu$ l de agua desionizada. La charola se selló herméticamente y se dejó equilibrar por espacio de 1h antes de realizar el análisis. Como referencia se utilizó una charola vacía. La muestra se sometió a un programa de calentamiento en un intervalo de temperatura de 30 a 140 °C y una velocidad de 10 °C/min. La temperatura de inicio ( $T_i$ ), temperatura de gelatinización ( $T_p$ ), temperatura final ( $T_f$ ) fueron obtenidas directamente del análisis del software TA Instruments OS/2 versión 2.1.

## **6.7 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)**

La morfología de los almidones nativos y modificados de malanga y plátano, obtenidos fueron examinados por el método reportado por Paredes-López *et al.* (1989). La muestra es espolvoreada sobre una cinta de cobre conductora de doble adhesión, la cual se fijó previamente en un soporte de aluminio del Microscopio electrónico de barrido JEOL (JSEM 35 CX, Japan Electronic Optical Limited, Japon). La muestra se cubrió con una capa de carbón de 30 nm, posteriormente se colocó en

el ionizador de metales JEOL y se recubrió con una capa de oro de 60 nm. Las muestras se observaron con un Microscopio electrónico de barrido (voltaje: 8 Kvolts) y se tomarán las fotografías.

## **6.8 DIFRACCIÓN DE RAYOS X**

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

Las muestras se almacenaron a temperatura ambiente y posteriormente se analizaron. Una cantidad de almidón fue colocado sobre el portamuestra del difractómetro de rayos X (BrukerAxs, modelo D8advance) de ángulo amplio, equipado con una fuente de cobre operado a 35 KV, produciendo una radiación de  $\text{CuK}\alpha$  con una longitud de onda de 1.542 Å. Los datos se colectaron en un intervalo de 5-60° cada 0.05°, con una velocidad de barrido de 60s/°. El porcentaje de cristalinidad (%C) se determinó del difractograma, calculando el área correspondiente de los picos cristalinos ( $A_p$ ) entre el área total bajo la curva (halo amorfo y cristalino) ( $A_t$ ) menos el ruido del instrumento ( $N$ ) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% C = \frac{A_p}{A_t - N}$$

## **6.9 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)**

La espectroscopia infrarroja es una técnica empleada principalmente en la elucidación de estructuras moleculares, aunque también se emplea con fines cuantitativos. Esta técnica se basa en las distintas absorciones de radiación infrarroja que presentan los distintos grupos funcionales que puede presentar una molécula, con el espectro de infrarrojo se puede saber fácilmente el tipo de compuesto (alcohol,

amina, ácido, etc.), y con un análisis detallado de éste y su comparación con otros espectros catalogados, se puede en muchos casos elucidar completamente la estructura de la molécula. En este estudio esta técnica fue utilizada como una técnica confirmatoria de la modificación del almidón.

Los estudios de espectroscopia infrarroja (FTIR) se realizaron utilizando un espectrómetro marca DYNASCAN spectrum 100, Perkin Elmer. El equipo fue operado con una resolución de 4 cm<sup>-1</sup> y un barrido en un intervalo de 4000 a 500 cm<sup>-1</sup> y un total de 12 barridos por muestra.

### **6.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis de los resultados obtenidos de la composición química se realizó utilizando el análisis de varianza (ANDEVA) de una vía. Este estadístico se realizó con un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$ , utilizando el paquete estadístico Minitab 16. Cuando se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las muestras se utilizó el procedimiento de comparaciones múltiple de Tukey.

## 7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 ANALISIS QUÍMICO PROXIMAL

En la Tabla 2, se muestran los resultados del análisis químico proximal realizado para los almidones nativos, el contenido de humedad que se obtuvo fue de 5.49 y 4.38% para el almidón de plátano y malanga respectivamente, Rivas-González (2008), reporta valores de humedad de 6.77% para almidón nativo de plátano macho, mientras que Aparicio-Saguilán *et al.* (2015) ha reportado valores de 4.9% en almidón de plátano nativo. Estos resultados son similares a lo encontrado en este estudio. En cuanto a la malanga Antonio-Estrada *et al.* (2009) reportó un contenido de 6.25%, el cual es mayor al que se está reportando en este trabajo, aunque el porcentaje de humedad varió un poco, se encuentra dentro del intervalo permitido que reporta la técnica, el cual debe ser menor a 12%.

El contenido de lípidos que se obtuvo para el almidón de plátano fue de un 2.00%, el cual es mayor al reportado por Aparicio-Saguilán *et al.* (2015) con un 1.65% y menor al 2.62% reportado por Vergara-Méndez *et al.* (2012). La malanga presentó un 3.59% de grasas, el cual es mucho mayor comparado con el 0.19% que reporta Antonio-Estrada *et al.* (2009), estas diferencias se pudieron deber a la temporada, lugar, condiciones de cultivo y estado de madurez en el que encontraban estos frutos. Un alto contenido de lípido podría afectar la formación de AR tipo III, ya que estos pueden formar complejos con la amilosa durante la gelatinización del almidón. Sin embargo, los complejos almidón/lípidos son clasificados como AR tipo V.

Para el caso del contenido de proteínas de nuestros almidones nativos, se obtuvieron un 2.678 y 4.586% del plátano y malanga respectivamente. Bello-Pérez *et al.* (2006) reporta en plátano macho un contenido de proteínas de 1.7%, mientras que Zamudio-Flores *et al.* (2010) reportó también para plátano macho valores de contenido de proteínas de 2.06%. Por otro lado, para malanga Antonio-Estrada *et al.* (2009) reporta un contenido de proteínas menor en comparación al de este trabajo, con valores de 3.8%.

El contenido de cenizas obtenido en plátano macho fue de 0.58%, este resultado es mayor comparado al reportado por Bello-Pérez *et al.* (2006) de 0.4%, caso contrario que resulta con Zamudio-Flores *et al.* (2010) de 1.89% de cenizas. Este fruto presenta altos niveles de potasio y magnesio, por lo que la variación de cenizas pudo deberse al contenido de estos, así como a la diferencia de pureza de los almidones consecuencia del proceso de extracción de los mismo. En malanga se obtuvo un contenido de cenizas de 0.248%, mientras que Antonio-Estrada *et al.* (2009) reporta un 0.53%, este fruto también es rico en minerales como potasio, magnesio, calcio y fósforo, y esta diferencia podría atribuirse a la riqueza de minerales de las fuentes donde fue cultivada la malanga, también por influencia del grado de madurez que presentaban ambas, ya que se ha reportado que al incrementar el grado de madurez, se incrementa la cantidad de fósforo (Himeda *et al.*, 2012), por lo tanto aumentará la cantidad de cenizas del fruto, esto nos hace pensar que el grado de madurez de la malanga utilizada en este trabajo era menor, a la comparada.

**Tabla 2.**-Análisis químico proximal de los almidones nativos.

Almidón	Cenizas	Humedad	Lípidos	Proteínas
Plátano	0.580 ± 0.04 <sup>a</sup>	5.49 ± 0.06 <sup>a</sup>	2.00 ± 0.05 <sup>a</sup>	2.678 ± 0.21 <sup>a</sup>
Malanga	0.248 ± 0.07 <sup>b</sup>	4.83 ± 0.07 <sup>b</sup>	3.59 ± 0.04 <sup>b</sup>	4.586 ± 0.20 <sup>b</sup>

\* Medida de tres repeticiones ± error estándar.

\* Valores seguidos por la misma letra y en la misma columna no son significativamente diferentes (P < 0.05).

## 7.2 MOLIENDA MECÁNICA

A continuación, en la Figura 14, se pueden observar las muestras después del tratamiento de la molienda, en el cual se puede distinguir un ligero aumento progresivo en la coloración de las dos fuentes de almidón conforme se aumenta el tiempo de molienda mecánica, este cambio en la coloración se puede atribuir al calor producido por la fuerza mecánica de los balines, generando una degradación de las

cadena polimérica, produciendo oscurecimiento de las muestras.

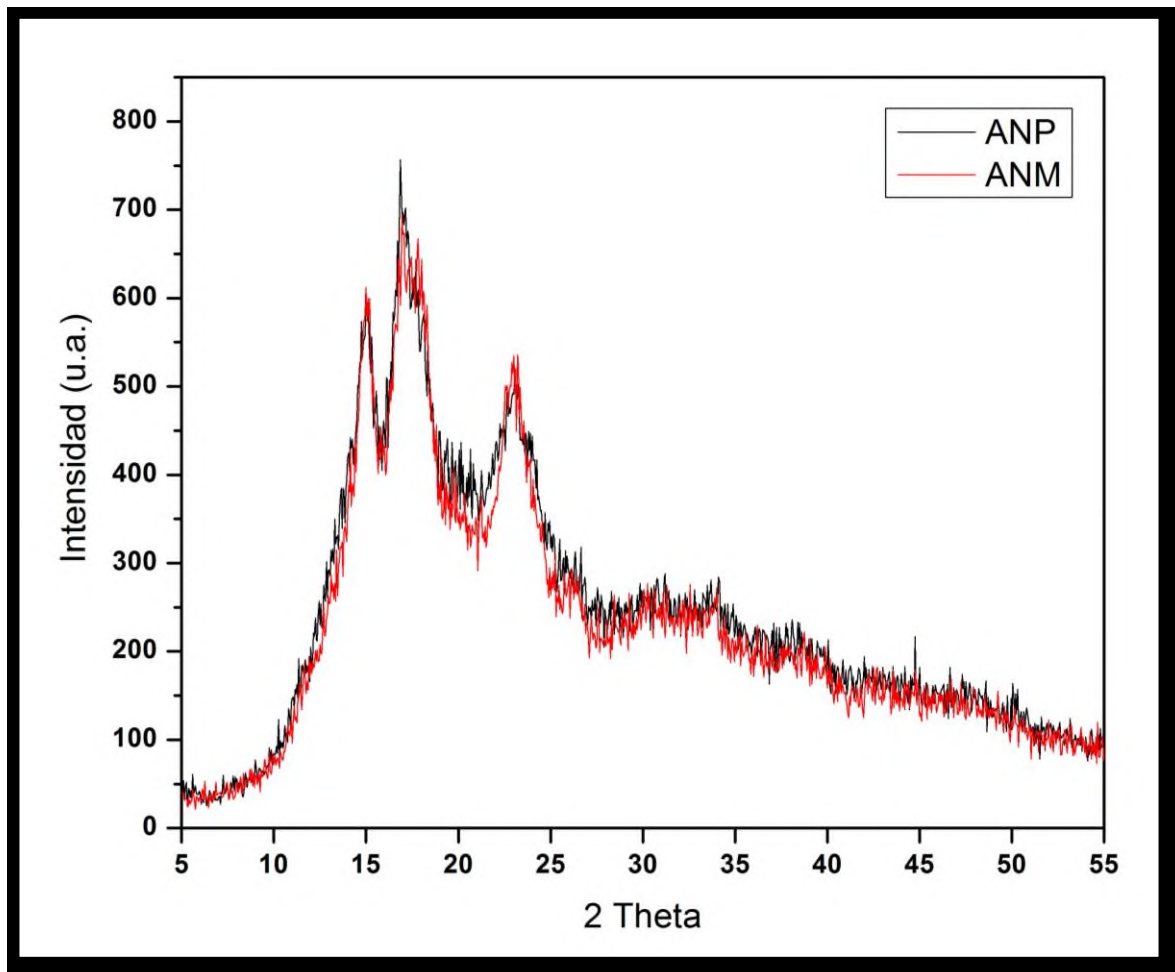


**Figura 14.-** Imagen de las muestras de almidón después del tratamiento de molienda.

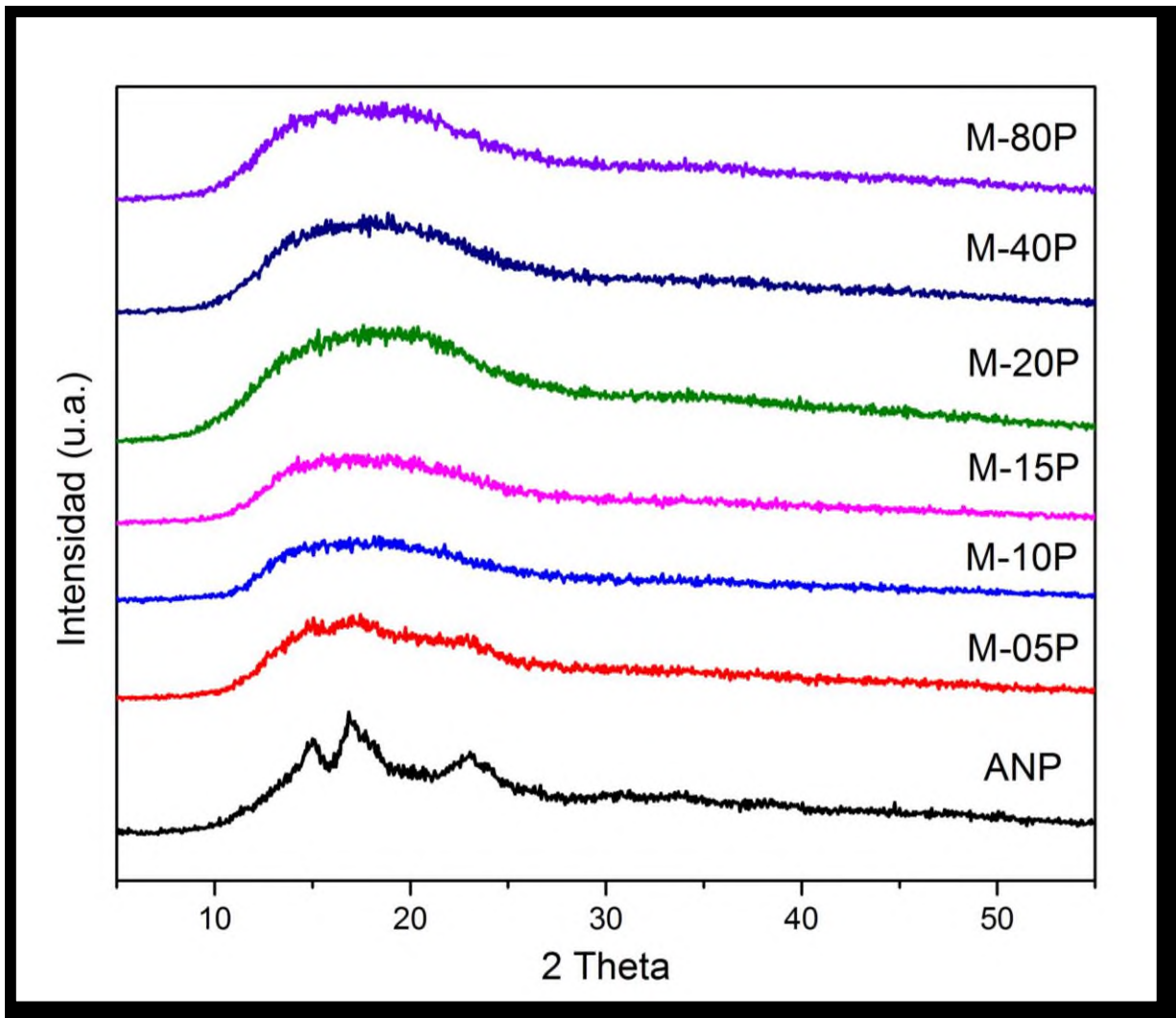
### 7.3 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

En la Figura 15, se muestra el patrón de difracción de los almidones, ambos presentaron un patrón de difracción tipo A característico de los cereales y algunas raíces, con picos en  $2\theta$  a los 15, 17, 18 y 23°, con un porcentaje de cristalinidad de 35.72 y 35.25%, respectivamente para plátano y malanga. Un patrón de difracción tipo A es atribuido a almidones que contienen amilopectina con una alta proporción de cadenas cortas y un alto grado de ramificación. Bello-Pérez *et al.* (1999) reportan un patrón de difracción de rayos X tipo A en almidón de plátano macho, concordando con los resultados obtenidos. Sin embargo, Jane *et al.* (1997) han reportado un patrón tipo B y Espinoza-Solís *et al.* (2008) reportan un patrón de difracción tipo C, esta variabilidad se puede atribuir a las condiciones de crecimiento del cultivo, y a la biosíntesis de la estructura de amilopectina. Mientras que Agama-Acevedo *et al.* (2011), reportan un patrón de difracción de rayos x tipo A en malanga mexicana con un 38.26% de cristalinidad, siendo este valor muy similar a los de este trabajo. Sin embargo, al someter los almidones a un proceso de molienda mecánica, se puede observar que las zonas cristalinas de la amilopectina fueron destruidas, obteniéndose almidones amorfos.

Se puede observar en la Figura 16, los patrones de difracción de rayos X de almidón nativo de plátano y a diferentes tiempos de molienda mecánica. Con la molienda mecánica se produjo la pérdida de cristalinidad del almidón, pues se ve la formación de una curva en los patrones obtenidos. Esta amorfización de los gránulos de almidón se pudo deber a que se rompieron principalmente las cadenas de amilopectina, puesto que la podemos encontrar en mayor proporción. Zobel (1988) atribuye que la pérdida de la resolución en el pico, el ensanchamiento y reducción de la altitud es debida a la pérdida de la cristalinidad y al incremento del componente amorfo en la estructura.



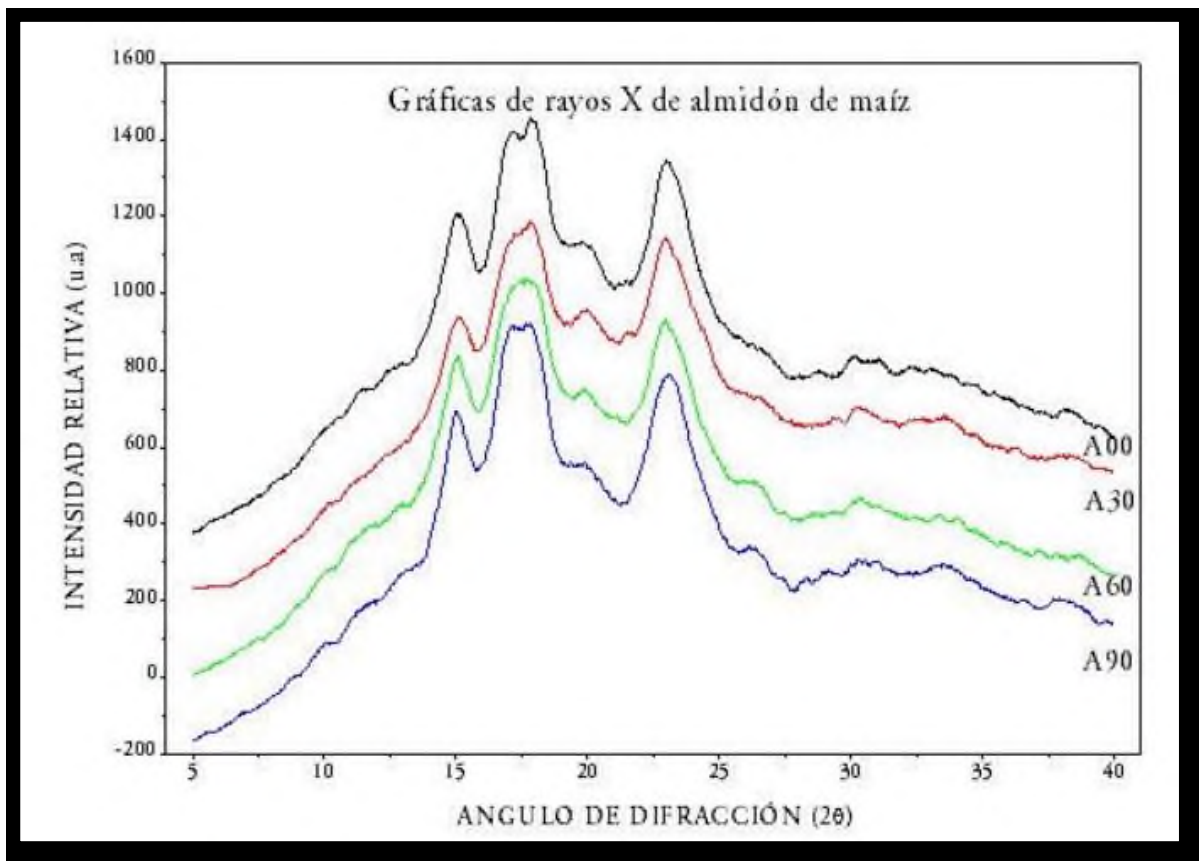
**Figura 15.-** Patrón de difracción de rayos X de los almidones nativos.



**Figura 16.-** Patrón de difracción de rayos X de almidón nativo de plátano y a diferentes tiempos de molienda mecánica.

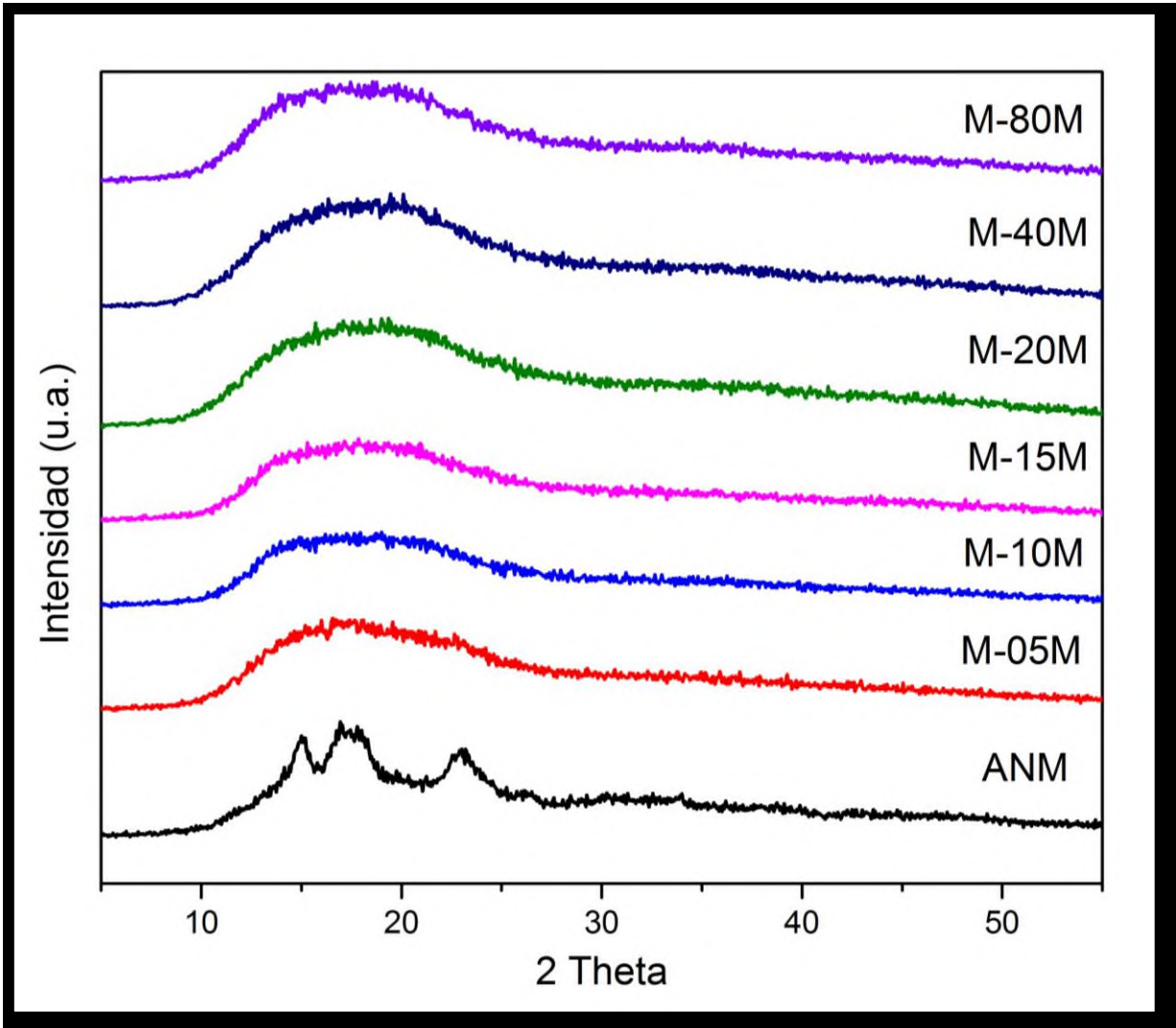
El almidón de plátano después de 5 minutos de molienda sigue presentando tenuemente los picos característicos asociados a su estructura cristalina. Tiempos de molienda posteriores muestran una amorfización total. Sin embargo, la intensidad de la panza amorfa es máxima a los 20 min y esta empieza a disminuir en tiempos posteriores. Lo anterior quiere decir que en una primera etapa se ve afectada la parte cristalina del almidón pero que en una segunda etapa la parte amorfa también se ve afectada. Flores-Farías, (2004) reporta para almidones de maíz, yuca y jícama, molidos en un molino de bolas Spex Certiprep 8000L, a 1200 rpm utilizando bolas de acero, indicando que el molido de los almidones provocó diferentes grados de

crystalinidad, con una pérdida parcial de esta debido al efecto de la molienda, con respecto a sus contrapartes nativas. Sin embargo, aunque la molienda disminuyó el porcentaje de cristalinidad, los almidones mantuvieron una orientación molecular similar a la de los almidones nativos, observándose sólo una disminución de la intensidad en los picos de la región cristalina y no una amorfización del gránulo como es el caso en esta investigación. Estas diferencias se pueden deber a que la molienda realizada en esta investigación causó probablemente una desfragmentación mayor en los gránulos de almidón de malanga y plátano, comparados con lo reportado por Flores-Farías, (2004) para maíz, yuca y jícama.



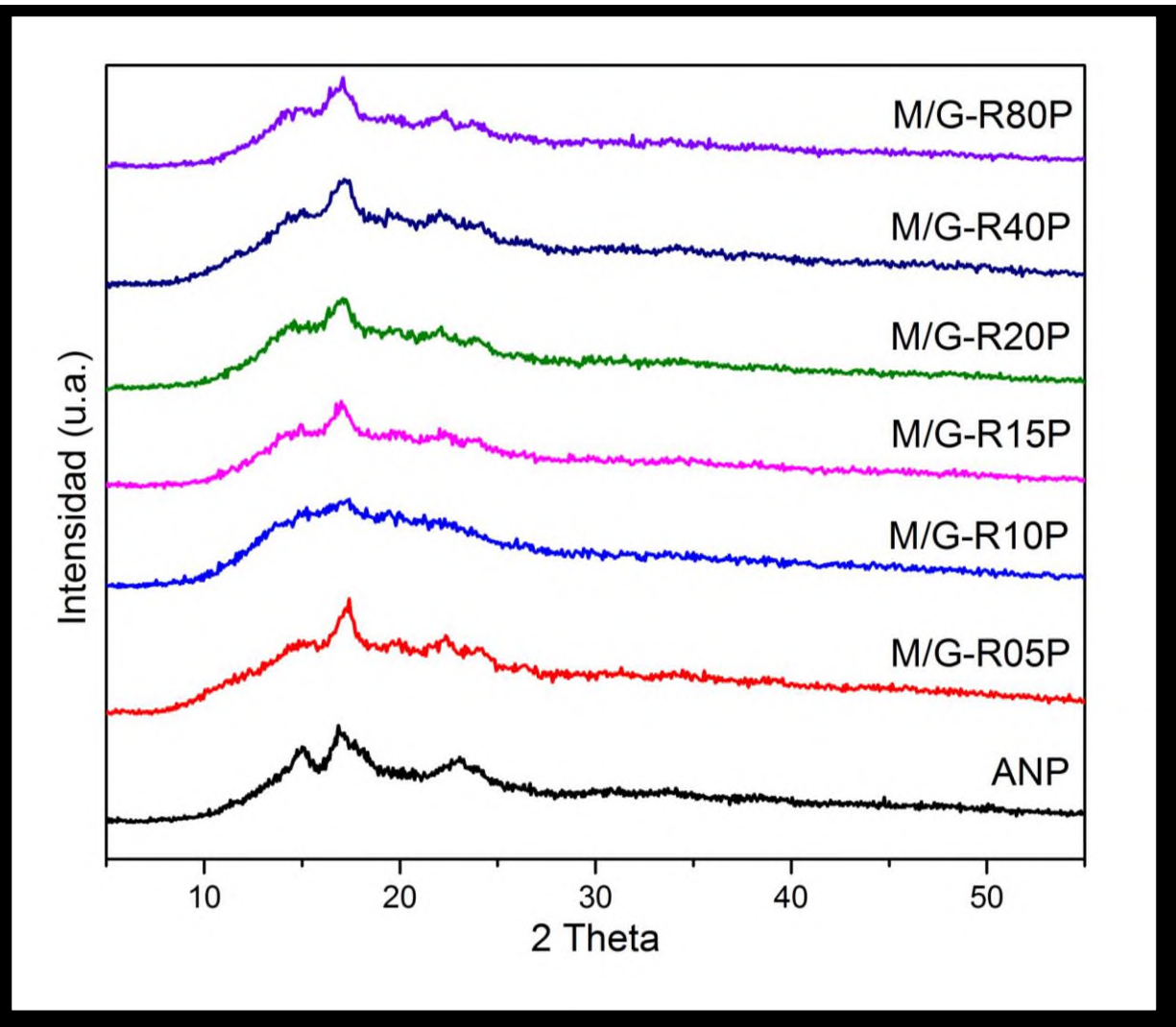
**Figura 17.-** Patrones de difracción de rayos X de almidones de maíz a) A00, b) A30, c) A60 y d) A90 min.

(Flores-Farías., 2004)



**Figura 18.-** Patrón de difracción de rayos X de almidón nativo de malanga y a diferentes tiempos de molienda mecánica.

En los espectros de malanga (**Figura 18**) se presentó la misma tendencia que en el observado en el almidón de plátano, solo que en estos difractogramas desde los 5 minutos de molienda se encuentra totalmente amorfizado el gránulo. Lo que hace suponer que la estructura cristalina de la malanga es menos resistente mecánicamente que la estructura del almidón de plátano, al ser más organizada la estructura del plátano, requiere mayor cantidad de energía para degradar su estructura.

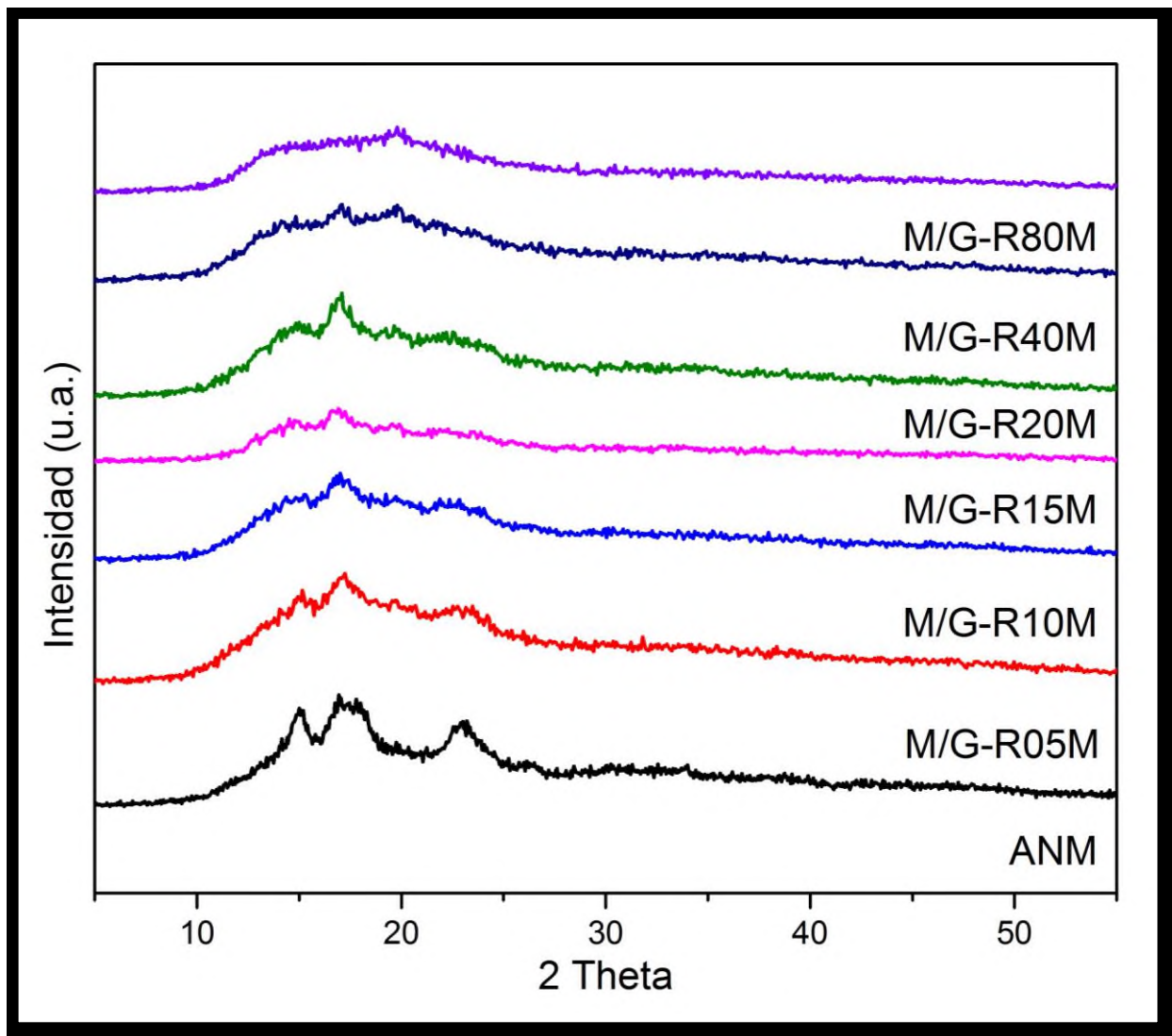


**Figura 19.-** Patrón de difracción de rayos X de almidón de plátano con la modificación dual y enfriamiento.

Tras realizar la modificación de molienda mecánica y los tratamientos en autoclave-enfriamiento, se puede observar un reacomodo molecular en la molécula de almidón, con la formación de nuevas estructuras cristalinas (**Figura 19**), y un ligero cambio en el patrón de difracción. Para el tiempo de 5 min (M/G-R05P) el patrón de difracción muestra una estructura cristalina o que significa que el tratamiento dual provocó un reordenamiento en las cadenas y permitió un grado de polimerización que permiten formas estructuras cristalinas homogéneas. Sin embargo, a los tiempos de molienda de 10, 15, 20, 40 y 80 min los difractogramas muestran picos anchos. Shin *et al.*

(2004) reportan un comportamiento similar al realizado en este trabajo, ellos mencionan que después de someter a tratamiento de autoclave-enfriamiento el almidón de papa, encontraron que sus picos fueron menos intensos y anchos, comparados con su contraparte nativa, debido a la naturaleza imperfecta de los cristales. La formación, de picos anchos son característicos de la presencia de cristales heterogéneos, mientras que los más definidos son característicos de la existencia de la formación de cristales más homogéneos. Por otro lado, en las muestras M/G-R20P, M/G-R20P y M/G-R20P, se logra observar la aparición de un pico a un ángulo  $2\theta = 23^\circ$  lo que indica que a estos tiempos de molienda los almidones modificados tienden a formar estructuras cristalinas con picos característicos de un polimorfismo tipo A y B, estos resultados son interesantes ya que a tiempos cortos de molienda mecánica se pueden obtener estructuras cristalinas resistentes a la digestión enzimática.

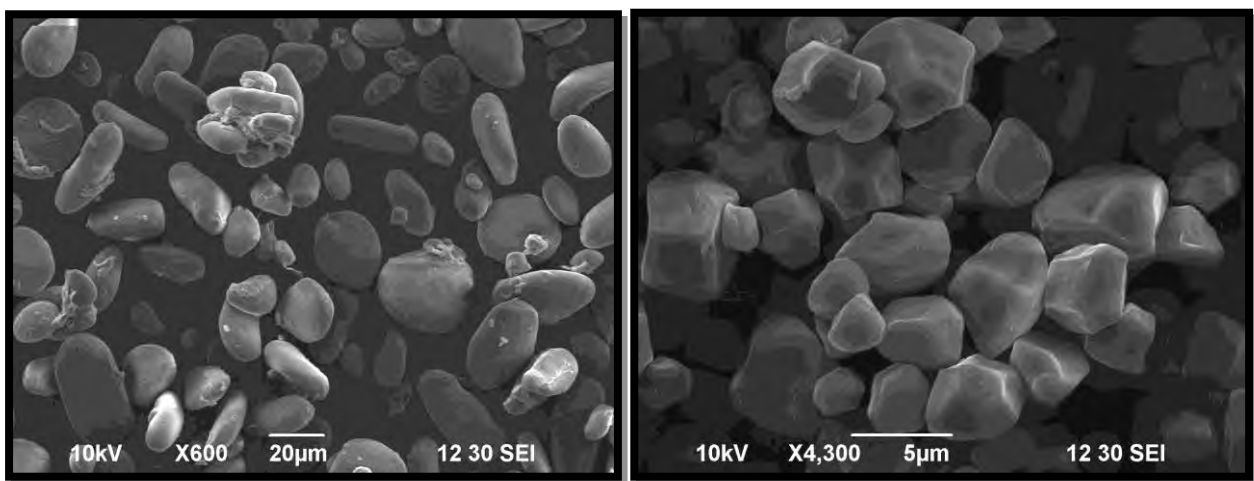
Los difractogramas de las muestras obtenidas de la doble modificación de malanga se muestran en la **Figura 20**. Al igual que los difractogramas de plátano, la malanga siguió el mismo comportamiento, a diferencia de que en la muestra M/G-R80M, ya no hubo una reorganización y la muestra permaneció amorfa después del tratamiento dual. Con el segundo tratamiento de autoclave-enfriamiento apenas y se observa un reacomodo de la estructura. Una característica que mostró el almidón de malanga es que a los tiempos cortos de molienda y tratamientos en autoclave-enfriamiento muestra el mismo patrón de difracción que en el almidón nativo ( $2\theta = 15, 17$  y  $23^\circ$ ). Esto indica que las cadenas obtenidas por el método de molienda son capaces de reorganizarse y formar una estructura cristalina estable. Sin embargo, a tiempos de molienda de 10, 15, 20 y 40 min solo se aprecia el pico a un ángulo  $2\theta = 17^\circ$ , indicando que a estos tiempos la longitud de cadena es más cortas formando un diferente polimorfismo de los cristales. Por último, a los tiempos de 80 min se obtuvieron probablemente cadenas de longitud tan cortas que ya no fueron capaces de reorganizarse y formar estructuras cristalinas homogéneas, obteniéndose un material amorfo.



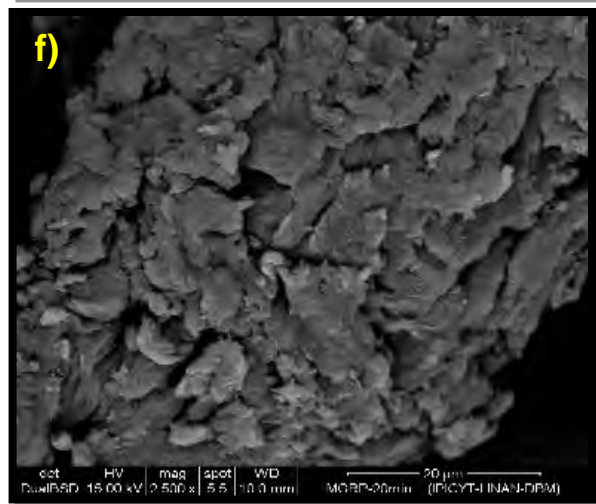
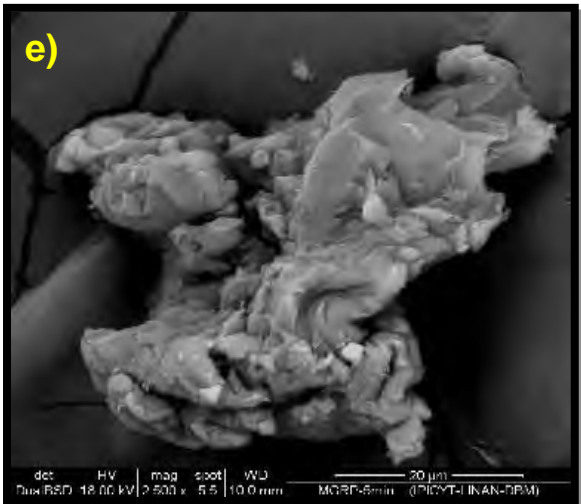
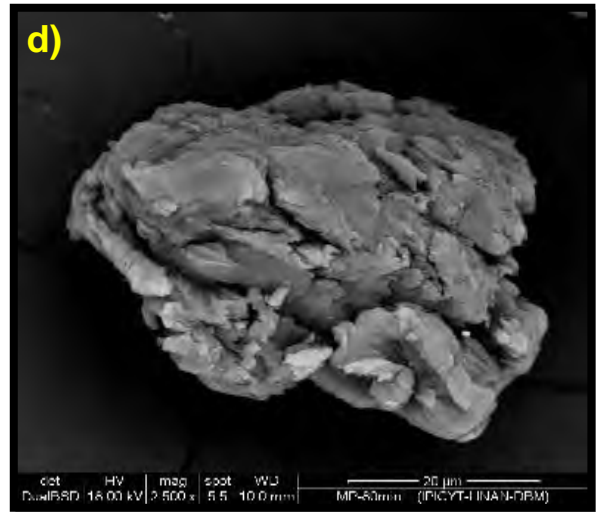
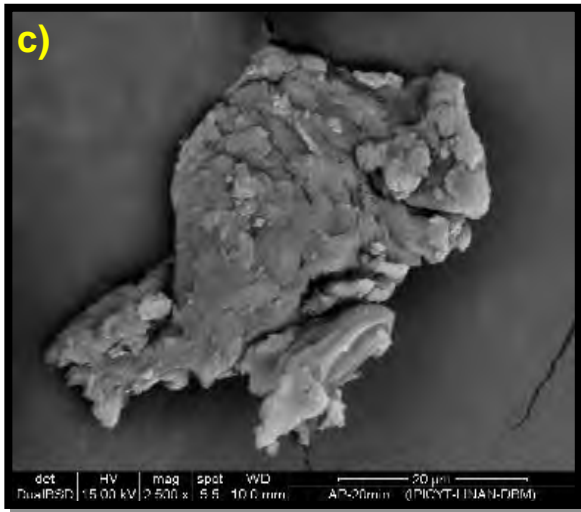
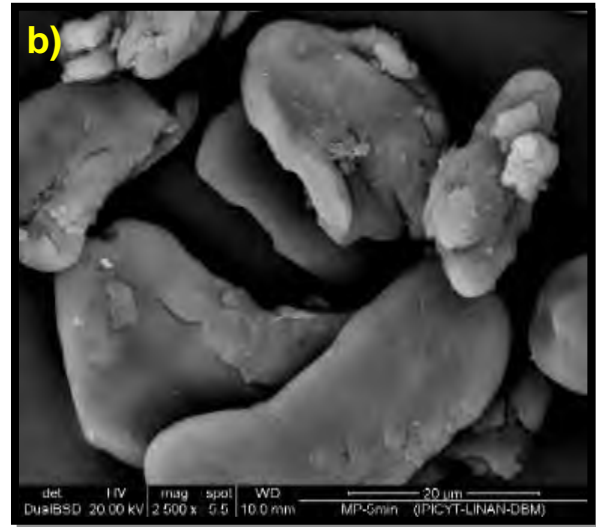
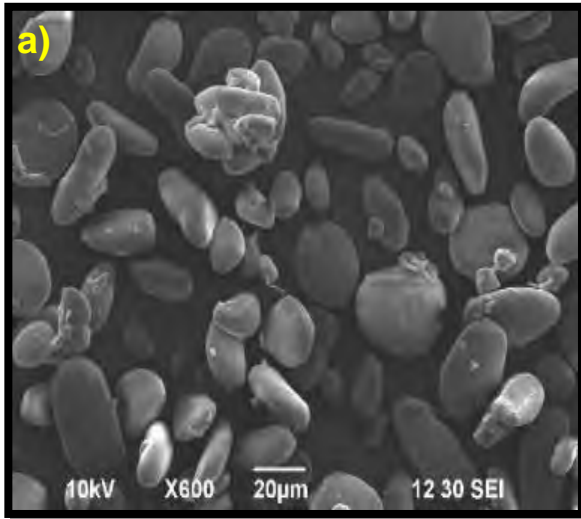
**Figura 20.** - Patrón de difracción de rayo X de almidón de malanga con la modificación dual y enfriamiento.

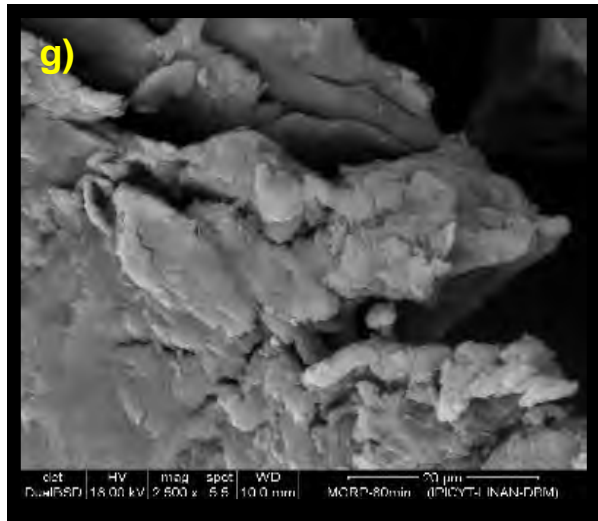
#### 7.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido se muestran en la **Figura 21**, donde podemos observar que los gránulos de plátano presentan morfología oval o elíptica. Guilbot & Mercier, (1985) reportan forma elipsoidal y un tamaño de gránulo de almidón de plátano de 10.0 – 40.0  $\mu\text{m}$ , y Bello-Pérez *et al.*, (2000) gránulos de forma irregular con un tamaño de 10.0 – 50.0  $\mu\text{m}$ . Por otro lado, la malanga presentó gránulos de forma pentahedrica, y tamaños variados, Sugimoto *et al.*, (1986) reporta que los gránulos de almidón de malanga oscilan entre un tamaño de 0.5 – 5  $\mu\text{m}$  y nos dice que forman geles de textura suave.



**Figura 21.-** Microscopía electrónica de barrido, de izquierda a derecha se muestran los gránulos nativos de plátano y posteriormente los de malanga.





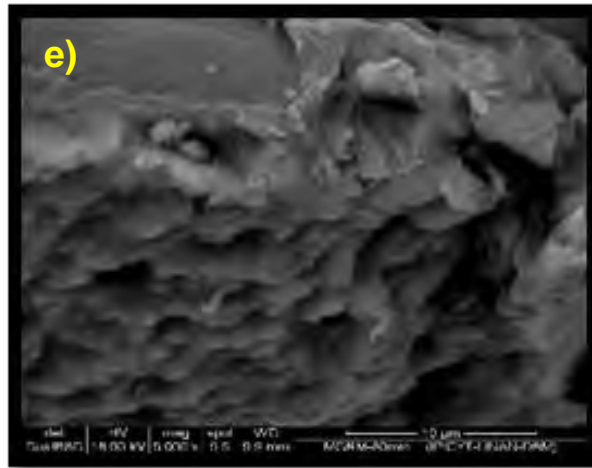
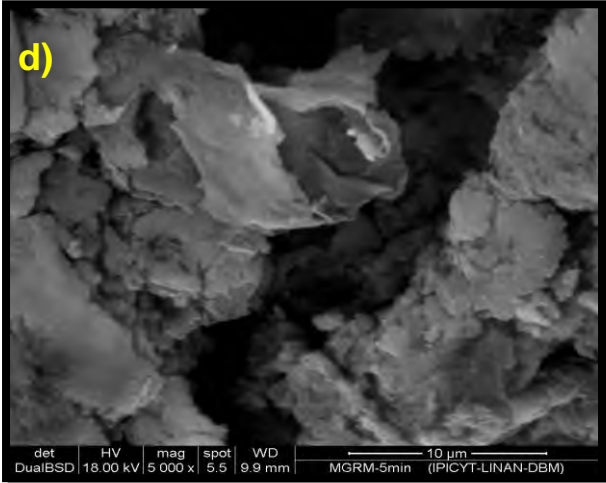
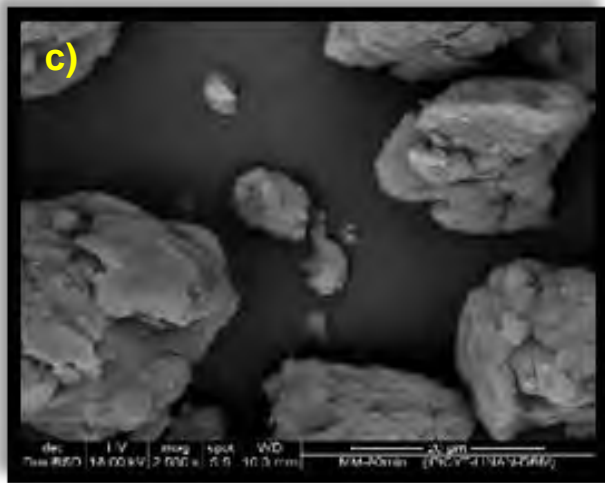
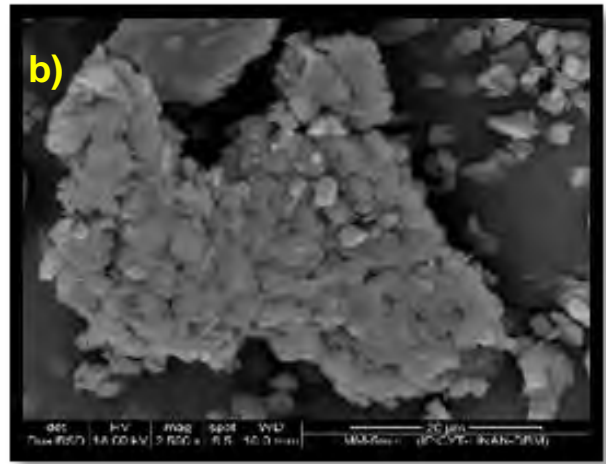
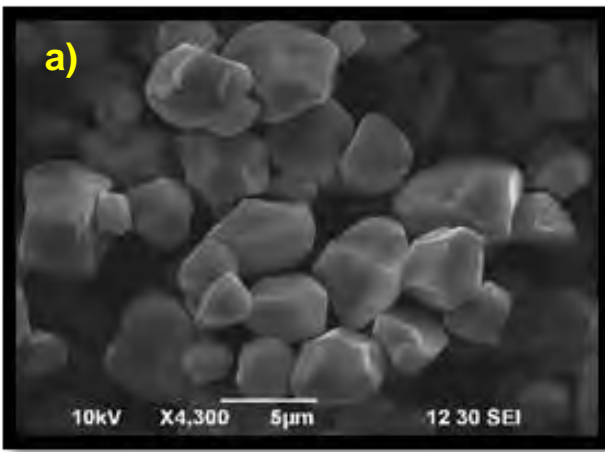
**Figura 22.-** Micrografías tomadas por SEM, en a) son los gránulos de plátano nativos; en b), c) y d) se observan los tiempos de 5, 20 y 80 minutos de molienda; en e), f) y g) molienda con tratamientos en autoclave/enfriamiento a 5, 20 y 80 minuto.

Las micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del almidón de plátano se observan en la **Figura 22**, se aprecia en la imagen 22 b) que a los 5 minutos de molienda mecánica se provoca daño en la superficie de los gránulos de almidón, y una ligera deformación de su estructura nativa, a los 20 y 80 minutos, ya no se aprecian los gránulos como tal, presentan una pérdida total de su estructura, hay aglomeración de fragmentos de almidón, en las micrografías posteriores tenemos a los almidones doblemente modificados, a los mismos tiempos de molienda mecánica (5, 20 y 80 minutos) y con el tratamiento de autoclave-enfriamiento, con el cual aumenta la aglomeración de estas moléculas, comparando las micrografías con uno y dos tratamientos, se observa que en la micrografía con un solo tratamiento se observa porosidad y daños sobre la superficie granular y aun se aprecia su forma molecular, la cual pierden tras la segunda modificación, se forman también cúmulos de almidón, y aumenta esta aglomeración a los tiempos de 20 y 80 min con ambos tratamientos, comparados con los de molienda mecánica. Flores-Farías, (2004) realizó dos tratamientos sobre diferentes fuentes de almidón, el primer tratamiento fue térmico con ácidos a concentraciones diferentes, después los almidones fueron molidos en un molino de bolas a 1200 rpm usando bolas de acero inoxidable de  $\frac{1}{4}$  y  $\frac{1}{8}$  de pulgada, obteniendo algunos gránulos porosos por efecto

de la lixiviación provocada por los ácidos y la molienda de alta energía, mientras que los gránulos tratados con ácido clorhídrico a una concentración de 4.3% y molidos en el molino de bolas, presentaron mayor cambio en su morfología, con gránulos fragmentados y dañados.

Avolio *et al.*, (2012), realizó un molido de celulosa en un molino planetario de bolas modelo Retsch PM100, utilizando 25 esferas de acero con 10mm de diámetro a tiempos de 2, 4, 8, 15, 30 y 60 min de molido, observó una progresiva reducción sobre la longitud de las fibras de celulosa con el aumento del tiempo de molienda, y después de los 60 minutos de molienda, la celulosa perdió por completo la estructura fibrosa a partículas pequeñas con dimensiones micrométricas, desde un tamaño original de 200  $\mu\text{m}$ , hasta un tamaño final de 12  $\mu\text{m}$ , después de un tiempo de molienda de 60 minutos. Estas diferencias pueden atribuirse a que algunos almidones son más susceptibles a los tratamientos, así como no fueron los mismos tratamientos realizados en ambas investigaciones, tipos de molienda, diferente material de las bolas del molino y las fuentes de almidón tampoco eran las mismas.

También similar forma se presentó para el almidón de malanga, las micrografías obtenidas se muestran en la **Figura 23**, en 23 a) se muestran los gránulos nativos, en 23 b) y c) se encuentran las micrografías a 5 y 80 minutos de molienda mecánica, desde los 5 min de tratamiento, se halla la formación de cúmulos de almidón, caso contrario a los gránulos de plátano a ese mismo tiempo de molienda, este resultado lo podemos corroborar con los obtenidos por difracción de rayos X, en el cual los espectros de plátano muestran a los 5 minutos de molienda, ligeramente la presencia de algunos picos cristalinos, por otro lado la malanga a ese mismo tiempo, el espectro obtenido se encuentra amorfizado, esto puede resultar a que los gránulos de plátano son menos susceptibles a estos tratamiento.

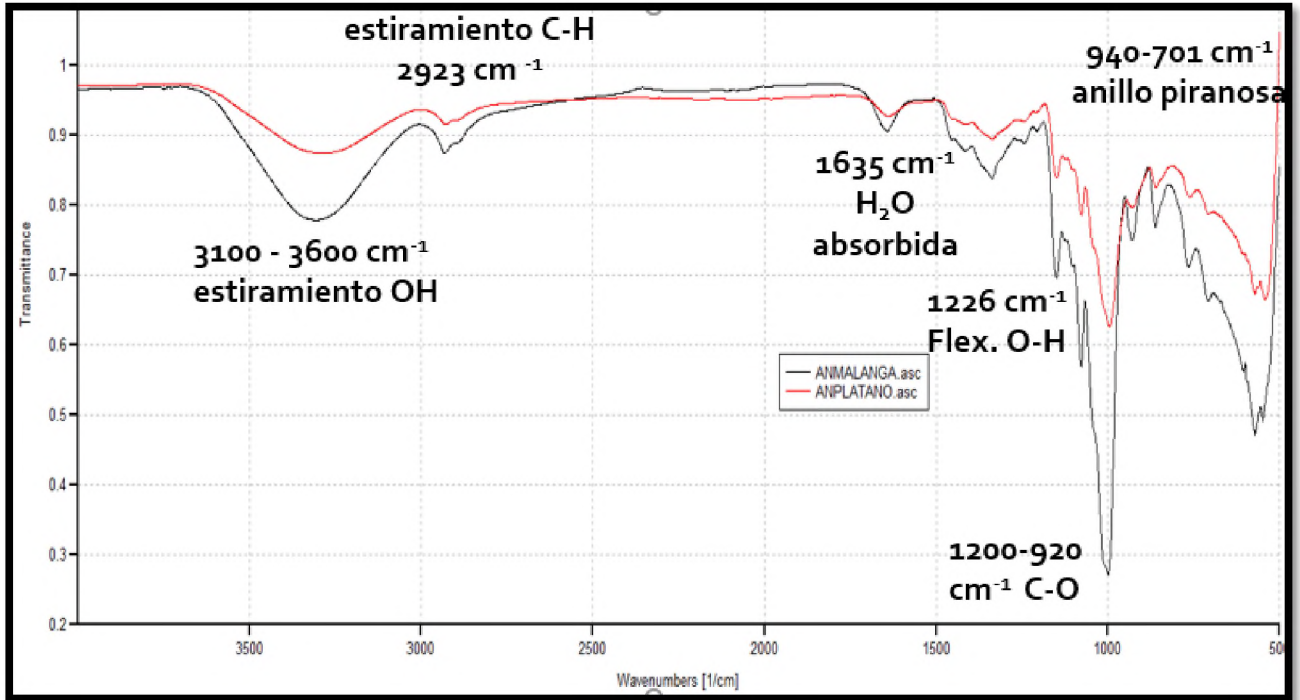


**Figura 23.-** Micrografías tomadas por SEM, en a) son los gránulos de malanga nativos; en b) y c), se observan los tiempos de 5, y 80 minutos de molienda; en d) y e), molienda con tratamiento en autoclave/enfriamiento a 5 y 80 minutos.

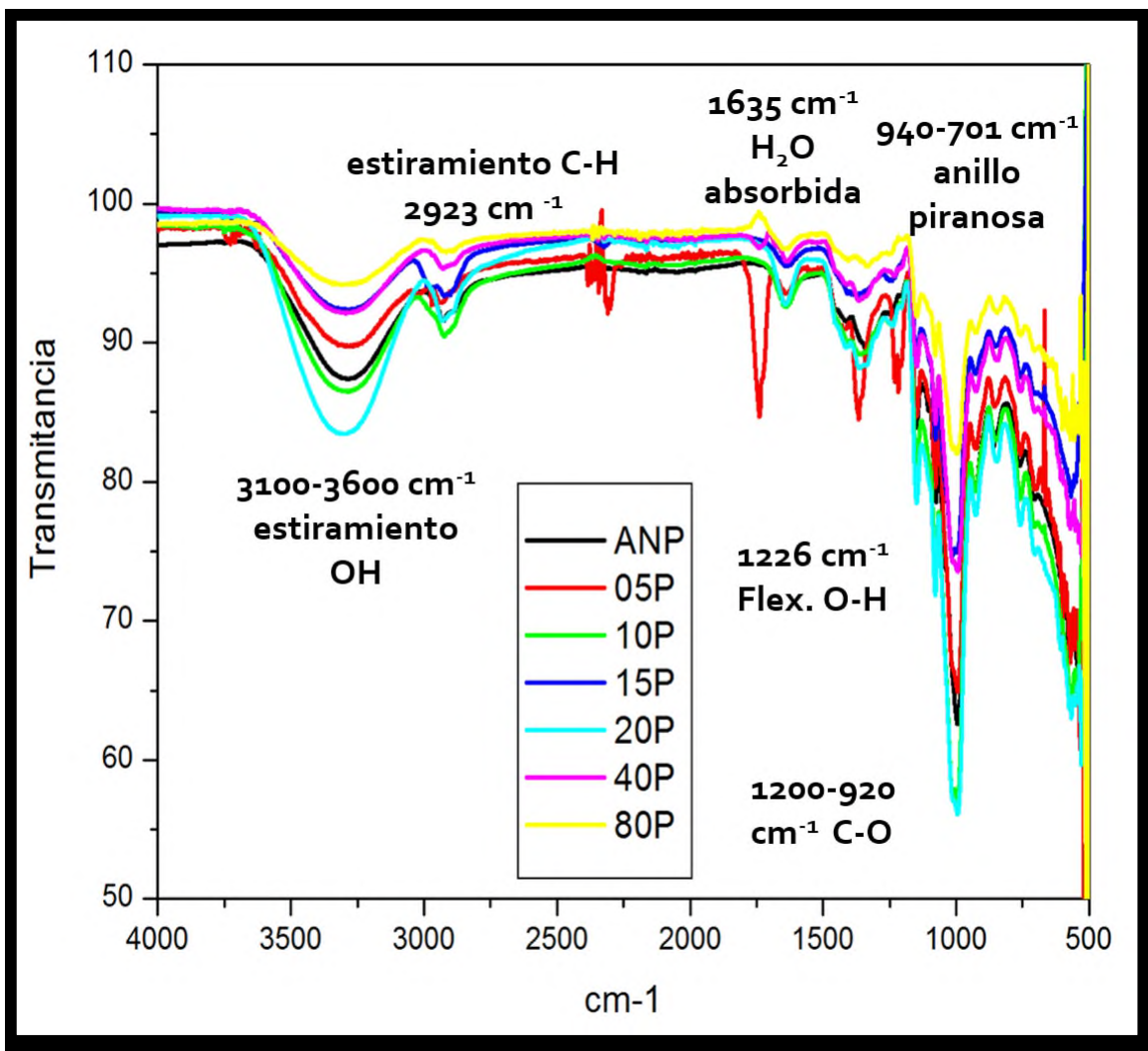
Con estas micrografías podemos corroborar el efecto generado en los almidones por la molienda mecánica, ya que en los espectros obtenidos en FTIR se observa que al ir incrementando los tiempos de molienda mecánica, se va intensificando la pérdida de la estructura cristalina por efecto de una despolimerización provocada por la alta energía generada durante el proceso de molienda, este impacto se ve reflejado en las micrografías donde también a mayor tiempo de molienda se ve un incremento en la deformación de la estructura de dichos gránulos de almidón.

## **7.5 ESPECTROSCOPIA DE INFRA ROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)**

La técnica FTIR permite definir cualitativamente cambios estructurales, el espectrograma del AN (**Figura 24**) presentó una señal de 3100- 3600  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde a la señal de estiramiento de los grupos OH, otra a los 2923  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a los estiramientos del hidrógeno con respecto al carbono (C–H). Una señal más se observó a los 1635  $\text{cm}^{-1}$  y se ha reportado que éste corresponde al agua adsorbida en la región amorfa de los gránulos de almidón. Otras señales fueron observadas entre 1400-1300  $\text{cm}^{-1}$  que corresponden a las señales de dobleces de los enlaces C–H, a 1226  $\text{cm}^{-1}$ , se presentan las flexiones de los enlaces O–H, por último, las señales de los 1200-920  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponden a los estiramientos de los enlaces C–O, y las señales de 940-701  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponden a las vibraciones de los anillos de piranosa.



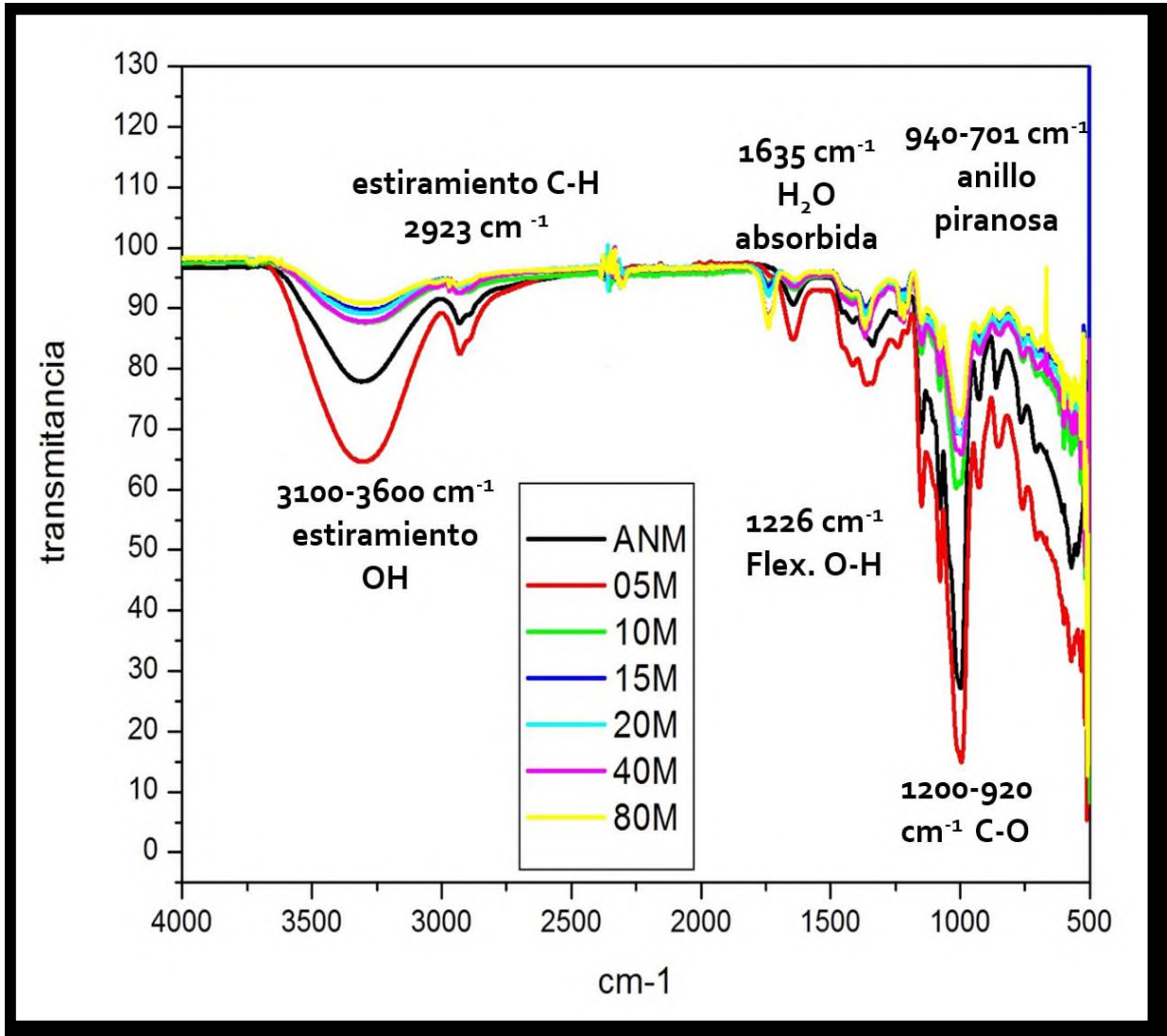
*Figura 24.- Espectros obtenidos por IR de los almidones nativos.*



**Figura 25.-** Espectros obtenidos por IR, del almidón nativo y molido de plátano.

En cualesquiera de los niveles del tratamiento de molienda mecánica para el almidón de plátano y malanga, **Figura 25** y **26**, se observó un cambio en los espectros obtenidos, las bandas mostraron una disminución de la intensidad, tal caso de la banda correspondiente a la señal del estiramiento de los OH a los  $3100-3600 \text{ cm}^{-1}$ , en los enlaces C-O a los  $1200-920 \text{ cm}^{-1}$  y en las vibraciones del anillo de piranosa, que comprende la señal de  $940-701 \text{ cm}^{-1}$ , esto nos hace pensar que se presentó una disminución en el número de enlaces característicos de tales bandas. Resultados similares reportó Avolio *et al.*, (2012), el análisis de los espectros de FTIR mostraron una muy marcada disminución de intensidad, en las bandas de adsorción en  $1431$  y

1372  $\text{cm}^{-1}$  en función al tiempo de molido, e indica una reducción progresiva de la cristalinidad de la celulosa durante el proceso.

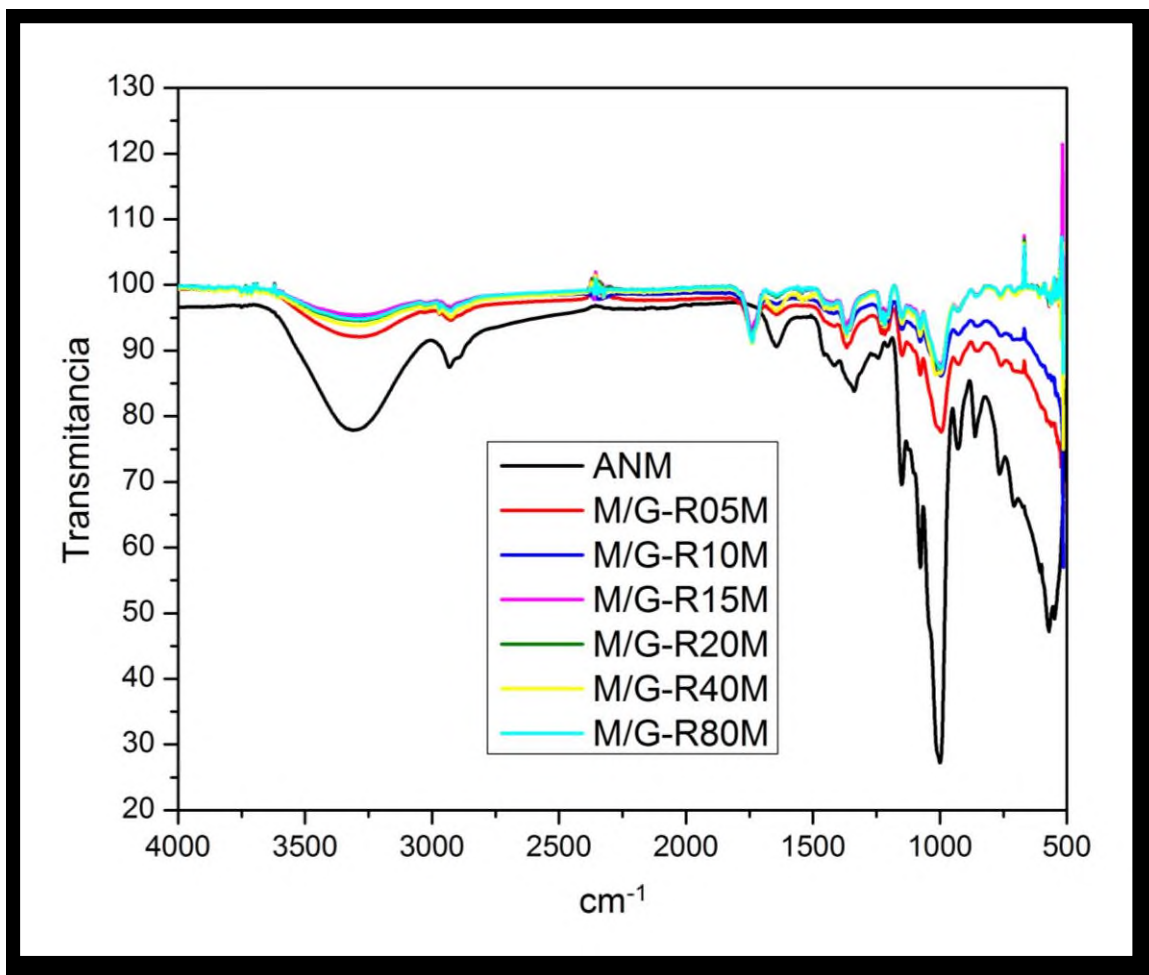


**Figura 26.-** Espectros obtenidos por IR, del almidón nativo y molido de malanga.

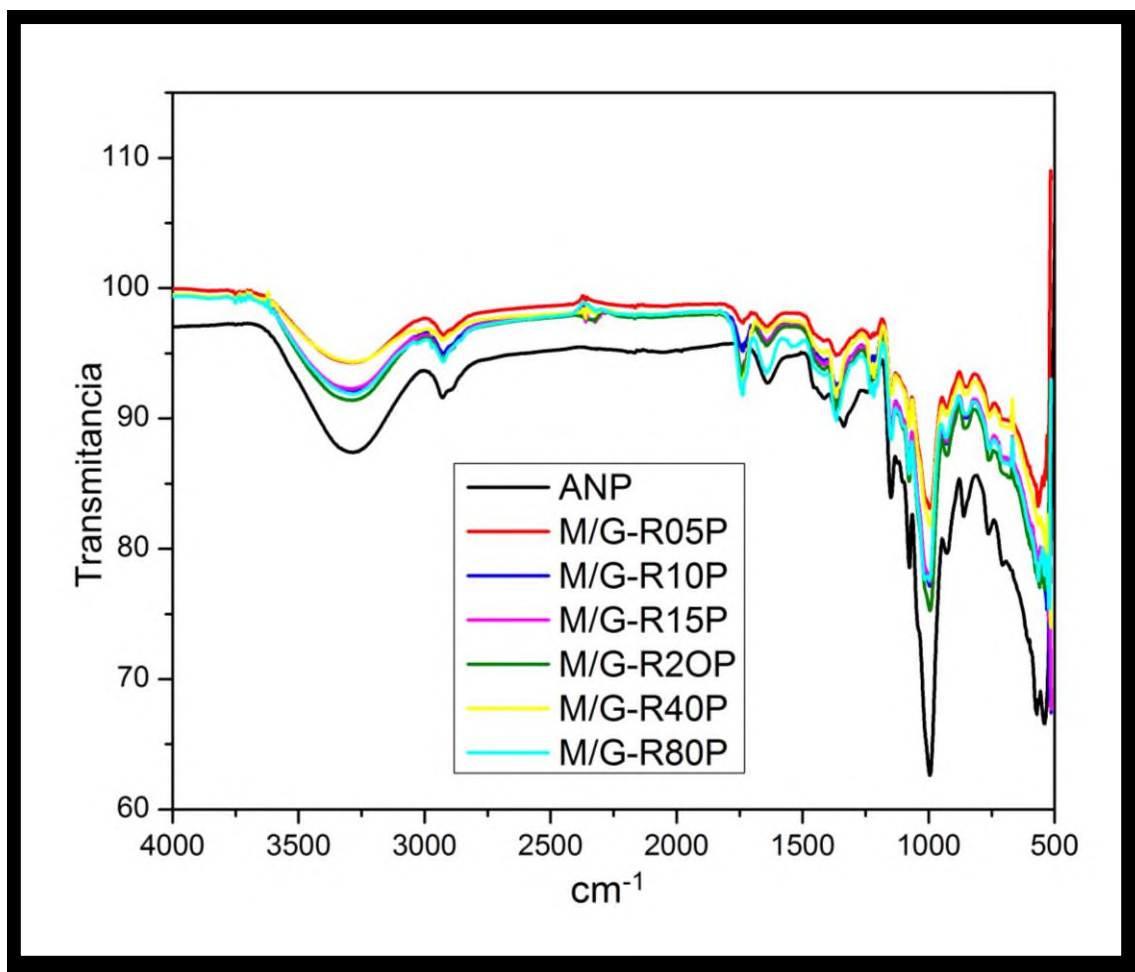
En la **Figura 27** se observan los espectros obtenidos del almidón nativo y doblemente modificado de malanga obtenidos por FTIR, en el cual se aprecia de forma más marcada la disminución de las bandas en los espectros de los almidones doblemente modificados, comparados con el espectro del almidón nativo de malanga, siendo el del nivel a un tiempo de 5 min de molienda, el que más sobresale

entre los doblemente modificados, en las bandas comprendidas a los 3100-3600, 1200-920 y 940-701  $\text{cm}^{-1}$ .

De esta misma manera, se puede observar en la **Figura 28**, como en los espectros obtenidos de plátano, presentan una tendencia similar los espectros doblemente modificados, siendo las bandas 3100-3600 y 1200-920  $\text{cm}^{-1}$  de mayor intensidad en los niveles correspondientes a 20 y 80 minutos de molienda; y las de 5 y 80 minutos de molienda de menor intensidad en las bandas.



**Figura 27.-** Espectros obtenidos por IR del almidón nativo y doblemente modificados de malanga



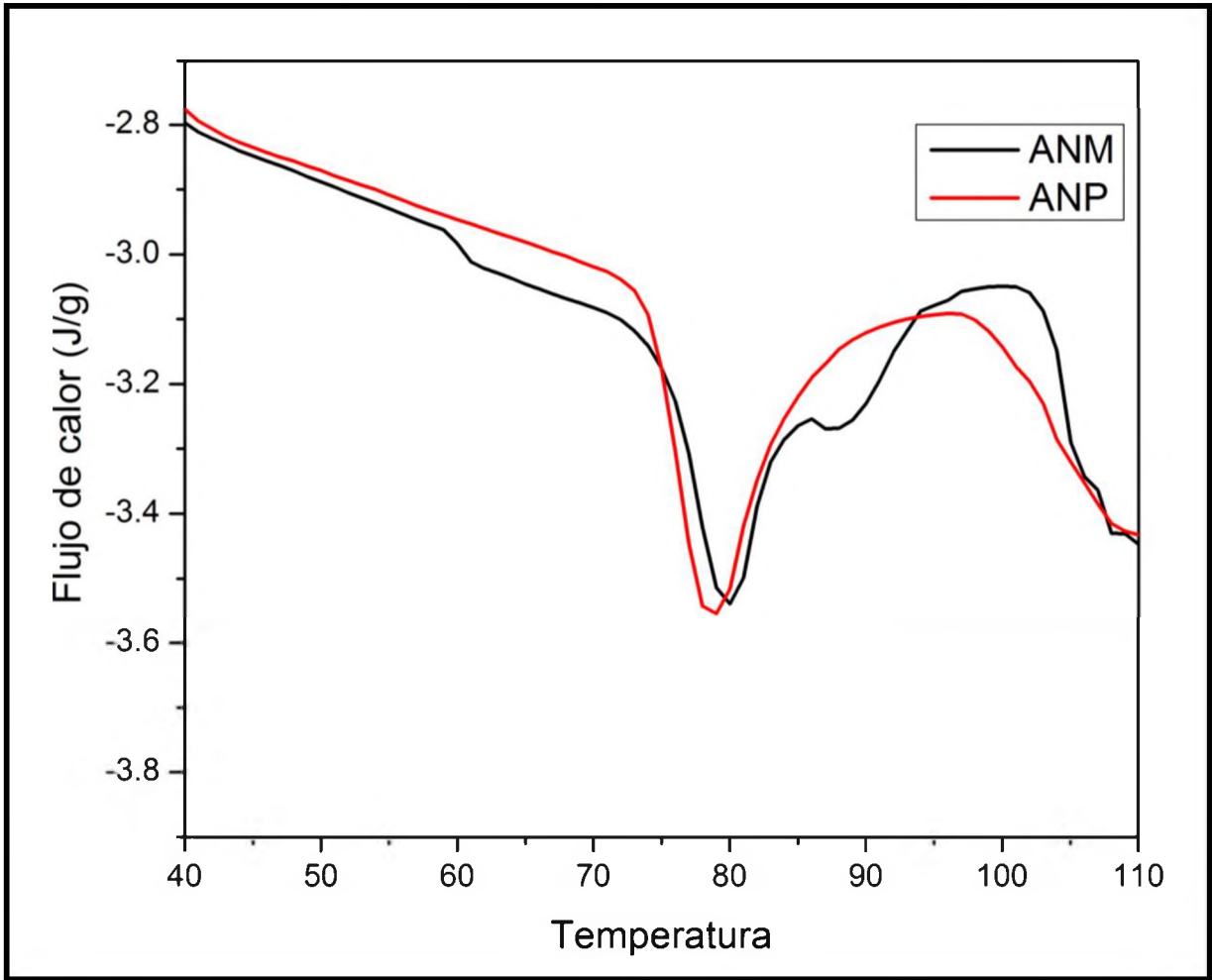
**Figura 28.-** Espectros obtenidos por IR del almidón nativo y doblemente modificados de plátano.

## 7.6 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

En la **Figura 29** podemos observar los endotermas tomados de los almidones nativos de plátano y malanga, que presentan valores para una  $T_p$  de 78.33 y 79.65°C respectivamente. Este valor es muy cercano al reportado por Casarrubias-Casillo *et al.*, (2012), quien reporta valores de  $T_p=77.4$  °C y  $\Delta H=14.2$  J/g, mientras que González-Mongradón, (2014), obtuvo en malanga coco valores de  $T_p=82.91$  °C y  $\Delta H=20.48$  J/g.

En la **Tabla 3**, se muestran las temperaturas de transición obtenidas por DSC de los almidones de plátano y malanga nativos y modificados, en la cual se pueden observar las entalpías de 8.389 y 13.700 J/g de los almidones nativos de malanga y plátano, respectivamente, donde la entalpia para el plátano es mayor con respecto al de malanga, esto se puede atribuir a que los gránulos de plátano son de mayor tamaño que los gránulos de malanga, y por lo tanto las cadenas de amilopectina son más largas y necesitan mayor cantidad de energía para romper las dobles hélices de estas. Bello-Pérez *et al.*, (2000) reporta en plátano macho una  $\Delta H$  de 13.0 J/g, estos resultados son similares a los obtenidos en este trabajo.

Se observó una disminución de la entalpia en los dos tratamientos de molienda y molienda-autoclave a cualquier tiempo de molienda, en ambos almidones, esto debido por efecto de energía liberada durante la molienda mecánica, fue necesaria para despolimerizar la molécula de almidón y así disminuir la entalpia, estos resultados se pueden corroborar con los obtenidos por DRX, en donde su muestra la pérdida de la estructura cristalina de los almidones y en SEM se observa una desfragmentación de los gránulos.



**Figura 29.-** Endotermas tomados por DSC de los almidones nativos de plátano y malanga.

**Tabla 3.-** Temperaturas de transición obtenidas por DSC de los almidones.

<b>Muestra</b>	<b>T<sub>i</sub></b> °C	<b>T<sub>p</sub></b> °C	<b>T<sub>f</sub></b> °C	<b>ΔH</b> J/g
ANM	75.36	79.65	84.51	8.389
GRM	102.95	107.46	111.37	1.191
ANP	73.68	78.33	84.64	13.700
GRP	102.31	108.01	110.30	1.170
M-M5	102.60	107.95	115.03	3.187
M/GR-M5	102.63	107.91	113.18	1.627
M-P5	106.11	108.07	109.28	0.136
M/GR-P5	105.33	114.88	133.04	3.609
M-M20	102.20	107.78	111.37	0.777
M/GR-M20	82.94	83.08	83.41	0.226
M-P20	104.06	107.16	108.41	0.088
M/GR-P20	102.82	104.43	108.25	0.419
M-M80	103.16	108.11	113.61	1.111
M/GR-M80	102.80	105.05	109.32	0.594
M-P80	105.30	105.40	106.10	0.320
M/GR-P80	103.34	107.51	109.12	0.353

T<sub>i</sub>, T<sub>p</sub>, T<sub>f</sub>= temperatura inicial, pico y final; ΔH= entalpia de gelatinización.

## 7.7 DIGESTIBILIDAD

En la **Tabla 4**, se muestran las fracciones tales como almidón total, resistente y disponible, obtenidas por el método de Englyst *et al.*, (1992), para el almidón de malanga, donde se puede observar que el contenido de AR es menor a 5% para los cuatro casos analizados, siendo la muestra con 5 min de molienda mecánica y autoclave-enfriamiento de mayor porcentaje de AR con un 2.04%, la cual es superior que su contraparte de molienda a 5 min; para 80 min de molienda con uno y ambos tratamientos se observó el mismo efecto, presentando un 0.42% de AR con dos tratamientos y un 0.21% con un solo tratamiento. Esto se pudo deber, que, a un alto tiempo de molienda, se degradó a tal punto las cadenas de amilosa, que no favoreció el reordenamiento de estas para formar nuevas estructuras cristalinas que pudiesen ser resistente a la digestión enzimática.

**Tabla 4.-** Fracciones obtenidas del almidón de malanga con uno y dos tratamientos.

Almidón	M/GR-M5	M/GR-M80	M-M5	M-M80
A. Total	66.45 ± 2.63 <sup>a</sup>	52.09 ± 1.80 <sup>ab</sup>	43.87 ± 0.72 <sup>bc</sup>	30.54 ± 1.39 <sup>c</sup>
A. Resistente	2.04 ± 0.33 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.11 <sup>bc</sup>	0.64 ± 0.33 <sup>b</sup>	0.21 ± 0.07 <sup>c</sup>
A. Disponible	64.41 ± 2.65 <sup>a</sup>	51.67 ± 1.79 <sup>ab</sup>	43.23 ± 0.64 <sup>bc</sup>	30.33 ± 1.39 <sup>c</sup>

\* Medida de tres repeticiones ± error estándar.

\* Valores seguidos que no comparte una letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

Este efecto se vio repetido para el caso del almidón de plátano (**Tabla 5**), donde se aprecia un contenido de AR mayor las muestras con ambos tratamientos y menor contenido de AR para las muestras tratadas sólo con molienda mecánica en ambos tiempos.

Presentando mejores resultados las muestras a mayor tiempo de molienda y ambos tratamientos (18.72%), con respecto a sus contraparte; en las cuales se parecía un aumento del contenido de AR en las muestras con ambos tratamientos y a mayor tiempo de molienda, es decir, que en este caso aumentar el tiempo de exposición con los dos tratamientos, favoreció el incremento de AR de plátano, caso contrario a las muestras de almidón de malanga, donde las muestras con ambos tratamientos y menos tiempo de molienda, presentaron mayor contenido de AR.

**Tabla 5.** - Fracciones obtenidas del almidón de plátano con uno y dos tratamientos.

Almidón	M/GR-P5	M/GR-P80	M-P5	M-P80
A. Total	67.61 ± 1.66 <sup>b</sup>	80.14 ± 1.99 <sup>a</sup>	39.37 ± 1.08 <sup>c</sup>	64.09 ± 0.53 <sup>b</sup>
A. Resistente	12.69 ± 1.43 <sup>b</sup>	18.72 ± 0.76 <sup>a</sup>	7.91 ± 0.84 <sup>c</sup>	2.51 ± 0.25 <sup>d</sup>
A. Disponible	54.92 ± 0.84 <sup>a</sup>	61.41 ± 1.84 <sup>a</sup>	31.46 ± 0.68 <sup>b</sup>	61.58 ± 0.59 <sup>a</sup>

\* Medida de tres repeticiones ± error estándar.

\* Valores seguidos que no comparten una letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

Este efecto puede ser atribuido a la diferencia del tamaño y forma del gránulo de almidón y la entalpía de las fuentes estudiadas, siendo de mayor tamaño y entalpía el gránulo de plátano, que el gránulo de malanga; por lo que hace menos susceptible a la molienda mecánica los gránulos de malanga con menor superficie de contacto, hacia los balines de carburo de tungsteno; y requiriendo aplicar menor cantidad de energía para degradar su estructura.

## 8 CONCLUSIÓN

Los almidones de plátano y malanga presentaron un patrón de difracción tipo A, característico de los cereales y algunas raíces, con un porcentaje de cristalinidad de 35.72 y 35.25% respectivamente. El tratamiento de molienda afectó la estructura morfológica de los almidones nativos, provocando una desfragmentación de los gránulos de almidón, presentando cambios con este tratamiento en los almidones nativos de estas dos fuentes estudiadas, tales como la pérdida del patrón de difracción, disminución del porcentaje de cristalinidad, desde los 5 minutos de tratamiento, a tiempos de 80 min de molienda se obtuvieron materiales amorfos. Al realizar el segundo tratamiento (molienda-autoclave y enfriamiento) en los almidones, se pudo observar una reestructuración molecular, presentando nuevas estructuras cristalinas.

En las micrografías tomadas por SEM, se puede notar la desfragmentación por efecto de la molienda mecánica, también desde el primer nivel de molienda (5 minutos), a los mayores tiempos de molienda, se formó cúmulos de fragmentos de almidón, dicho aglomerado siguió presente tras el tratamiento de autoclave-enfriamiento. Con estos resultados podemos sugerir tiempos de molienda cortos en análisis futuros.

Los espectros de FTIR mostraron una disminución de las bandas a los 3100-3600, 1200-920 y 940-701  $\text{cm}^{-1}$ , pudiendo pensar que los tratamientos rompieron principalmente esos enlaces, llevando a una disminución de la intensidad de las bandas para dichos enlaces.

Las temperaturas de transición arrojadas por DSC, muestran valores de entalpia más altos a tiempos cortos de molienda (5 min) en todos los tiempos medidos, indicando estructuras cristalinas más homogéneas en ambas fuentes de almidones.

Las muestras analizadas para con tiempo de molienda a 5 y 80 minutos con ambos

tratamientos, presentaron mayor contenido de almidón resistente, comparadas con su contraparte con un solo tratamiento, para ambas fuentes estudiadas, observándose mejores resultados en las muestras de almidón de plátano.

Por tanto, se puede concluir que, las muestras con doble modificación a 5 minutos, presentó mejores resultados, con un contenido de AR=12.69% a menor tiempo, incrementado también las temperaturas de transición ( $T_i=105.33^\circ$ ,  $T_p=114.84^\circ$  y  $T_f=133.04^\circ$ ), siendo mayores a sus contrapartes con ambos tratamientos.

## 9 REFERENCIAS

- AACC, (2000). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 10th ed. *Advancing Cereal Science Worldwide*, USA.
- Antonio-Estrada, C; Bello-Pérez, L. A; Martínez-Sánchez, C; Montañez-Soto, J; Jiménez-Hernández, J. & Vivar-Vera, M. (2009). Producción enzimática de maltodextrinas a partir de malanga (*colocassiaesculenta*). *CyTA-JournalofFood*, Taylor & Francis. 7(3), 233-241.
- Aparicio-Saguilán, A; Valera-Zaragoza, M; Perucini-Avendaño, M; Páramo-Calderón D. E; Aguirre-Cruz A; Ramírez-Hernández A; Bello-Pérez L. A. Lintnerization of banana starch isolated from underutilized variety: morphological, thermal, functional properties, and digestibility *CyTA-Journal of Food*, 2015, 13, 3-9.
- Asp, N. G. (1994). Nutritional classification of food carbohydrates. *American Journal of clinical Nutrition*, 59: S779-681.
- Atwell, W; A; Hood, L; F; Lineback, B; R; Varriano-Marston, E; & Zobel, H. F. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal FoodWorld*. 33:306-311
- Avolio, R; Bonadies, I; Capitani, D; Errico, M. E; Gentile, G; Avella, M. (2012). A multitechnique approach to assess the effect of ball milling on cellulose. *CarbohydratePolymers*, 87: 265-273.
- Balaz P. (2008). High-Energy Milling. *Mechanochemistry in Nanoscience and Minerals Engineering*. Hardcover. Slovakia. Editorial Springer. 103-132.
- Barboza, P. S., Parker, K. L. & Hume, I. D. (2009). Carbohydrates: sugars, fiber and fermentation. In: *integrative Wildlife Nutrition*, Barboza, P. S., Parker, K. L. and Hume, I. D. Springer-Verlang Berlin Heidelberg. Pp: 97-118.
- Barragan-Zárate, G, S; Carmona-Garcia, R; Torruco-Uco, J.G.(2013). Obtención y caracterización de almidón resistente a partir de almidón de malanga (*Colocasia esculenta*Schott) modificado con ácido cítrico. Tesismaestría. ITTux. Oaxaca, México.
- Bello-Pérez, L. A. (1995). Amilopectina-Characterización molecular y funcional. Tesis de Doctorado. Cinvestav-IPN. Irapuato, México.

- Bello-Pérez, L. A; Agama-Acevedo, E; Sánchez-Hernández, L. & Paredes-López, O. J. (1999). *Agric. Food Chem.*, 47,854-857.
- Bello-Pérez, L. A; Gonzáles-Soto, R. A; Sánchez-Rivero, M. M; Gutiérrez-Meráz, F; Vargas-Torres, A. (2006). Extrusión de almidones de fuentes no convencionales para la producción de almidón resistente. *Agrociencia*, Vol. 40, Núm. 4, julio-agosto 2006, pp.441-448.
- Bello-Pérez, L. A; Méndez-Montealvo, G. & Solorza-Feria, J. (2002). Estructura molecular de almidones. *Memorias de Investigación*. CeProBi-IPN, México.
- BeMiller, J. N; & Hubert, K.(2007). Carbohydrates. In: *Fennema's Food Chemistry* Srinivasan, D., Parkin, K., Owen, R. (Ed). Taylor & Francis, Inc. Chapter 3, pp:120-131.
- Biliaderis, C. G. (1991). The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 69: 60-78.
- Björck, I. & Asp, N. G. (1994). Controlling the nutritional properties of starch in foods-a challenge to the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 5: 213-218.
- Bornet, F. (1993). Technological treatments of cereals. Repercussions on the physiological properties of starch. *Carbohydrate Polymers*. 21: 195-203.
- Brand-Miller J. (2003). "Glycemic load and chronic disease". *NutrRev* 2003;61:S49-55.
- Brennan, C. S. (2005). Dietary fibre, glycaemic response, and diabetes. *Molecular Nutrition and Food Research*, 49: 560-570.
- Brouns, F; Arrigoni, E; Langkilde, A. M; Verkooijen, I; Fässler, C; Andersson, H; KETTLITZ, B; Van Nieuwenhoven, M; Philipsson, H. & Amado, R. (2007). Physiological and metabolic properties of a digestion-resistant maltodextrin, classified as type 3 retrograded resistant starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4): 1574-1581.
- Buleon. A; Colonna, P; Planchot, V; & Ball, S. (1988). Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*. 23: 85-112.
- Carmona-García, R; Aguirre-Cruz, A; Yee-Madeira, H. & Bello-Perez, L. A. (2009). Dual modification of banana: partial characterization. *Starch/Stärke*; 61, 656-664.

- Colonna P; Leloup V &Beléon A. (1992). Limiting factors of starch hydrolysis. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46: S17-S32.
- Constantini, A. M. Cannella, C. &Tomassi, G. (1999). *Fondamenti di nutrizione umana*. Ed. II, PensieroScientifico.
- Daniel J. R; Whistler R. L. (1990). *Fatty Cereal Food World*, 35, 825.
- Donovan, J. W. (1979). Phase transitions of starch-water system. *Biopolymers*. 18:263-275.
- Eerlingen, R. C. &Delcour, J. A. (1995). Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. *Journal of Cereal Science*, 22: 129-38.
- Englyst, H. N; Kingman, S. M. & Cummings, J. H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46: S33-S50.
- Englyst, K. N &Englyst, H. N. (2005). Carbohydrate bioavailability. *British Journal of Nutrition*, 94: 1-11.
- Englyst, K. N; Vinoy, S; Englyst, H. N. & Lang, V. (2003). Glycemic index of cereal products explained by their content of rapidly and slowly available glucose. *British Journal of Nutrition*, 89: 329-339.
- EURESTA. (1992). European flour action concerted on resistant starch. *EURESTA Newsletter III*: 7.
- FAOSTAT. Database from Food and Agriculture Organization (2008). Disponible en línea <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
- Flores-Farías, Sadi. (2004). Obtención de almidón con tamaño de partícula reducido mediante pulverizado mezclado con alta energía. Tesis doctorado. CICATA-IPN. México.
- Flores- Gorosquera, E; García-Suárez, F. J; Flores-Huicochea, E; Nuñez-Santiago, M. C; González-Soto, R. A; & Bello-Pérez, L. A. (2004). *Acta Científica Venezolana*, 55, 86-90.
- Flores, S.K.; Costa, D.; Yamashita, F.; Gerschenson, L.N. y Grossmann M.V. (2010). Mixture design for evaluation of potassium sorbate and xanthan gum effect on properties of tapioca starch films obtained by extrusion. *Materials Science and Engineering*, 30(1), 196-202.

- French, D. (1984). Organization of starch granules. In: Starch: chemistry and technology, 2<sup>nd</sup> ed., Whistler, R. L., BeMiller, J. N., and Paschall, E.F. (eds). Academic Press, Orlando, FL.
- Gallant, D. J; Bouchet, B; & Baldwin, P. M. (1997). Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. *Carbohydrate Polymers*, 32, 177-191.
- Garcia-Alonso A; Martín-Carrón N. & Goñi I. (1997). Funcionalidad de los almidones de la dieta. *Digestión y fermentación alimentaria*, 65-69.
- Gonzáles-Mondragón, E. G. (1014). Análisis comparativo de las propiedades físico-químicas y nutrimentales de almidón obtenido a partir de dos especies de malanga (*colocasia antiquorum* y *colocasia esculenta*) cultivadas en el estado de Oaxaca. *Memorias de Investigación. UTM. Oaxaca, México*.
- Grajek, W; Olejnik, A. & Sip, A. (2005). Probiotic, prebiotic and antioxidants as functional foods. *Acta Biochimica Polonica*, 52 (3): 665-671.
- Guilbot, A. & Mercier, C. (1985). Starch. En: *The polysaccharides*, Aspinall, O. (eds). Academic Press, New York. Pp 209-282.
- Guilbot, A. & Mercier, C. (1985). Starch. In *The Polysaccharides*, ed. O. Aspinall, pp. 209-282. Academic Press, N. Y.
- Han, J. A. & BeMiller, J. N. (2007). Preparation and physical characteristics of slowly digesting modified food starches. *Carbohydrate Polymers*. 67: 366-374.
- He, J; Liu, J. & Zhang, G. (2008). Slowly Digestible Waxi Maize Starches Prepared by Octenyl Succinic Anhydride Esterificación and Heat-Moisture Treatment Glycemic Response and Mechanism. *Biomacromolecules*, 9: 175-184.
- Himeda, M; Yanou, N. N; Nguimbou, R. M; Gaiani, C; Scher, J; Facho, J. B. & Mbofung, C. M. (2012). Physicochemical, rheological and thermal properties of taro (*colocassia esculenta*) starch harvested at different maturity stages. *International Journal of Biosciences*. Shamokal Publications, 2(3), 14-27.
- Hoover, R; Smith, C; Zhou, Y; & Ratnayake, R. M. W. S. (2003). Physicochemical properties of Canadian oat starches. *Carbohydrate Polymers*. 52: 253-261.
- Huang, J; Schols, H. A; Klaver, R; Jin, Z; & Vorangen, A. G. J. (2007). Acetyl substitution patterns of amylase and amylopectin populations in cowpea starch

modified with acetic anhydride and vinyl acetate. *Carbohydrate Polymers*. 67: 542-550.

- Huggett, A. C. & Schliter, B., (1996). Research needs for establishing the safety of functional foods. *Nutritional Review*. 54: S143-S148.
- Imberty, A; Buleon, A; Tran, V; & Perez, S. (1991). Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch/Starke*. 43: 375-384.
- Jane, J. L; Wong, K. S; and McPherson, A. E. *Carbohydr. Res.* 1997, 300, 219-227.
- Jane, J; Shen, L; Chen, J; Lim, S; Kasemsuwan, T; Nip, W. K. (1992). *Cereal Chem.*, 69(5). 528.
- Jenkins, D. J. A; Kendall, C. W. C; Agustin, L. S. A; Franceschi, S; Hamidi, M; Marchie, A; *et al.*, (2002). Glycemic index: overview of implications in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76: 266S-273S.
- Jimenez-Cruz, A; Seimandi-Mora, H. & Bacardi-Gascon, M. 2003. Efecto de dietas con bajo índice glucémico en hiperlipidémicos. *Nutrición Hospitalaria*, 18: 331-335
- Jobling, S. (2004). Improving starch for food and industrial applications. *Current Opinion in Plant Biology*. 7: 210-218.
- Kim, Y. S; Wiessenborn, D. P; & Grant, L. A. (1997). Pasting and thermal properties of potato and bean starches. *Starch/Starke*. 49: 97-102.
- Lehmann, U. & Robin, F. (2007). Slowly digestible starch-its structure and health implications: a review. *Food science and technology*. 18:346-356.
- Lineback D. R. (1997). Resistant starch. *AACC short course on starch: structure, properties, and food uses*. Chicago, IL, U.S.A.
- Lineback, D. R. & V. F. Rasper. (1988). Wheat carbohydrates, chemistry and technology. In: Y. Pomeranz (Ed.). *American Association of Cereal Chemists*, Minnesota, U.S.A. BeMiller, Vol. 1. pp. 277-372.
- Liu, Q. (2005). Understanding starches and their role in foods. In: *Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications*, Cui, S., W. (Ed) Taylor and Francis, Inc. Chapter 7, pp. 314-323.

- MacAllister, R. V. (1979). Nutritive sweeteners made from starch. Pages: 15-56. En: Tipson, S., and Horton D. (Eds.). *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. Academic Press, Ins. New York. U.S.A.
- Martínez-Navarrete, N; Andrés-Grau, A; M; Chiralt-Boix, A;& Fito-Maupoy P. (1998). *Termodinámica y cinética de sistemas alimento entorno*. Ed. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España, Pp 230.
- Millan-Testa, C. E; Mendez-Montevalvo, M. G; Otteenhof, M. A; Faehat, I. A;& Bello-Perez, L. (2005). Determination of the molecular and structural characteristics of akenia, mango, and banana starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 495-501.
- Nollet, Leo M. L; (1996). *Handbook of food analysis: Residues and Other Food Component Analysis*; 2nd edition, ed. Marcel Dekker, New York, Pp. 840-860.
- *Official Methods of Analysis (AOAC) (1980)*. 13 th. Association of Official Analytical Chemists. Washington, USA.
- Paredes-López, O; Schevevin, M. L;Hernández-Lopéz, D. &Cárabez-Trejo, A. (1989). Amaranth starch isolation and partial characterization. *Starch/starke*. 41: 205-207.
- Park, J. T. &Rollings, J. E. (1994). Effects of substrate branching characteristics on kinetics of enzymatic depolymerization of mixed linear and branched polysaccharides: I. Amylose/amylopectin  $\alpha$ -amylolysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 44: 792-800.
- Perez, E. E; Lares, M; &Gonzalez, Z. M. (1997). Characterization of starch isolated from White and dark sorghum. *Starch/starke*. 49: 103-106.
- Plaza, M; Cifuentes, A. &Ibañez, E. (2008). In the search of new functional food ingredients from algae and microalgae. *Trends Food Science Technology*, 19:31-39.
- Reeve, A. (1992). Starch hydrolysis: Processes and equipment. Pages 79-120 in: *Starch Hydrolysis Products*. F. W. Schenck and R. E. Hebeda, Eds. VCH Publishers, New York.
- Rivas-González, M; M. G. Méndez-Montevalvo; M. M. Sánchez-Rivera; M. C. Nuñez-Santiago, y L. A. Bello-Pérez. (2008). Caracterización morfológica, molecular y fisicoquímica del almidón de plátano oxidado y lintnerizado. *Agrociencia* 42:487-497.

- Rodriguez-Marín, M. L; Nuñez-Santiago, C; Wang, Y. J. & Bello-Pérez, L. A. (2009). Physicochemical and structural characteristics of cross-linked banana starch using three cross-linking reagents. *Starch/Stärke*, 62: 530-537.
- Sajilata, M. G; Singhal, R. S. & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch – a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5: 1-17.
- Sandhu, K. S; & Lim, S. (2008). Structural characteristic and in vitro digestibility of mango kernel starches (*Mangifera indica* L.). *Food Chemistry*, 107: 92-97.
- Saura-Calixto, F; Goñi, I; Bravo, L. & Mañas, E. (1993). Resistant starch in foods: Modified method for dietary fiber residues, *Journal Food Science*, 58 (3): 642-643.
- Shin, S; Byun, J; Park, K. H. & Moon, T. W. (2004). Effect of partial acid hydrolysis and heat-moisture treatment on formation of resistant tuber starch. *Cereal Chemistry, AACC International*. 81(2), 194-198.
- SIAP-SAGARPA, (2005). Servicio de información estadística agroalimentaria y Pesquera.
- Singh, J; Kaur L; & Mc Carthy O. J. (2007). Factors influencing the physicochemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-review. *Food Hydrocolloids*. 21: 1-22.
- Slaughter, L. S; Ellis, R. P. & Butterworth, J. P. (2001). An investigation of the action of porcine pancreatic  $\alpha$ -amylase on native and gelatinized starches. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1525: 29-36.
- Spence, K. E; & Jane, J. (1999). Chemical and physical properties of ginko (*Ginkgo biloba*) starch. *Carbohydrate Polymers*, 40: 261-269.
- Srichuwong, S; & Jane, J. (2007). Physicochemical properties of starch affected by molecular composition and structures: a review. *Food Science and Biotechnology*. 16:000-000.
- Srichuwong, S; Sunarti, T. C; Mishima, T; Isono, N; & Hisamatsu, M. (2005). Starches from different botanical sources in Contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. *Carbohydrate Polymers*, 60: 529-538.

- Stephen, A. M. (1995). Resistant starch. Pages 453-458 in: Dietary Fiber in Health and Disease. D. Kritchevsky and C. Bonfield, Eds. Eagan Press, St. Paul, MN, U.S.A.
- Stevenson, D. G; Jane, J; & Inglett, G. E. (2007). Characterisation of Jicama (Mexican potato) (*Pachyrhizuserosus* L. Urban) starch from taproots grown in USA and México. *Starch/Stärke*, 59: 132-140.
- Sugimoto Y; Nishihara K; Fuwa H. (1986). Some properties of taro and yam starches. *JournaloftheJapaneseSocietyofStarchScience*. 33: 169.
- Suryanarayana C. (2001). Mechanical alloying and milling. *Progress in MaterialsScience*. 46: 1-184.
- Tester, R. F; Karkalas, J. & Qi, X. (2004). Starch structure and digestibility enzymesubstrate relationship. *World´sPoultryScienceAssociation*, 60: 186-195.
- Thomas, D. J. & Atwell, W. A. (Eds.). (1999). *Starches*. Eagan Press, St. Paul, Minnesota, U. S.A.
- Topping, D. L. & Clifton, P. M. (2001). Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and non-starch polysaccharides. *Physiological Reviews*, 81: 1031-1064.
- Vergara-Méndez, B. Z; Aguirre-Cruz, A; Carmona-García, R. (2012). Efecto de la modificación química dual del almidón de plátano (*Musa paradisiaca* L.) sobre las propiedades térmicas, morfológicas y estructurales. Tesis Licenciatura. UNPA campus: Tuxtepec. Oaxaca, México.
- Whistler, R. L; & Daniel, J; R. (1984). Molecular structure of starch. In: *Starch: Chemistry and Techonology*. Whistler, R. L; Berniller, J. N. and Phaschall, E; F. Eds. AcademicPress, Inc. New York.
- Wolever, T. M. S. &Mehling, C. (2002). Hinh-carbohydrate-low-glycemic index dietary advice improves glucose disposition index in subjects with impaired glucose tolerance. *British Journal of Nutrition*, 87: 477-487.
- Wolf, B. W; Bauer, L. L. & Fahey, Jr. G. C. (1999). Effects of chemical modification on in vitro rate and extent of food starch digestion: an attempt to discover a slow digested starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4178-4183.

- Wurzburg, O.B; & Szymanski, C.D. (1970). Modified Starches for the Food Industry. *JournalAgricultureFoodChemistry*, 18: 997-1001.
- Zamudio-Flores, P. B; Vargas-Torres, A; Gutiérrez-Meráz, F; Bello-Pérez, L. A; Caracterización fisicoquímica de almidones doblemente modificados de plátano. *Agrociencia*, Vol. 44, Núm. 3, abril-mayo, 2010, pp, 283-295.
- Zhang, P; Whistler, R. L; BeMiller, J. N. &Hamaker, B. R. (2005). Banana Starch: production, physicochemical properties, and digestibility-a review. *Carbohydrate Polymers*, 59: 443-458.
- Zobel, H. F. (1988). Molecules to granule: a comprehensive starch review. *Starch/Stärke*, 40(2): 44-50.