



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

CAMPUS TUXTEPEC

T E S I S

**EFFECTO DE LA MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL ALMIDÓN DE PLÁTANO
OBTENIDO A PARTIR DE 2 DIFERENTES VARIEDADES SOBRE EL
CONTENIDO DE AR: CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA, DE
DIGESTIBILIDAD, TÉRMICA, ESTRUCTURAL Y MORFOLÓGICA**

PRESENTA

RAÚL VÁSQUEZ MARTÍNEZ

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO EN ALIMENTOS

DIRECTOR DE TESIS

DR. ALEJANDRO APARICIO SAGUILÁN

CODIRECTOR DE TESIS

DR. ANDRÉS AGUIRRE CRUZ

SAN JUAN BAUTISTA TUXTEPEC, JULIO 2013

El presente trabajo de investigación fue realizado en las instalaciones de la Universidad del Papaloapan (UNPA) campus Tuxtepec, con apoyo del Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) a través del proyecto PROMEP /103.5/09/4225

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de tesis a *Dios* por haberme dejado estar aquí con vida, por otorgarme la fortaleza para llevar a buen término este trabajo y por haberme hecho nacer en las buenas manos de quienes son mis padres ALFONSO PEDRO y JUANA.

A mis padres por darme tanto cariño y apoyo. A pesar de mis caídas, ellos siempre han estado ahí para darme la mano y sus sabios consejos. Su amor en todo momento y su confianza me han dejado lograr este título que simplemente no es mío sino de ellos porque con mucho esfuerzo han tratado de hacer de mi una mejor persona cada día, gracias padres los AMO.

A mis hermanos, Alfonso, Alonso y Elda Lilia por compartir conmigo la infancia, por ser parte de mi familia y simplemente por haberme brindado su amor consejos y apoyo para llevar a buen término este proyecto de vida.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por todo lo que me ha ayudado a conseguir y por todas las pruebas, las cuales me han enseñado que la vida está llena de retos y de esfuerzos constantes.

Un gran agradecimiento a mi director de tesis el Dr. Alejandro Aparicio Saguilán, por todo el apoyo que me ha proporcionado, por la gran cantidad de conocimientos que me ha dado, por su invaluable amistad y sobre todo por su increíble confianza hacia mí, por todo ello no me queda decir más que muchas gracias profe Alex.

Agradezco al Dr. Andrés Aguirre Cruz codirector de este trabajo, quien mediante los conocimientos dados dentro y fuera de las aulas me han ayudado a mejorar muchos aspectos de mi vida, también por su apoyo en mis visitas en Cuernavaca y darme su hospitalidad.

Al Jefe de Carrera de Ingeniería en Alimentos; M.C. Miguel Ángel García Muñoz, a los profesores María de Jesús, Fabiola, Sandra, Karin, Bertha y en general a todos los profesores de la universidad que me guiaron en mi formación académica y que me dieron grandes conocimientos y compartieron conmigo sus experiencias. Al Ing. Juan por su amistad.

Al Centro de Desarrollo de Productos Bióticos por otorgarme las facilidades para la realización de las pruebas.

A mis apreciados compañeros; J. J, Ana, Migue, Made, Jade, Asunción, Mariazel, Álvaro, Diana, María Luisa, Maribel, Fandila, Cesar y a todos los que no menciono y quienes me escucharon, apoyaron y me dieron sus consejos en los momentos tristes y también en los felices.

Este último agradecimiento es para Maricruz quien me ha soportado, me ha querido, me ha escuchado y apoyado desde siempre, que me reconforta y me alienta. A ella le digo muchas gracias por estar en mi vida justo aquí a mi lado.

RESUMEN

En los últimos años, la posibilidad de modificar la estructura de almidones nativos mediante modificaciones físicas y químicas para generar fracciones resistentes a la digestión enzimática, esto es formar almidón resistente (AR) o formar enlaces cruzados que disminuyen la susceptibilidad de las enzimas, ha llamado la atención en la industria de alimentos. El AR genera efectos positivos en la salud, por ejemplo; previene el cáncer de colon y las enfermedades cardiovasculares. El presente trabajo trata sobre la formación de AR a través de la modificación química del almidón de plátano de dos variedades (macho y roatán) utilizando dos reactivos; epiclorhidrina (EPI) y trimetafosfato de sodio (STMP) por su siglas en inglés, bajo condiciones alcalinas. Una vez modificado el almidón de plátano de las dos variedades, se determinó el contenido de AR usando el método de Englyst y posteriormente se evaluaron las propiedades morfológicas. La temperatura de gelatinización y retrogradación así como sus entalpías fueron también determinadas, así como las propiedades funcionales. La modificación química con STMP y EPI incrementó significativamente el contenido de AR en las dos variedades de plátano. La temperatura y entalpía de gelatinización aumentaron en ambas variedades solo cuando se utilizó STMP como agente entrecruzante. Por lo tanto, la modificación química con STMP mostró una mayor estabilidad térmica que con EPI. Las propiedades funcionales fueron afectadas significativamente por la modificación química. En general, la viscosidad del AR en ambas variedades de plátano modificado fue menor en comparación al AR nativo. El almidón de la variedad Roatán modificado con EPI presentó los valores más bajos de viscosidad, mientras que en la variedad Macho la modificación con STMP mostró los valores más bajos. Este comportamiento podría ser debido a la diferencia en el contenido de amilosa entre ambas variedades de almidón de plátano.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que la modificación química por STMP podría ser una alternativa para la obtención de AR y esto podría ser utilizado como ingrediente para la elaboración de alimentos con características nutracéuticas.

ABSTRACT

Nowadays, resistant starch (RS) has gained the attention of the food industry because of its health benefits, such as prevention of colon cancer and cardiovascular diseases. It is possible to change the native starch structure through chemical reactions such as crosslinked which produces starch fractions that resist the hydrolysis by digestive enzymes and thereby increase the resistant starch content. The objective of this research was the starch modification of two banana varieties (roatan and male) using epichlorohydrin (EPI) and sodium trimetaphosphate (STMP) under alkaline conditions to obtain resistant starch. The resistant starch (RS) content, gelatinization and pasting properties of the modified starches were determined. Chemical modification with STMP and EPI showed a significant increase in the RS content compared to native starch in the two banana varieties. The gelatinization transition temperatures and gelatinization enthalpy of roatan and male banana starch increased with the use of STMP; whilst the reagent EPI showed a decrease in the gelatinization properties in both banana varieties with respect to its native starch. This indicates that chemical modification with STMP showed a higher thermal stability. It was observed that pasting properties of both banana starches modified with EPI and STMP were lower compared to their native starch. Banana starch from roatan modified with EPI and Male banana starch crosslinked with STMP showed the lower pasting properties. This trend could be due to differences between amylose content of both banana varieties. The results of this study demonstrate that functional properties of banana starch were affected by the chemical modification. On the other hand, the crosslinking of starch with STMP could be an alternative to obtain RS and use it as an ingredient to produce foods with nutraceutical properties.

ÍNDICE

RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
ÍNDICE.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1. Plátano	3
2.3. Composición química del plátano	4
2.4. Generalidades del almidón	5
2.4.1. Amilosa.....	6
2.4.2. Amilopectina	7
2.4.3. Estructura del granulo de almidón.....	9
2.5. Almidón de plátano	10
2.6. Digestión del almidón.....	11
2.6.1. Almidón resistente.....	12
2.6.1.1. Clasificación del AR.....	14
2.6.2. Efectos fisiológicos del AR en la Salud	15
2.7. Procesos de obtención de AR	16
2.7.1. Modificación Química del almidón.....	17
2.7.1.1 Tipos de modificaciones químicas	18
2.7.1.2. Entrecruzamiento	20
2.7.1.2.1. Agentes entrecruzantes	20
2.7.2. Estudios realizados sobre almidón de plátano químicamente modificado.	25
III. JUSTIFICACIÓN.....	28
IV. HIPÓTESIS	29

V. OBJETIVOS.....	30
5.1. Objetivo General.....	30
5.2. Objetivos Especificos	30
VI. PARTE EXPERIMENTAL.....	31
6.1 Materiales	32
6.1.1 Materia prima	32
6.2 Métodos	32
6.2.1 Aislamiento del Almidón.....	32
6.2.2. Modificación química.....	33
6.2.2.1 Entrecruzamiento con trimetafosfato de sodio (STMP).....	33
6.2.2.2. Entrecruzamiento con Epiclorhidrina (EPI)	33
6.2.3. Análisis Químico Proximal	34
6.2.3.1 Humedad.....	34
6.2.3.2. Lípidos	34
6.2.3.3. Proteínas	34
6.2.3.4. Determinación de amilosa aparente y amilosa total	35
6.3. Análisis de Biodisponibilidad de los almidones.....	36
6.3.1 Almidón total	36
6.3.2 Almidón disponible	37
6.5. Propiedades funcionales a diferentes temperaturas	39
6.5.1. Índice de solubilidad en agua e índice de absorción de agua	39
6.6. Análisis morfológico	40
6.6.1. Microscopía óptica con luz polarizada.	40
6.7. Análisis fisicoquímico y molecular	41
6.7.1 Difracción de rayos-X	41
6.7.2. Calorimetría de barrido diferencial (CBD).....	41
6.7.3. Análisis rápido de viscosidad (ARV)	41
6.7.4. Análisis estadístico	42
VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	43
7.1 Análisis químico proximal.....	43

7.1.1 Digestibilidad In vitro.....	45
7.1.1 Difracción de rayos X.....	47
7.2 Análisis morfológico	50
7.2.1 Microscopía óptica con luz polarizada.	50
7.3 Propiedades térmicas	51
7.3.1 Gelatinización.....	51
7.3.2 Retrogradación	55
7.3.3 Análisis rápido de viscosidad (ARV)	56
VIII. CONCLUSIONES.....	59
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	60
ANEXO I.....	73
Determinación de amilosa aparente y amilosa total	73
ANEXO II.....	74
Determinación de almidón total	74
ANEXO III	75
Determinación de ARD, ADL y AR	75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del plátano (en 100 g de pulpa)	4
Tabla 2. Tipos de AR presentes en los alimentos.	14
Tabla 3. Análisis proximal de los almidones de plátano roatán nativo y modificado.	43
Tabla 4. Análisis proximal del almidón de plátano variedad macho nativo y modificado. .	44
Tabla 5. Digestibilidad del almidón nativo y modificado de plátano.....	46
Tabla 6. Propiedades de gelatinización de almidón nativo y modificado de plátano.....	52
Tabla 7. Propiedades de retrogradación del almidón nativo y modificado de plátano después de 7 días de almacenamiento a 4°C	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de la molécula de amilosa (Parker & Ring, 2001).....	7
Figura 2. Estructura química de la molécula de amilopectina (International starch institute, 1999).....	8
Figura 3. Patrones de difracción de rayos X para diferentes almidones (Hizukuri, 1986)...	10
Figura 4. Modificaciones Químicas en almidones	19
Figura 5. Reacciones del almidón con POCl_3 . a) Transformación del tricloruro de fósforo a di cloruro de fósforo y b) transformación del dicloruro de fósforo a dialmidón fosfato. (Liu, 2005)	21
Figura 6. Reacción del STMP con el almidón. (Sang <i>et al.</i> , 2007).	22
Figura 7. Transformación del trifosfato mono almidón a mono y di almidón fosfato. (Sang <i>et al.</i> , 2007).....	23
Figura 8. Eliminación del grupo γ fosforil, para formar mono almidón di fosfato. (Sang <i>et al.</i> , 2007).....	23
Figura 9. Reacción de la epiclorhidrina con el almidón (Jyothi <i>et al.</i> , 2006).....	24
Figura 10. Formación de mono y di almidón glicerol. (Jyothi <i>et al.</i> , 2006.	24
Figura 11. Diagrama experimental	31
Figura 12. Patrones de difracción de rayos X del almidón de plátano macho nativo y modificado.	48
Figura 13. Patrones de difracción de rayos X del almidón nativo y modificado de plátano roatán.	49
Figura 14. Microfotografías de los almidones de plátano macho: (a) nativo , (b) modificado con STMP, (c) modificado con EPI.....	50
Figura 15. Microfotografías de los almidones de plátano roatán: (a) nativo, (b) modificado con STMP, (c) modificado con EPI.....	51
Figura 16. Gelatinización de los almidones de plátano roatán.	53
Figura 17. Gelatinización de los almidones de plátano macho.	54
Figura 18. ARV de los almidones de plátano roatán	56
Figura 19. ARV de los almidones de plátano macho	57
Figura 20. Curva patrón de amilosa de papa	73

Figura 21. Curva patrón de glucosa.....	74
Figura 22. Curva patrón de glucosa.....	75

I. INTRODUCCIÓN

Los carbohidratos son el componente mayoritario de la dieta humana a los cuales se les atribuye una función principalmente energética. Dentro de ellos se encuentra el almidón. Dada las nuevas tendencias de alimentación y la demanda de los consumidores, actualmente se están desarrollando nuevas líneas de productos especiales por sus efectos sobre la salud que proporcionan un concepto de vida más integral y confortable. Se busca principalmente modificar formulaciones con ingredientes mejorados y crear con ellos opciones alimenticias para los consumidores. A estos productos se les denomina productos nutracéuticos o funcionales. A partir de esto, varios autores han trabajado en desarrollar productos funcionales a partir del almidón. Entre ello, disminuir la digestibilidad del almidón, lo que significa, aumentar la cantidad de almidón resistente (AR) (Aparicio-Saguilán *et al.*, 2007; Mutungi *et al.*, 2009). El AR es definido fisiológicamente, como la suma del almidón y los productos de la degradación del almidón que no son absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos (Asp & Björck 1992). El AR no digerido y absorbido en el intestino delgado llega al colon, donde es usado como sustrato para la fermentación por las bacterias intestinales, convirtiéndolo en ácidos grasos de cadena corta, principalmente ácido acético, propiónico y butírico, a los cuales se les atribuyen efectos benéficos sobre la salud del individuo, previniendo de enfermedades como el cáncer de colon y cardiovasculares. Además, pueden regular la absorción y secreción de agua y de iones a nivel del epitelio intestinal.

Debido a los beneficios fisiológicos que el AR puede causar, este ha llamado la atención en los últimos años. El AR podría ser obtenido a partir de almidones nativos usando métodos de modificación física como el autoclave (González-Soto *et al.*, 2004) y extrusión (Hasjim & Jay-Lin, 2009), así como modificación enzimática (Polesi & Silveira-Sarmiento, 2011) y modificación química (Woo & Seib, 2002; Aparicio-Saguilán *et al.*, 2008). Dentro de los métodos químicos más usados para modificar la estructura de almidón y generar estructuras que resistan el ataque enzimático está el entrecruzamiento. El entrecruzamiento del almidón es practicado industrialmente para estabilizar la estructura granular y para restringir el hinchamiento. Sin embargo, el nivel de entrecruzamiento de los almidones usados como

espesantes en los alimentos es muy bajo como para que este tipo de almidón sea resistente al ataque de la enzima α -amilasa (Wurzburg & Vogel 1984; Ostergard *et al.*, 1988). El incremento en el grado de entrecruzamiento de los gránulos de almidón podría evitar la entrada de la α -amilasa (Colonna *et al.*, 1992).

Debido a la importancia y beneficios que aporta el AR, este trabajo tiene como objetivo realizar modificaciones químicas sobre el almidón nativo de dos variedades de plátano y determinar su contenido de AR, así como sus propiedades fisicoquímicas.

II. ANTECEDENTES

2.1. Plátano

El plátano es una planta de gran talla que se cultiva en las regiones bajas y húmedas de los países con climas tropicales (Ruiz *et al.*, 1985). Se designan un número de especies del género *Musa* de la familia *Musáceae*. El plátano macho pertenece a la especie *Musa paradisiaca*, mientras que el plátano roatán es comprendido dentro de la especie *Musa sapientum*. Las principales diferencias entre estas especies radica en el tamaño y la composición química al momento de alcanzar la etapa de maduración, las enzimas del plátano roatán hidrolizan las cadenas de almidón para llevar a cabo la formación de glucosa, dando como resultado una mayor sensación de dulzor comparado con el plátano macho. Este último presenta un tamaño que comprende entre los 30 y 45 cm de longitud, tiene mayor contenido de almidón y menor contenido de azúcares (Zamudio-Flores, 2005).

El plátano es la fruta tropical de mayor dinamismo en el mercado internacional. Nuestro país se ha caracterizado por ser exportador de plátano, dirigiendo su producto principal a los Estados Unidos, satisfaciendo así su demanda. A pesar de que este fruto se cultiva en varios estados del sur de México, se destacan los estados de Tabasco, Chiapas, Veracruz y Oaxaca por sus volúmenes de producción. Siendo los estados de Veracruz, Tabasco y Oaxaca los mayores productores, con 6,379, 5,599 y 3,855 de hectáreas plantadas respectivamente en lo que al plátano macho se refiere. En el estado de Oaxaca se produce principalmente en las regiones de la costa y del Papaloapan. La superficie sembrada de plátano en México es de 70,226,000 hectáreas y la producción anual es aproximadamente de 2,121,600 toneladas. El estado de Oaxaca aporta cerca de 46,900 toneladas con una superficie sembrada estimada para el estado de Oaxaca es de 325,300 hectáreas. Es por ello que la producción de plátano es una de las actividades con mayor auge en el estado de Oaxaca. Sin embargo, cada año se tienen altas pérdidas del fruto por desastres naturales, plagas o malas técnicas de cultivo. (Plan rector sistema producto plátano del estado de Oaxaca, 2012).

Entendiendo este aspecto, existe la posibilidad de aprovechar los frutos que no se alcanzan a comercializar para la obtención de almidón. Esto generaría una fuente alternativa de ingreso para los productores.

2.3. Composición química del plátano

La composición química del plátano se muestra en la Tabla 1, que va a depender del estado de maduración en el que se encuentre. En estado verde o inmaduro, el plátano presenta un contenido de mayores concentraciones de almidón con respecto al maduro. Este fruto alcanza aproximadamente un contenido energético de 4 kcal/g (Tobin & Muller, 1998; Chavez *et al.*, 1992).

Tabla 1. Composición química del plátano (en 100 g de pulpa)

Nutrientes	Cantidad
Energía (calorías)	110
Humedad (g)	69
Proteína (g)	1.4
Grasa (g)	0.2
Carbohidratos totales (g)	28.7
Fibra (g)	0.7
Ceniza (g)	0.9
Ca (mg)	8
P (mg)	17
Fe (mg)	0.8
Vitamina A (mg)	45

Fuente: INCAP (2006).

Uno de los principales carbohidratos que constituye al plátano verde es el almidón (Bello-Perez *et al.*, 2000a). En el plátano, los gránulos de almidón se encuentran en el interior de las células que constituyen la pulpa, las cuales se ubican principalmente en la parte central y a todo lo largo del fruto. Estas células se unen con otras por medio de sustancias pécticas, polímeros que las rodean proporcionándoles rigidez y textura; por consiguiente, los gránulos de almidón se encuentran rodeados o atrapados por estos polímeros, lo cual

dificulta su extracción (Bonilla & Morúa., 2001).

El plátano está compuesto por una gran cantidad de nutrimentos, contiene una pequeña cantidad de aceite, el cual no sufre cambio alguno durante la maduración. Es una fuente de calcio y hierro, además de ser rico en potasio, sodio, magnesio y fósforo. Inclusive la cáscara es una fuente potencial de pectina (Bello-Perez *et al.*, 2002).

2.4. Generalidades del almidón

El almidón es el principal carbohidrato de reserva de la mayoría de los productos agrícolas y probablemente es el segundo carbohidrato más abundante en la naturaleza después de la celulosa. Este polisacárido representa una fracción importante en un gran número de productos agrícolas, como los cereales (maíz, trigo, arroz) cuyo contenido de almidón varía del 30 al 80%, leguminosas (frijol, chícharo, haba) con un 25 a 50% de almidón, tubérculos (papa, yuca) en los que el almidón representa entre un 60 a 90%, y en algunas frutas como el plátano y el mango, que en su estado verde o inmaduro alcanzan contenidos de almidón de hasta 70% en base seca (Bello-Pérez *et al.*, 1999). El almidón es utilizado en diversos alimentos para modificar la textura y la consistencia de los alimentos, como sustituto de grasa, como agente aglutinante o espesante en productos tales como mayonesas, salsas cátsup, yogurts, etc. Se ha observado que no sólo la cantidad de almidón es importante para la textura de los alimentos, sino también el tipo de almidón, ya que la composición y propiedades del almidón varían con la fuente del que se deriva (Biliaderis, 1991). El almidón es insoluble en agua y denso, por ello el 55% del almidón comercializado está destinado al sector alimenticio, ya bien sea como almidón nativo, modificado o sus derivados. (Röper, 1996).

El almidón está organizado en partículas discretas conocidas como gránulos, cuya morfología y composición química son características de cada especie. La variación de tamaño en los gránulos de almidón va de 0.5 a 100 μm . Los gránulos más grandes están presentes en la papa (15 a 100 μm) (Lineback, 1984), y los más pequeños en las especies de amaranto (0.8 a 2.5 μm) (Paredes-López, *et al.*, 1994). El tamaño de partícula, incluyendo la distribución de tamaño, es una de las características que más afectan las propiedades

funcionales de los gránulos de almidón. Químicamente, el almidón consiste de dos polímeros de diferente estructura, amilosa y amilopectina. La proporción de estos dos polímeros y su organización física dentro de la estructura granular le confieren propiedades fisicoquímicas y funcionales características a los diferentes almidones (Biliaderis & Zawistowski, 1990). La amilosa es una cadena lineal con enlaces glucosídicos $\alpha(1-4)$ y la amilopectina además de tener este tipo de enlace presenta enlaces $\alpha(1-6)$ en los puntos de ramificación entre las moléculas de glucosa. (Kasemsuwan, *et al.*, 1994; Wang & White, 1994; Yoshimura, *et al.*, 1996).

2.4.1. Amilosa

La Figura 1 muestra la estructura de la amilosa, conformada por moléculas de glucosa unidas mediante enlaces glucosídicos $\alpha(1\rightarrow4)$. También presenta ramificaciones donde las cadenas de glucosa se unen por enlaces $\alpha(1\rightarrow6)$, sin embargo, tales ramificaciones son muy escasas y espaciadas, por tal razón, la amilosa es considerada una molécula lineal. Su peso molecular varía entre 150,000 a 1,000,000 Daltones dependiendo del origen biológico y la longitud de la cadena o grado de polimerización (GP), éste último fluctúa entre 500 a 6000 unidades de glucosa que pueden estar distribuidas en 1 a 20 cadenas (Hizukuri *et al.*, 1981). Por su contenido de amilosa, los almidones se pueden clasificar en diferentes grupos como son los almidones cerosos que tienen muy poca cantidad de amilosa, alrededor de 1-2 %, los convencionales que contienen entre 17-24 % de amilosa y los altos en amilosa que contienen 70 % o más de este polímero (Moore *et al.*, 1984).

Muchas de las propiedades de la amilosa pueden explicarse de acuerdo a su habilidad para adoptar diferentes estructuras moleculares. En soluciones acuosas neutras, la estructura normal de la amilosa es la de una espiral. De acuerdo a los modelos recientemente propuestos se han designado estructuras tipo A y estructuras tipo B para la amilosa, tomando como base la formación de una doble hélice enrollada hacia la izquierda cada 6 unidades y empaquetada paralela y antiparalelamente. En la estructura A esta doble hélice está empaquetada en una unidad monoclinica con 8 moléculas de agua y en la estructura tipo B las dobles hélices están empacadas en forma hexagonal más abierta, con 36 moléculas de agua por celda unitaria (~27 % de hidratación) el 50 % de agua está ligada

estrechamente a las cadenas y la otra mitad ligada a otras moléculas de agua (Perera *et al.*, 1999). La simetría es diferente en cada uno de los tipos, ya que la unidad repetitiva en la forma A es maltotriosa y en la forma B es la maltosa (Buleón *et al.*, 2002).

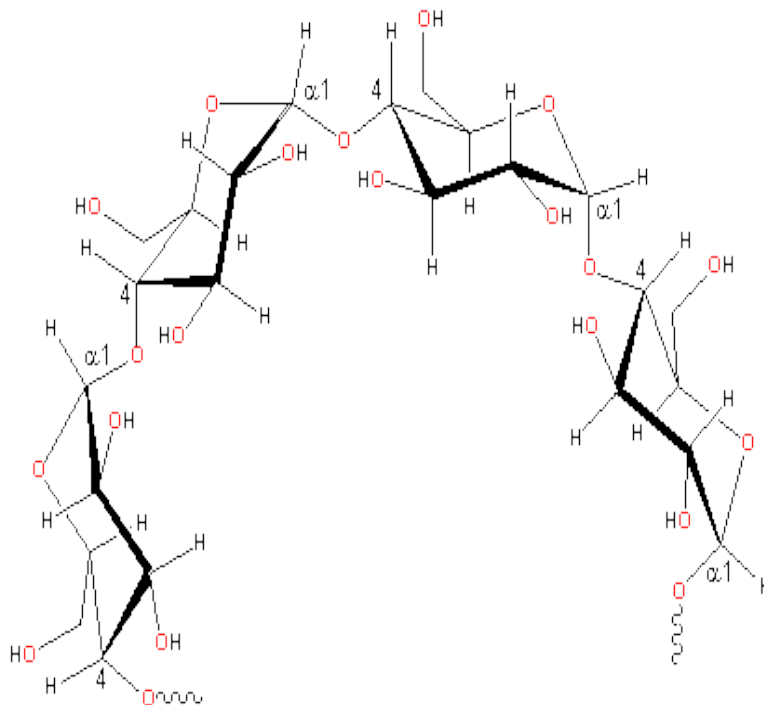


Figura 1. Estructura química de la molécula de amilosa (Parker & Ring, 2001).

2.4.2. Amilopectina

Es una molécula altamente ramificada (Figura 2), formada por glucosa, que además de estar unida por enlaces $\alpha(1 \rightarrow 4)$ que representan un 92-96%, están presentes enlaces $\alpha(1 \rightarrow 6)$ en los puntos de ramificación, los cuales representan entre un 5 a 6% de los enlaces glucosídicos (MacAllister, 1979). Dichas ramificaciones, se localizan aproximadamente cada 15-25 unidades de glucosa. En estado nativo presenta un peso molecular elevado, alcanzando los 2×10^6 hasta 2×10^8 Daltones y puede tener una distribución de tamaño molecular muy amplia (Wang & White, 1994). La distribución del peso molecular depende del origen botánico del almidón, de las condiciones del aislamiento.

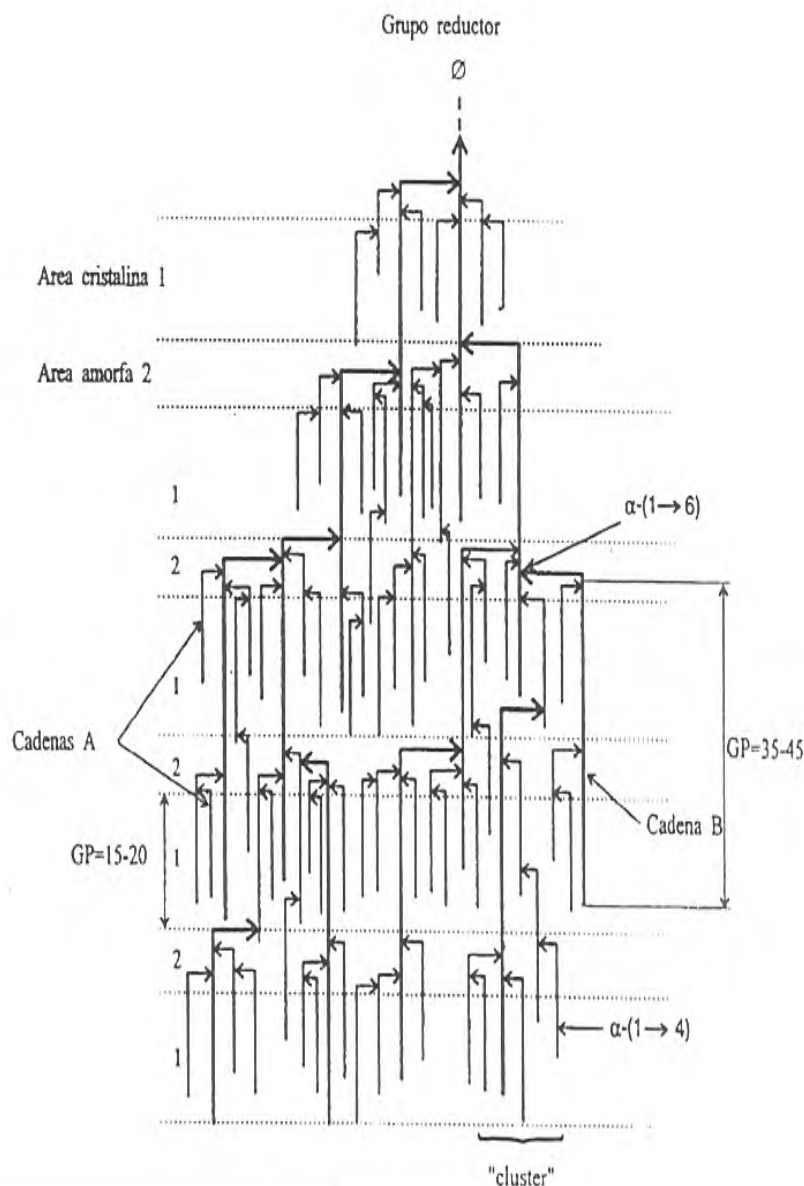


Figura 2. Estructura química de la molécula de amilopectina (International Starch Institute, 1999).

La molécula de amilopectina presenta tres tipos de cadena: 1) cadenas cortas con grados de polimerización de 14 a 18 unidades glucosídicas organizadas en una estructura en forma de racimo, 2) cadenas largas internas, y 3) una sola cadena de GP mayor de 60 que posee un extremo reductor (Eerlingen & Delcour, 1995). Hizukuri., 1986 reportó una distribución multimodal de las cadenas. (Robin *et al.*, 1974) propusieron un modelo para la amilopectina basado en la estructura de racimo o grupo (Cluster). Las cadenas A y B son lineales y

tienen un GP de 15–20 y 35–45, respectivamente. Las cadenas B forman la columna de la amilopectina y se extienden sobre dos o más racimos, cada racimo contiene de dos a cuatro cadenas A estrechamente asociadas (Figura 2). Los racimos asociados de cada cadena A son primeramente responsables de la región cristalina dentro del gránulo. Las áreas amorfas se presentan en intervalos de 0.6-0.7 nm y contienen la mayor cantidad de enlaces $\alpha(1\rightarrow6)$ siendo relativamente susceptibles al ataque enzimático y a la hidrólisis ácida. Dependiendo de la fuente, la amilopectina es el principal componente en la mayoría de los almidones (entre 70-80%), alcanzando en ciertos casos, niveles de hasta 98-99% en los almidones tipo cerosos. Debido a esto, la amilopectina es quizás el componente que tiene mayor importancia en términos de las propiedades del almidón.

2.4.3. Estructura del granulo de almidón

Los almidones nativos son estructuras semicristalinas. Este concepto general fue propuesto en los años 20s, y ha sido subsecuentemente extendido para describir los niveles de complejidad estructural del gránulo de almidón (Oates, 1997). La cristalinidad de almidones nativos cae en el intervalo de 15 a 45% (Zobel, 1988). El análisis por difracción de rayos X de almidones nativos produce dos tipos de patrones espectrales, el tipo A y el B, los cuales apuntan a dos tipos de estructuras cristalinas. Los almidones de cereales producen el patrón de tipo A, mientras que los tubérculos y los almidones ricos en amilosa producen el patrón de tipo B. Los almidones de leguminosas producen un patrón de tipo intermedio denominado C el cual es una mezcla entre el patrón A y el B, otro tipo de patrón es el V, y que es característico cuando se forma un complejo de inclusión ó clatrato en el interior de la hélice de la amilosa (Figura 3) (Imberty *et al.*, 1991). En el almidón de tipo A las cadenas están cristalizadas en un enrejado monoclinico con 12 unidades de glucopiranosas localizadas en dobles hélices enrolladas paralelamente a la izquierda y empaçadas en forma paralela, la doble hélice es muy compacta y no hay espacio para agua u otra molécula en el centro. Las cadenas en el almidón B están organizadas en dobles hélices, la estructura difiere en el empaque del cristal y el contenido de agua. La unidad de celda es hexagonal. Las dobles hélices están conectadas a través de una red de enlaces de hidrógeno que forman un canal en el interior del arreglo hexagonal de seis dobles hélices, este canal es llenado con moléculas de agua. (Imberty & Perez, 1988).

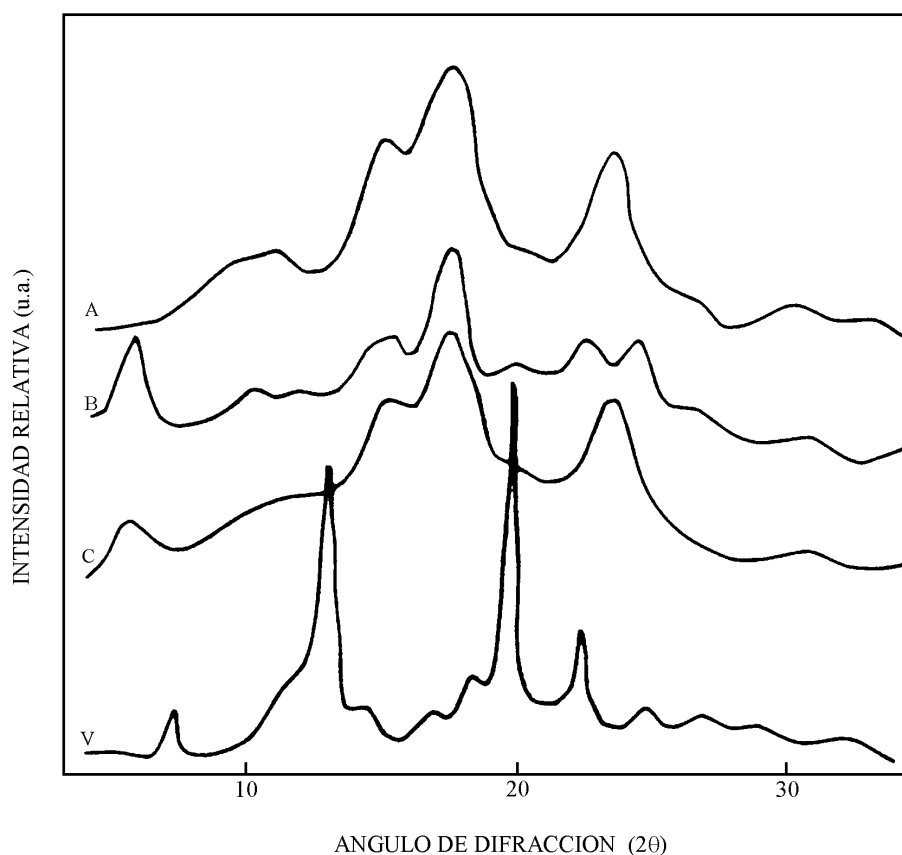


Figura 3. Patrones de difracción de rayos X para diferentes almidones (Hizukuri, 1986).

En general, los almidones con patrones de difracción del tipo B o C presentan mayor resistencia a la hidrólisis por amilasa pancreática y esto se debe al arreglo cristalino de las cadenas de la amilopectina. Esta resistencia afecta la digestibilidad de los alimentos ricos en almidón que se consumen crudos como los plátanos y de alimentos procesados como los biscuits donde el almidón esta gelatinizado de manera incompleta (Betancur, 2001).

2.5. Almidón de plátano

La mayoría de los estudios realizados en cuanto a caracterización química y molecular del almidón, se han enfocado en almidones de fuentes convencionales como el maíz, trigo y papa (Van Soest & Knooren., 1997). Sin embargo, algunos autores han optado también por la caracterización de almidones de fuentes no convencionales, tal como el almidón de plátano, con el fin de obtener posibles aplicaciones prácticas. Por ejemplo, Bello-Pérez *et al.* (2005) aislaron almidón de plátano macho (*Musa paradisiaca L.*), usando un

procedimiento a escala piloto y lo caracterizaron con técnicas de microscopia para visualizar su morfología, emplearon además técnicas como espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier y difracción de rayos X, esta última para determinar la cristalinidad del gránulo. Además, utilizaron la técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC) para determinar las transiciones de fase. De acuerdo a la información recabada con estos análisis, los autores consideraron que el almidón de plátano macho podría ser importante en algunas aplicaciones alimenticias, debido a que presenta una alta cristalinidad. Otros datos sobre almidón de plátano han sido también obtenidos. Por ejemplo, el contenido de almidón en pulpa de plátano expresado como rendimiento se encuentra entre 10 y 80% en base seca, de acuerdo a la variedad estudiada, al grado de maduración de la fruta y al método de extracción. Los gránulos de almidón nativo de plátano muestran ser resistentes a la hidrólisis enzimática. Se ha propuesto que esta resistencia a la digestión enzimática está influenciada por varios factores: la superficie lisa del gránulo, la presencia de restos de pared celular que pueden atrapar a los gránulos y el grado y tipo de cristalinidad. Englyst & Cummings (1986) determinaron que hasta un 78% del almidón de plátano crudo escapa a la digestión en el intestino delgado en los seres humanos. Moreno (2000) al evaluar la cinética de degradación enzimática (α -amilólisis) mediante la metodología descrita por Holm *et al.*, (1985) encontraron una baja capacidad de hidrólisis del almidón nativo de plátano.

2.6. Digestión del almidón

Los carbohidratos tienen gran relevancia nutricional por la importancia de la fibra en la salud y porque sus efectos en la digestibilidad. El almidón es el carbohidrato dominante en la dieta humana (Skrabanja *et al.*, 1999). Su digestibilidad es diferente dependiendo del producto alimenticio, es decir; que no todo el almidón se digiere, existe una fracción que resiste a la hidrólisis de las enzimas digestivas humanas. El almidón resistente (AR) continua su tránsito por el intestino delgado llegando hasta el intestino grueso, donde es utilizado como sustrato para las enzimas de la microflora normal del colon. La digestión del almidón en el organismo humano consiste en tres fases: 1) la intraluminal, 2) la fase de microvelocidades y 3) la de absorción de la glucosa. La fase intraluminal consiste en el inicio de la digestión del almidón en la cavidad oral mediante la acción de la α -amilasa

salival, la cual es secretada por las glándulas parótidas. A pesar de las condiciones ácidas que prevalecen en el jugo gástrico, las amilasas salivales retienen cierta actividad cuando pasan del estómago al duodeno. La contribución de la amilasa salival al total de la actividad amilolítica es de un 15 % en individuos sanos (Skude & Ihse, 1976). En especies monogástricas, la enzima principal en la digestión del almidón es la α -amilasa. Cuando se incuba con una dispersión de almidón actúa sobre la amilosa y amilopectina rompiendo los enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$ liberando glucosa, maltosa y dextrinas (polímeros de glucosa con GP 1-7) (Sievert *et al.*, 1991). En la segunda fase la glucosa es absorbida directamente a través de la mucosa intestinal del íleon, mientras que los disacáridos y oligosacáridos son atacados por las enzimas glucosidasas y disacaridasas. Estas enzimas están presentes en los bordes de las células y se producen por las glándulas de Liebert Kuhn del epitelio intestinal (Bjorck, 1996; Annison & Topping, 1994). Las enzimas rompen los enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$ y $\alpha(1\rightarrow6)$ de las cadenas α -glucosa, por consiguiente remueve sucesivamente las unidades de glucosa a partir del extremo no reductor. La última fase de la digestión tiene lugar a partir de la absorción de la glucosa a través de los enterocitos al torrente sanguíneo, la cual es entonces transportada al hígado y entra en la recirculación alcanzando el tejido periférico a través de la acción de la insulina. Esta hormona es secretada por el páncreas en respuesta al incremento de la glucosa en sangre. El incremento de la insulina plasmática puede actuar para regular el nivel de glucosa con un estrecho intervalo, estimulando la síntesis y almacenamiento de glucógeno en los músculos y en el hígado. Una reducción en la disponibilidad del almidón a las enzimas puede reducir la glucosa sanguínea posprandial y la respuesta insulinémica (Bjorck, 1996).

2.6.1. Almidón resistente

Anteriormente, el almidón había sido considerado como un carbohidrato digerido y absorbido en su totalidad en el intestino delgado. Sin embargo, estudios realizados recientemente dieron a conocer que un porcentaje del almidón contenido en los alimentos presenta dificultad para la digestión. A esta fracción se le denominó almidón resistente (AR). El almidón resistente es definido como la suma del almidón y sus productos de degradación que no son absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos (EURESTA, 1992). El AR no puede ser digerido por las enzimas digestivas presentes en el intestino

delgado y es por lo tanto fermentado por la microflora bacteriana produciendo ácidos grasos de cadena corta (ácido propionico, ácido butirico, ácido acético) ayudando principalmente a los problemas de colon. El AR influye en la reducción de la respuesta glucémica e insulinémica al alimento, tienen un efecto hipocolesterolémico, además de un efecto protector contra el cáncer colon-rectal (Cassidy *et al.*, 1994; Asp *et al.*, 1996).

La formación de almidón resistente se ve afectada por factores como son: el procesamiento, concentración del almidón, condiciones de almacenamiento, cantidad de lípidos presentes, origen botánica, relación amilosa-amilopectina, cadenas largas de amilosa, contenido de humedad, pH, temperatura y tiempo de almacenamiento, métodos de congelación, etc.(Langkilde *et al.*, 2007; Hoover & Zhon, 2003).

El contenido de AR en los alimentos, así como la velocidad y el nivel de digestión del almidón, tienen un efecto positivo en la salud. Varios factores tienen efecto en la velocidad y nivel de digestión del almidón; el tipo de procesamiento del alimento, el tiempo de almacenamiento y su origen botánico. El contenido de almidón resistente en un alimento depende del grado de procesamiento, el cual puede resultar en un incremento o decremento en su contenido con respecto a la forma cruda. Debido a esto el AR debe ser medido en los alimentos como estos normalmente son consumidos (Champ *et al.*, 2003; Englyst & Englyst, 2005).

Al consumir alimentos con plátano, la velocidad de digestión del almidón y la liberación de glucosa al torrente sanguíneo es lenta, lo cual causa una menor respuesta glucémica e insulinémica posprandiales en comparación con el almidón de cereales o tubérculos (Jenkins *et al.*, 1987; Tovar *et al.*, 1999). La baja digestibilidad del almidón de plátano se atribuye a que es una fuente importante de fibra dietética, definida como la parte comestible de las plantas o los carbohidratos resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado del hombre, con completa o parcial fermentación en el intestino grueso (AACC, 2000). Además, por el grado de integridad de esta fibra en las frutas verdes, representa una barrera física para una gelatinización completa del almidón, que aunada a ciertos factores antinutricionales como los inhibidores de la amilasa, impiden su hidrólisis enzimática (Würsch, 1999; Tovar *et al.*, 1999).

2.6.1.1. Clasificación del AR

El almidón resistente consta de fracciones que contribuyen al total del almidón indigestible en los alimentos. Actualmente se conocen cuatro tipos de AR (Lajolo & Wenzel, 2006). En la Tabla 2 se muestran los tipos de AR presentes en los alimentos, así como ejemplos donde se encuentran.

Tabla 2. Tipos de AR presentes en los alimentos.

Tipos de AR	Ejemplos
AR ₁ : Físicamente inaccesible	Granos y semillas parcialmente molidos
AR ₂ : Gránulos resistentes	Almidones de papa, plátano verde, algunas leguminosas
AR ₃ : Retrogradado	Papa cocida y enfriada, pan, hojuelas de maíz
AR ₄ : Químicamente modificado	Almidones eterificados, esterificados o entrecruzados (usados en alimentos procesados)

Fuente: Topping & Clifton, 2001.

El AR₁ se encuentra en granos y semillas parcialmente molidas. Leguminosas como frijoles o lentejas son las principales fuentes de este tipo de almidón, debido a que se encuentra atrapados dentro de la pared celular (Champ *et al.*, 2003).

El AR₂ corresponde a gránulos de almidón nativo de papa y plátano, los cuales presentan algunas fracciones no gelatinizadas de almidón, particularmente de aquellos almidones que muestran un patrón de difracción de rayos X tipo B, con un arreglo cristalino que lo hace menos accesible a la hidrólisis enzimática, provocando una disminución en su digestibilidad. (Champ *et al.*, 2003; Lehmann *et al.*, 2007).

El AR₃ está presente en la mayoría de los alimentos que se han cocido, enfriado y almacenado. Corresponde a fracciones de almidón retrogradado (almidón que ha recristalizado después de la gelatinización). Este tipo de almidón es producto de los cambios que han ocurrido en las moléculas de amilosa y amilopectina, como consecuencia de los procesos de calentamiento y enfriamiento de los alimentos (Champ *et al.*, 2003; Lajolo & Wenzel, 2006).

En el AR₄ la resistencia enzimática de éste tipo de almidón es causada por una modificación química al almidón nativo, como la esterificación y eterificación, así como también por la formación de almidones entrecruzados (Champ *et al.*, 2003; Sajilata *et al.*, 2006). También, la formación de enlaces glucosídicos diferentes en los enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$ ó $\alpha(1\rightarrow6)$ por tratamiento térmico reducen la disponibilidad para las enzimas amilolíticas.

2.6.2. Efectos fisiológicos del AR en la Salud

Existe una gran cantidad de beneficios sobre la salud que se han descubierto del AR. Los efectos fisiológicos de los carbohidratos indigeribles dependen de la interacción de las bacterias con los carbohidratos y con sus productos de fermentación. Se pueden observar efectos en la composición de la flora bacteriana y en su actividad enzimática, cambios en las condiciones ecológicas del intestino y repercusiones positivas y negativas en el huésped. La mayor parte de los efectos se relacionan directa o indirectamente con la producción de los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como butírico, acético y propiónico.

Los AGCC hacen disminuir el pH intestinal y ejercen un efecto vasodilatador local (Rombeau *et al.*, 1996), por lo que se incrementa la absorción de agua y sales en el intestino grueso (Lutz & Scharrer, 1991). La mayor reabsorción de agua protege de síntomas como la diarrea, lo cual es especialmente importante en individuos intolerantes a la lactosa, en los que se ha comprobado que una estimulación del proceso fermentativo mejora la sintomatología y además permite digerir en parte lactosa, gracias a la acción glucosídica de algunas enzimas bacterianas (Hertzler & Saviano, 1996; Jiang & Saviano, 1997). Por otro lado, a los carbohidratos fermentables se les atribuye un efecto protector en la evolución de las neoplasias colónicas. Este efecto puede ser consecuencia de la conjunción de varios mecanismos:

1. Efecto inhibidor del ácido butírico en el crecimiento de células tumorales de mamíferos (Scheppach *et al.*, 1992; Van Munster & Nagengast, 1993; MacIntyre *et al.*, 1993; Clausen, 1995).
2. Dilución del contenido intestinal debido a la producción de gases de fermentación y el aumento de la masa bacteriana. Con la dilución se disminuye la probabilidad de contacto

entre los agentes carcinógenos y las células epiteliales del intestino.

3. Menor producción de agentes carcinógenos. Cuando se estimula el crecimiento bacteriano se incrementan los requerimientos de nitrógeno de la microflora intestinal, por lo que disminuye la producción de amonio, el cual puede ser considerado como un agente de crecimiento de células neoplásicas. También, se disminuye la producción y eliminación de otros agentes co-carcinógenos, tales como compuestos fenólicos e indólicos (Cummings & Macfarlane, 1991).

4. El pH ácido inhibe la actividad de enzimas implicados en el metabolismo y eliminación de ácidos biliares secundarios y metabólicos de éstos, que son considerados como agentes promotores del crecimiento tumoral (Rémésy *et al.*, 1993)

2.7. Procesos de obtención de AR

Debido a la ya mencionada importancia atribuida al AR en la salud y en la prevención de ciertas enfermedades, diferentes grupos de investigación así como industrias se han dado a la tarea de desarrollar procesos que permitan la obtención de materiales ricos en AR, los cuales puedan ser adicionados como ingredientes en diversos productos alimenticios. Firmas industriales han desarrollado diversos productos que se encuentran disponibles comercialmente, tal es el caso de Novelose[®] de la empresa National Starch (EEUU). En general, los procesos que se están utilizando producen un polvo con alto contenido de AR, obtenido mediante la aplicación de múltiples ciclos de calentamiento en autoclave y enfriamiento a temperaturas alrededor de 4 °C (Würsch, 1999). También se utilizan desramificaciones previas del almidón para obtener cadenas polisacáridas más cortas, las cuales presenten mayor tendencia a la retrogradación y por lo tanto favorecer el desarrollo de un mayor contenido de AR. Sin embargo, en estos casos, el problema es controlar el grado de desramificación del almidón para obtener un producto final con el mayor contenido de AR, ya que hay evidencias que indican que cuando la longitud de la cadena es muy corta se retarda la reorganización de las moléculas poliméricas y por lo tanto la retrogradación del almidón resulta atenuada (Yuan *et al.*, 1993). Por otro lado, tratamientos hidrotérmicos, como la extrusión pueden también ser utilizados con el mismo propósito, con la ventaja de que con este tipo de técnica el proceso es continuo y podría ahorrar costo

de mano de obra, generando una mayor producción. Sin embargo, hasta el momento los contenidos de AR en los productos obtenidos mediante este proceso son menores a los obtenidos mediante autoclave. Aún así se continúan realizando esfuerzos para encontrar condiciones y fuentes de almidón que permitan obtener productos con mayores contenidos de AR (González-Soto *et al.*, 2004).

Además de las modificaciones físicas, como la ya citada extrusión, diversas modificaciones químicas del almidón pueden conllevar a cambios notables en el contenido de AR (Tovar *et al.*, 1999). Se ha reportado que cuando el almidón es sometido a modificaciones químicas como la litnerización y el entrecruzamiento se incrementa sustancialmente el contenido de AR (Shin *et al.*, 2003).

2.7.1. Modificación Química del almidón

La modificación química del almidón puede llevarse a cabo debido a la presencia de los tres grupos hidroxilos libres de cada unidad de glucosa. La finalidad de modificar al almidón es obtener cambios en sus propiedades tales como la viscosidad, solubilidad e hinchamiento, para poder tener mayor campo de aplicación en la industria. Dependiendo de la aplicación será el método utilizado para la modificación del almidón. En ocasiones se puede recurrir a la combinación de procesos para obtener características deseables del almidón (Light, 1990). Al realizar modificaciones químicas se tiene como objetivo primordial una sustitución de grupos funcionales o la formación de un nuevo enlace incorporando algún grupo funcional de tal forma que sea un sustrato no reconocido por las enzimas digestivas. Además de brindar nuevas características al almidón, tales como resistencia térmica, la cual es muy útil en la industria alimenticia.

Las características que se evalúan en los almidones modificados son principalmente aquellas que tienen relación con su comportamiento en medio acuoso a diferentes temperaturas, como son: solubilidad, hinchamiento, capacidad de retención de agua y temperatura de gelatinización (Perera *et al.*, 1997).

Light (1990) menciona que las razones por las cuales los almidones tienden a ser modificados son principalmente las siguientes: mejorar sus características de cocimiento,

disminuir la retrogradación, disminuir la tendencia a gelatinizar, mejorar las texturas de los geles, mejorar la formación de películas, mejorar las características de adhesión y mejorar sus propiedades estabilizantes como emulsificante.

2.7.1.1 Tipos de modificaciones químicas

Las modificaciones químicas del almidón más comunes son reducciones, entrecruzamiento y sustitución, como se muestra en la Figura 4. Son llevadas a cabo en presencia de un agente químico y en suspensiones almidón-agua, típicamente del 30 al 45% en peso de solido. Estas suspensiones generalmente son manejadas bajo condiciones de agitación constante, temperatura y pH controlado. Después de haberse completado la reacción, el almidón es puesto a un pH deseado con agentes neutralizantes después es lavado con agua en exceso y por último secado. En el caso de una modificación exitosa, el rendimiento es cercano al 70% o más. El grado de modificación química es generalmente expresado como el grado de sustitución (GS). Ejemplo; grupo acetato o fosfato que reacciona con los grupos hidroxilos de las unidades de D-glucopiranosil.

Los almidones modificados se utilizan generalmente en la fabricación de helados, panificación y pastelería, conservas y salsas espesas, en donde se aprovechan las características de adhesión, ligante, estabilización de emulsiones, gelificación, mantenimiento de humedad y capacidad espesante. Con la idea de mejorar las características de frescura y mayor tiempo de almacenamiento de los productos en los que son adicionados (Karaoglu *et al.*, 2001).

Las modificaciones más comunes en el almidón son realizadas con pequeñas cantidades de agentes químicos. Las modificaciones químicas en el almidón cambian su funcionalidad. Los cambios provocados por el proceso de modificación son debidos principalmente a enlaces sencillos y reacciones primarias asociadas con los grupos hidroxilos del polímero. Los agentes químicos utilizados para este tipo de modificaciones están debidamente regulados para uso en alimentos.

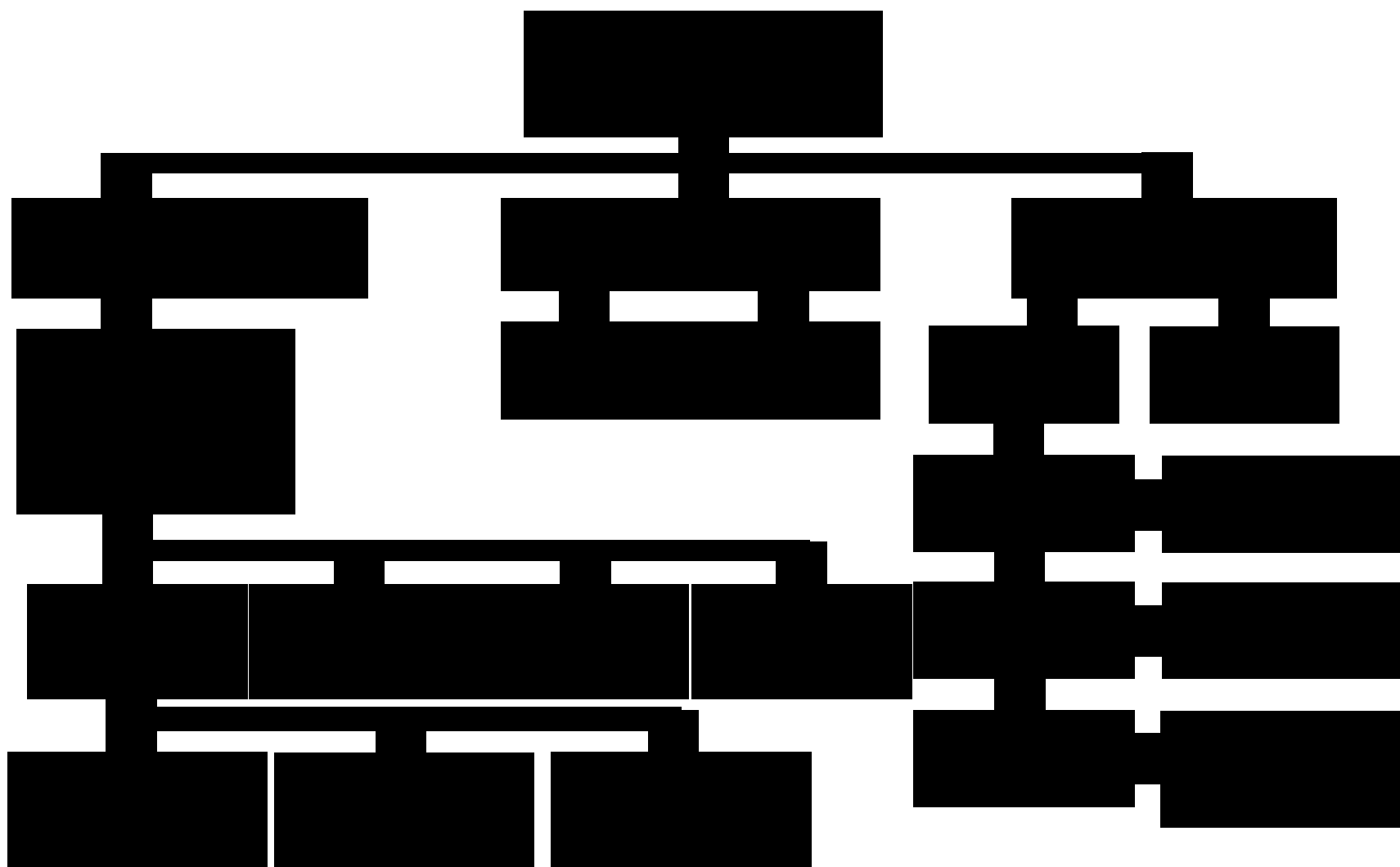


Figura 4. Modificaciones Químicas en almidones

2.7.1.2. Entrecruzamiento

Es uno de los métodos de modificación química más utilizado y consiste en la formación de puentes entre cadenas de glucosa que conforman al almidón, sustituyendo los grupos hidroxilos reactivos. Dependiendo del reactivo utilizado se obtiene distintos tipos de enlaces, por ejemplo si se utiliza trimetafosfato se produce el fosfato de dialmidón o si se utiliza la epiclorhidrina se obtiene el éter glicérico de dialmidón.

El entrecruzamiento realiza una modificación de almidón que es usada en bi o poli funcionales agentes químicos que están disponibles para la reacción, dos o más grupos hidroxilos diferentes en el mismo o diferente polímero. Los enlaces covalentes obtenidos por el entrecruzamiento actúan como lugares de unión para reforzar la estructura del granulo. Debido a estos cambios se puede obtener una mayor tolerancia a altas temperaturas, mayor soporte al esfuerzo cortante, a condiciones ácidas y además lo hace resistente a la digestión enzimática. Los agentes más utilizados para realizar el entrecruzamiento del almidón son el oxiclورو de fósforo, el trimetafosfato de sodio y el tripolifosfato de sodio utilizando además distintas condiciones de temperatura entre 25 a 50 °C y tiempos de reacción desde 30 min hasta 24 h.

2.7.1.2.1. Agentes entrecruzantes

Los principales agentes utilizados para realizar el entrecruzamiento de los almidones con grado alimenticio son: trimetafosfato de sodio (STMP), fosfato monosódico (SOP), tripolifosfato de sodio (STPP), epiclorhidrina (EPI), oxiclورو de fósforo (POCl_3), una mezcla de ácido adípico, anhídrido acético y cloruro de vinilo.

Oxicloruro de fósforo (POCl_3). Es un agente entrecruzante eficiente en dispersiones a un $\text{pH} > 11$ en presencia de una sal neutra. Cuando este reactivo se añade a la dispersión de almidón, la cual se encuentra en condiciones alcalinas (pH 8-12), el grupo fosfato hidrofílico reacciona con los OH del almidón formando di-almidón fosfato. La reacción se hace especialmente eficiente en presencia de sulfato de sodio y por encima de un pH de 11. Cuando el oxiclورو de fósforo se adiciona a la dispersión de almidón, el primer ion cloruro reacciona con el agua (con una vida media de 0.01s) y se forma di-cloruro de

fósforo (figura 5a), probablemente este compuesto sea el agente entrecruzante. Los dos cloruros restantes del di-cloruro de fósforo reaccionan con el agua casi simultáneamente con una vida media de cuatro minutos. El oxiclورو de fósforo debe ser adicionado a la dispersión de almidón tan rápido como sea posible para generar dicloruro de fósforo (Figura 5b), el cual reacciona con el gránulo para efectuar el entrecruzamiento (Liu, 2005).

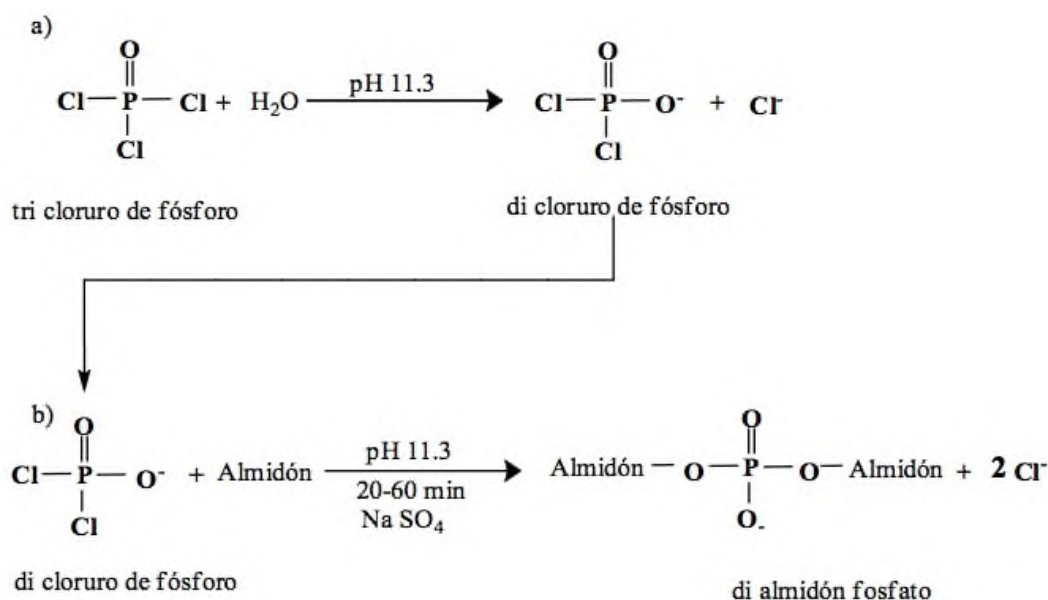


Figura 5. Reacciones del almidón con POCl_3 . a) Transformación del tricloruro de fósforo a di cloruro de fósforo y b) transformación del dicloruro de fósforo a dialmidón fosfato. (Liu, 2005)

Debido que la reacción del almidón con POCl_3 se lleva a cabo rápidamente puede darse en la superficie o cerca de los canales del gránulo, como en el caso del almidón de maíz. Este hecho permite la posibilidad de que en el gránulo de maíz se formen tres tipos de enlaces de entrecruzamiento: proteína-proteína, proteína-almidón o almidón-almidón (Han & Be-Miller, 2008).

Trimetafosfato de sodio (STMP). Este agente entrecruzante reacciona lentamente con el almidón para forma di-almidón fosfato. Sin embargo, se puede acelerar esta reacción incrementando el pH y la concentración del STMP.

Se ha reportado que el fenómeno de retrogradación se ve suprimido cuando existe entrecruzamiento en el almidón empleando una mezcla de Trimetafosfato de sodio y

tripolifosfato de sodio, la baja entalpía de retrogradación que se obtiene puede ser debida a la restricción de la movilidad de la amilopectina ocasionada por los enlaces entrecruzados debido a la presencia del grupo fosfato introducido (Singh *et al.*, 2007).

El STMP tiene una estructura de anillo por lo cual necesita una reacción bimolecular que da como resultado la formación de almidón trifosfato (Hirsch & Kokini, 2002). Sang *et al.*, (2007) propusieron una ruta de la reacción del almidón con STMP en una solución acuosa de hidróxido de sodio a un pH entre 9.5 - 12.5 (Figura 6)

En el primer paso se abre el anillo del STMP por efecto de un ataque del ion alcoholato de un almidón en el STMP para formar el compuesto intermediario tripolifosfato mono almidón.

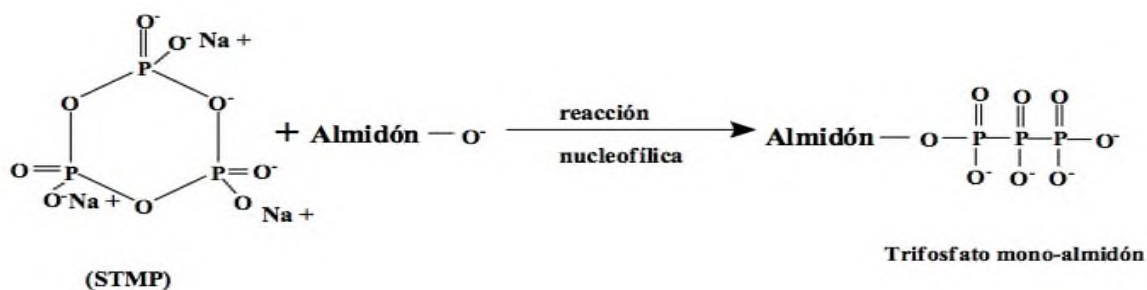


Figura 6. Reacción del STMP con el almidón. (Sang *et al.*, 2007).

En un pH alcalino los cuatro hidrógenos ionizables en el trifosfato mono-almidón intermediario podrían ser cargados negativamente. Los tres grupos fosforil a lo largo de la cadena trifosforil tienen un ácido OH fuertemente ionizable con un $pK \sim 3$, mientras que los grupos γ tienen uno débilmente ionizado a un $pK \sim 8-9$. Aparentemente, los pirofosfatos en el compuesto intermediario ionizado, son más fáciles de separar que los grupos ortofosfatos cuando el ion hidróxido o el ion alcoholato-almidón atacan al producto intermediario trifosfato mono-almidón bajo un pH de 11.5-12.5. El ataque del ion RO^- u OH^- en el α -fósforo del grupo trifosfato es más eficaz que en cualquiera de los átomos de fósforo, β o γ y como consecuencia solo se puede formar dialmidón monofosfato (DAMF) y monoalmidón monofosfato (MAMF) (Figura 7).

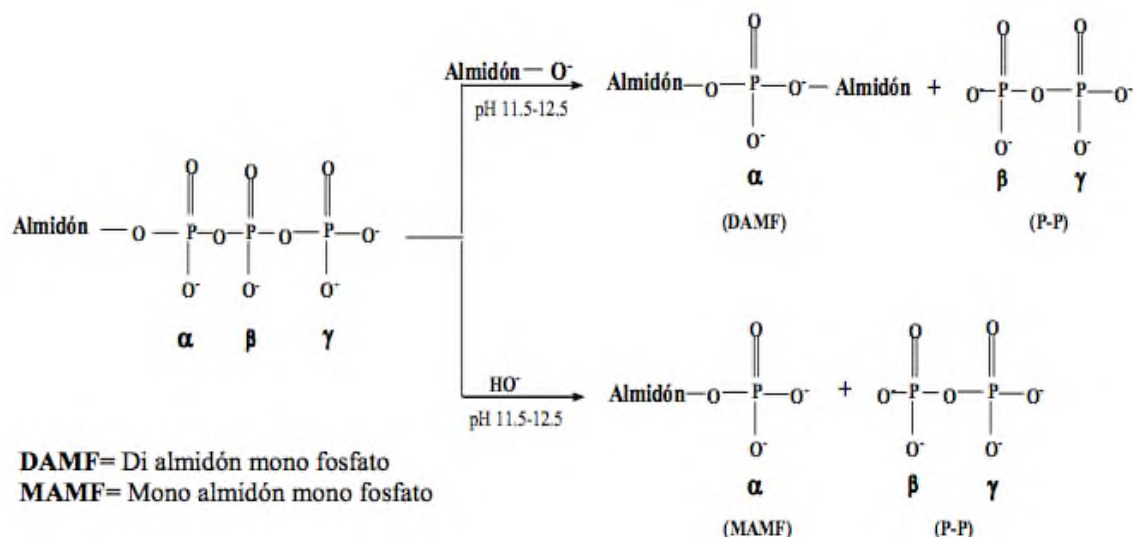


Figura 7. Transformación del trifosfato mono almidón a mono y di almidón fosfato. (Sang *et al.*, 2007).

Este mecanismo explica por qué el monoalmidón monofosfato (MAMF) no se forma cuando el almidón se fosforila a pH de 12.5. Sin embargo, a un pH de 10.5 la concentración de alcoholato almidón se reduce aproximadamente a un 90 %, entonces la reacción de RO con el almidón trifosfato intermediario es lenta. Asimismo, el almidón tripolifosfato reacciona lentamente por un mecanismo de competición. Al parecer el grupo γ -fosforil se pierde por el mecanismo de eliminación el cual es una reacción unimolecular (Figura 8).

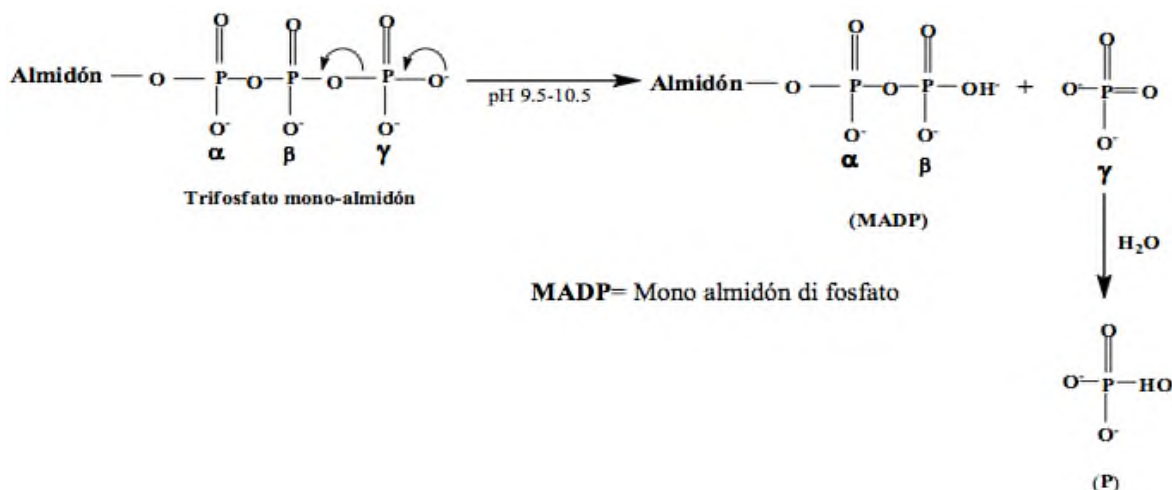
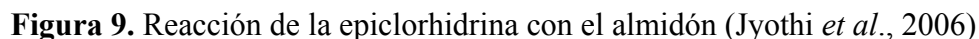
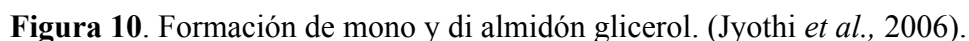


Figura 8. Eliminación del grupo γ fosforil, para formar mono almidón di fosfato. (Sang *et al.*, 2007)

Epiclorhidrina. Es un oxirano derivado del 3-cloro-1 propeno (1-cloro-2,3-epoxipropano).

$$\text{Almidón } ^-\text{OH} + \text{NaOH} \longrightarrow \text{Almidón } ^-\text{O Na}^+ + \text{H}_2\text{O}$$

$$\text{Almidón-O-Na}^+ + \text{CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-O-Almidón} \longrightarrow \text{Almidón-O-CH}_2\text{-CH(OH)-CH}_2\text{-O-Almidón}$$

almidón 2,3-epoxipropano di almidón glicerol a)



24

En reacciones bajo condiciones heterogéneas en las cuales puede existir una alta relación almidón-epiclorhidrina, el principal producto formado es el di almidón glicerol (Figura 10a). Sin embargo, bajo condiciones homogéneas se observa que el compuesto intermediario que se forma por la unión del sodio con el almidón puede sufrir una reacción de sustitución abriendo el anillo del epóxido por efecto del -OH para formar el mono almidón-glicerol (Figura 10b).

2.7.2. Estudios realizados sobre almidón de plátano químicamente modificado.

Se han realizado varias investigaciones sobre la modificación química de almidón de plátano, con el fin mejorar su funcionalidad, incorporando agentes entrecruzantes. Algunos estudios sobre la modificación química del almidón son descritos a continuación.

Woo & Seib (2002) prepararon AR por fosforilación a partir de almidón de trigo usando mezclas de un agente químico como trimetáfosfato de sodio con tripolifosfato de sodio (STMP/STPP) en proporciones de 1:99 a 99:1, encontrando que al incrementar la proporción de trimetáfosfato de sodio éste presenta una mejor fosforilación del almidón hasta un 0.32% de fósforo y el contenido de AR también incrementa hasta 75.6%. Por lo tanto, ellos concluyeron que el trimetáfosfato de sodio presenta una mejor fosforilación del almidón que el tripolifosfato de sodio, incrementando la resistencia a la digestión enzimática.

Carmona-García et al., (2009) entrecizaron el almidón de plátano (*Musa paradisiaca L.*), evaluando el efecto de los reactivos entrecruzantes POCl_3 , EPI y una mezcla de STPM/STPP sobre las características morfológicas, fisicoquímicas y funcionales del almidón modificado. Como resultado, el entrecruzamiento modificó la composición química del almidón. El entrecruzamiento con STMP/STPP y EPI mostró un mayor efecto sobre el gránulo del almidón de plátano y una distribución bimodal con un pequeño pico detectado hasta 140 μm . Los valores de hinchamiento y solubilidad fueron afectados por el entrecruzamiento, mostrando valores bajos de estos parámetros con STMP/STPP y EPI.

Rodríguez-Marín et al., (2010), entrecizaron almidón de plátano macho (*Musa paradisiaca L.*) empleando tres agentes entrecruzantes POCl_3 STMP y EPI bajo

condiciones alcalinas. Los almidones obtenidos mostraron perfiles de viscosidad similares. La morfología del gránulo revelada por microscopía electrónica de barrido (MEB) mostró que los almidones modificados no presentaron ningún daño en su superficie por efecto de la reacción de entrecruzamiento. En las fotomicrografías obtenidas por microscopía de luz polarizada los gránulos mostraron diversas formas y tamaños. La temperatura y entalpía de gelatinización de los almidones entrecruzados disminuyeron en el orden: AMPP > AMPS > AMPE, esto es atribuido a los diferentes mecanismos de reacción de los diferentes agentes. Los parámetros térmicos de retrogradación mostraron que los grupos introducidos de los diversos agentes entrecruzantes en las moléculas de almidón promovieron la reasociación de las cadenas de las moléculas de amilopectina. En general, en las fracciones obtenidas por cromatografía los almidones entrecruzados mostraron una disminución de la fracción I correspondiente a la amilosa, lo cual es atribuido a la despolimerización de este polímero. En el análisis reológico, se encontró que el comportamiento de flujo de las pastas de los almidones modificados al 5 % presentaron un comportamiento Newtoniano, pero cuando se incrementó la concentración (10 %) los almidones modificados mostraron un comportamiento no Newtoniano y de carácter reofluidificante, en ambas concentraciones la deformación de las pastas fue independiente del tiempo de cizallamiento, esto sugirió que la fase continua tiene un efecto decisivo en la consistencia de las pastas. En las pruebas dinámicas se encontró que los geles formados por los almidones entrecruzados son menos rígidos que el del almidón nativo debido a que el entrecruzamiento restringió parcialmente la solubilidad del gránulo y esto afectó la gelificación.

Carlos-Amaya *et al.*, (2011) realizaron una modificación química dual al almidón de plátano, y evaluaron sus propiedades fisicoquímicas, moleculares y de digestibilidad. Se realizó la modificación de entrecruzamiento con epíclorohidrina y esterificación con anhídrido octenil succínico. Se alternó el orden de los procedimientos aplicando primero el entrecruzamiento seguido de la esterificación (entrecruzado-esterificado) y viceversa (esterificado-entrecruzado). A las muestras se les determinó el contenido de almidón total (AT), el grado de sustitución (GS), difracción de rayos x (Rx), porcentaje de cristalinidad (%C), las fracciones de ADR, ADL y AR, temperaturas de gelatinización (Tp) y de retrogradación (TpR) y entalpías de gelatinización (ΔH) y de retrogradación (ΔHR), y

análisis de formación de pastas. En el contenido de AT no se presentaron diferencias estadísticas entre las muestras. El GS de las muestras osciló entre 0.006 y 0.020. Todas las muestras presentaron un Rx tipo A. Sin embargo, el %C aumentó en las muestras modificadas (28.47-32.76 %) en comparación con el almidón nativo (23.79%). Los almidones modificados sin gelatinizar tuvieron un bajo contenido de ADR (4-23-9.19%), el ADL incrementó (11.63-16.79%) y el AR fue alto en todas las muestras (74.01-85.07%). En las muestras gelatinizadas, el almidón esterificado incrementó el contenido de ADL, seguido del entrecruzado. Los almidones doblemente modificados disminuyeron el contenido de ADL, pero tuvieron un contenido alto de AR. La Tp y ΔH de gelatinización disminuyó en los almidones modificados, en comparación con su contraparte nativa. El almidón entrecruzado-esterificado mostró la ΔH mas baja. La temperatura de retrogradación disminuyó en los almidones modificados comparados con el nativo, pero no se encontraron diferencias estadísticas entre los almidones modificados. En cuanto al análisis de formación de pastas de las muestras esterificada y entrecruzada-esterificada tuvieron un pico de viscosidad más alto que las entrecruzada y esterificada-entrecruzada, esta característica es debido a que durante la doble modificación, los grupos funcionales introducidos en la primera modificación fueron reemplazados por los grupos de la segunda modificación. Las modificaciones químicas alteraron el orden estructural del almidón de plátano cambiando las propiedades de digestibilidad y en consecuencia sus características fisicoquímicas.

III. JUSTIFICACIÓN

Conociendo los beneficios que tiene el almidón resistente (AR) sobre la salud humana, es importante continuar en la búsqueda de métodos o condiciones de obtención que permitan disminuir la digestibilidad del almidón y con ello aumentar la proporción de AR. La modificación química del almidón es todavía una propuesta viable para obtener una alta proporción de AR y como consecuencia incrementar la variedad de usos en productos alimenticios, a través de la generación de productos con propiedades nutracéuticas.

Por otro lado, debido a la ubicación geográfica de la región (Tuxtepec, Oaxaca), el plátano representa una fuente alternativa para la obtención de almidón, ya que el fruto en estado verde puede llegar a presentar entre un 70-85% de almidón en base seca.

Por tal motivo, debido a los efectos positivos que puede proporcionar el AR en la salud y la posibilidad de usar tratamientos tecnológicos para incrementar la cantidad de esta fracción, aunado a la posibilidad de usar plátano como fuente alternativa de almidón, generando con ello un valor agregado al fruto de la región, el presente trabajo muestra los resultados de investigación de la obtención de AR obtenido a través de la modificación química de almidón de plátano utilizando dos agentes modificantes (trimetafosfato y epiclorhidrina) usando un proceso sencillo y de bajo costo, con la intención final de que los productos puedan ser utilizados como ingredientes en la elaboración de productos alimenticios.

IV. HIPÓTESIS

El proceso de modificación química mediante entrecruzamiento permitirá la formación de nuevos enlaces entrecruzados, que proporcionaran estabilidad térmica y resistencia a la digestión enzimática, generando así una alta fracción de almidón resistente de plátano.

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Obtener almidón resistente a partir de la modificación química (entrecruzamiento) del almidón de plátano y evaluar sus propiedades fisicoquímicas, térmicas, estructurales y morfológicas.

5.2. Objetivos Específicos

1. Llevar a cabo el aislamiento del almidón de plátano de dos variedades (Macho y Roatán).
2. Modificar químicamente el almidón nativo de plátano de las dos variedades mediante entrecruzamiento utilizando dos agentes químicas (trimetafosfato de sodio y epiclorhidrina).
3. Realizar la caracterización fisicoquímica de los almidones modificados.
4. Evaluar la digestibilidad de los almidones modificados mediante Almidón Total, Almidón de Rápida Digestión, Almidón de Lenta Digestión y Digestibilidad *in vitro*.
5. Evaluar el comportamiento térmico de los almidones modificados mediante calorimetría diferencial de barrido (CDB).
6. Caracterizar morfológica y estructuralmente los almidones modificados mediante microscopia óptica con luz polarizada y difracción de rayos-X (DRX).
7. Evaluar la viscosidad de las pastas de los almidones modificados.

VI. PARTE EXPERIMENTAL

El diagrama mostrado en la Figura 11 indica el trabajo experimental llevado a cabo, desde la obtención de almidón de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) y plátano roatán (*Musa sapientum* L.) en estado fisiológico inmaduro hasta la caracterización de los productos modificados.

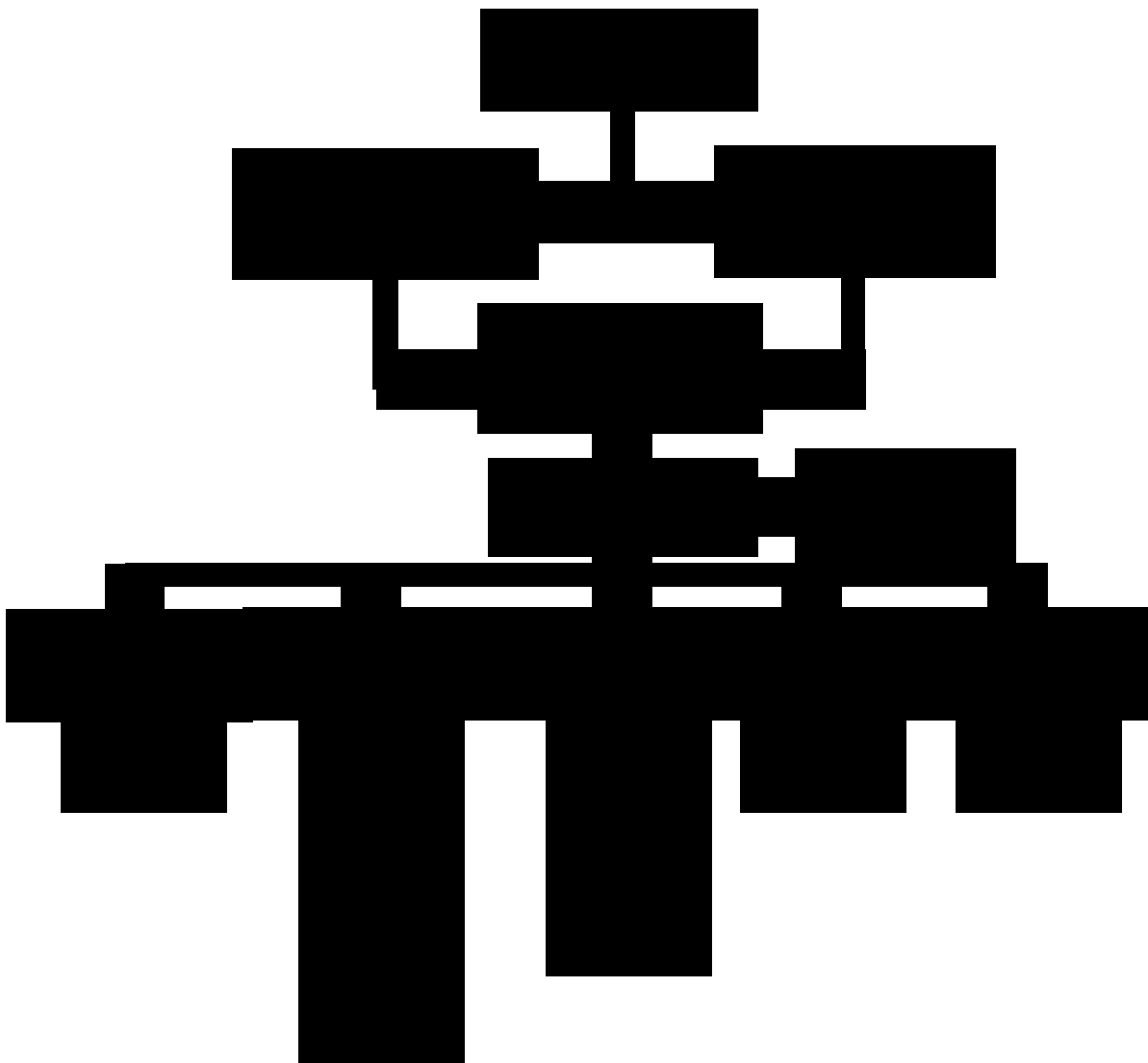


Figura 11. Diagrama del desarrollo experimental

Como se muestra en el diagrama, primero se obtuvo el almidón aislándolo de dos variedades de plátano (macho y roatán), posteriormente se realizaron modificaciones químicas con dos agentes (trimetafosfato de sodio y epíclorohidrina) para así obtener dos

almidones entrecruzados por cada variedad uno con cada agente. Después se le realizó el análisis químico proximal, así como la caracterización fisicoquímica, térmica, morfológica estructural y de biodisponibilidad que son explicadas ampliamente más adelante.

6.1 Materiales

6.1.1 Materia prima

Se utilizaron plátanos de la variedad Macho (*Musa paradisiaca*) y Roatán (*Musa sapientum*) en estado fisiológico inmaduro con aspecto de color verde, los cuales fueron adquiridos en la finca Nuevo Mundo de la ciudad de Tuxtepec, Oaxaca, México.

6.2 Métodos

6.2.1 Aislamiento del Almidón

Para la obtención del almidón a partir de plátano de las dos variedades se siguió la metodología propuesta por Flores-Gorosquieta *et al.* (2004) con algunas modificaciones. Se trabajó con lotes de 50 kg, se eliminó la cáscara y se molió en una licuadora tipo industrial marca Waring (Laboratory), modelo CB15, con 4 L de capacidad en lotes de 0.6 partes de fruto (3.6 kg) con 1 parte (6 L) de solución de ácido cítrico al 0.3 % (p/v), para evitar la oxidación del fruto. La mezcla fue pasada por una tamizadora digital marca RETSCH, modelo AS200 y utilizando mallas No. 40 (0.425 mm), 100 (0.15 mm), 200 (0.075 mm) y 270 (0.053 mm) (Fisher Scientific Company). En cada malla, el residuo se lavó con agua hasta que el líquido de salida aparentemente no contuviera residuos de almidón. El sobrenadante se dejó sedimentar por 8 h. Posteriormente, se decantó y el líquido fue desechado, dejando el sólido (almidón) contenido en el recipiente y se volvió a dejar sedimentar. Este proceso se realizó tres veces, posteriormente, el producto fue secado en una estufa. El polvo se recolectó, se pesó y se almacenó hasta su uso posterior.

A los almidones extraídos de las dos especies, se les realizó un análisis proximal empleando la metodología de la AOAC (1980) y de la AACC (1984) y se les determinó el contenido de almidón total (AT).

6.2.2. Modificación química

Entrecruzamiento

La modificación por entrecruzamiento realizada a los almidones nativos de plátano macho (*Musa paradisiaca*) y roatán (*Musa sapientum*) fue realizada por dos diferentes métodos, los cuales fueron ya reportados por Cooreman *et al.*, (1995) y Wu & Seib., (1990). El proceso de modificación se realizó por triplicado.

6.2.2.1 Entrecruzamiento con trimetafosfato de sodio (STMP)

En un matraz balón de tres cuellos (1000 mL), 50 g de almidón nativo (base seca) fueron suspendidos en 90 mL de una solución al 5% de NaCl bajo un pH de 10.5 ajustado con NaOH 1N. Inmediatamente, se adicionaron 0.2% de STMP. La mezcla se dejó en agitación durante 20 h a una velocidad de 250 rpm y con una temperatura de 40 °C. Una vez transcurrido el tiempo, la mezcla fue neutralizada, ajustándola a un pH de 6.5. La suspensión resultante fue centrifugada durante 15 min a 3000 xg y a una temperatura de 25 °C. Se realizaron 3 lavados con agua destilada. El sólido fue secado a 30 °C en una estufa durante 12 h.

6.2.2.2. Entrecruzamiento con Epiclorhidrina (EPI)

En un matraz de tres cuellos (1000 mL) 50 g de almidón nativo (base seca) fueron suspendidos en 90 mL de una solución de NaOH 0.082 M bajo un pH de 12.4. Inmediatamente después se adicionaron 0.05 % de epiclorhidrina y 90 mL de agua destilada para obtener una mezcla con 35% base de almidón. La dispersión se agitó a temperatura ambiente durante 48 h y a una velocidad de 250 rpm, empleando un agitador mecánico (marca Ika modelo Eurostar PWR CVSD). Pasando el tiempo, la reacción fue detenida neutralizando la mezcla a un pH de 6.5 usando HCl 1M. La suspensión resultante se centrifugó durante 15 min, a 3000 xg y a una temperatura de 25 °C. Se realizaron 3 lavados con agua destilada. El sólido fue secado a 30 °C en una estufa, durante 12 h.

6.2.3. Análisis Químico Proximal

La caracterización química proximal consistió en la determinación del contenido de humedad, cenizas, lípidos y proteínas del almidón nativo de plátano y los almidones modificados. Esto se realizó empleando la metodología propuesta por la AOAC (Association of Official Analytical Chemists) y la AACC (American Association of Cereal Chemists).

6.2.3.1 Humedad

La humedad fue determinada por el método oficial 44-19 de la AACC (AACC, 2000). Se pesaron 0.5 g de muestra en charolas de aluminio (puestas previamente a peso constante), se colocaron en la estufa a 100 ± 1 °C durante 3h. Posteriormente, se enfriaron en un desecador por 20 min. Finalmente, se pesaron y se determinó la humedad por diferencia de peso utilizando la ecuación 1:

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{\text{Peso inicial de la muestra(g)} - \text{Peso final de la muestra(g)}}{\text{Peso inicial(g)}} \times 100$$

Ec. (1)

6.2.3.2. Lípidos

Se utilizó el método oficial 30-25 de la AACC (AACC, 2000). Se pesaron 3 g de muestra seca en cartuchos de celulosa, se colocaron en un equipo de extracción Soxhlet, se adicionaron 100 mL de éter de petróleo a los vasos del equipo y posteriormente se realizó la extracción por 4 h. Finalmente, los vasos se secaron en la estufa a 60 ± 1 °C por 1 h y se pesaron para determinar el porcentaje de lípidos con la ecuación 2:

$$\% \text{ Extracto etéreo} = \frac{\text{Peso final del vaso(g)} - \text{Peso inicial del vaso(g)}}{\text{Peso de la muestra en base seca(g)}} \times 100$$

Ec. (2)

6.2.3.3. Proteínas

La determinación de proteínas se realizó en muestras de almidón desgrasadas tal y como se indica en el apartado anterior. Estas se cuantificaron con el método oficial 46-13 de la AACC (2000).

El porcentaje de proteínas se determinó indirectamente por la cuantificación de nitrógeno total utilizando el método Kjeldahl. Se pesó 1 g de muestra y se pasó a un tubo Kjendahl, al cual se le agregó 1 g de sulfato de cobre, 10 g de sulfato de potasio anhidro y 15 mL de ácido sulfúrico concentrado. Este se colocó en el digestor y se calentó gradualmente a 400 °C, hasta que el contenido del tubo presentó un color verde claro. El tubo se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se le adicionaron 15 mL de agua para lavar los residuos que quedaron en la pared del tubo, posteriormente se adicionaron 50 mL de hidróxido de sodio al 40%. Por otro lado, en un matraz Erlenmeyer se añadieron 50 mL de ácido bórico al 4% y 10 gotas de indicador Wesslow. Se realizó la destilación hasta obtener un volumen de 150 mL de la muestra en el matraz preparado anteriormente. La muestra obtenida se tituló con ácido clorhídrico 0.1N. Se calculó el porcentaje de proteínas con la ecuación 3:

$$\% \text{ Proteínas} = \frac{\text{mL gastados de titulador(g)} \times N \times 14}{\text{Peso de la muestra en base seca(g)}} \times F \times 100$$

Ec. (3)

Donde:

F= Factor de conversión a proteína para frutas 6.25

N= Normalidad

6.2.3.3. Cenizas

Se analizaron con el método 08-01 de la AACC (AACC, 2000). Se pesó 1 g de muestra en un crisol (puesto a peso constante), se carbonizó la muestra sobre la flama de un mechero y se introdujo en la mufla a 550 ± 1 °C por 5 h. Cuando las cenizas estuvieron blancas, se enfriaron en un desecador. Finalmente, se pesaron y se calculó el porcentaje de cenizas con la ecuación 4:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso del residuo(g)}}{\text{Peso de la muestra en base seca(g)}} \times 100$$

Ec. (4)

6.2.3.4. Determinación de amilosa aparente y amilosa total

El contenido de amilosa aparente y amilosa total fue obtenido utilizando el método propuesto por Hoover & Ratnayake (2002), el cual se basa en la afinidad que tiene la

amilosa para formar complejos con yodo. El complejo coloreado formado fue cuantificado colorimétricamente. El contenido de amilosa total se determinó por el mismo procedimiento de amilosa aparente, pero previamente se realizó un desgrasado de la muestra con una mezcla n-propanol-agua (3:1 v/v) durante 7 h. Se pesaron 20 mg de almidón (base seca) y se disolvieron en 80 mL de dimetilsulfóxido al 90% (m/v) en viales con tapa. El contenido de los viales fue agitado vigorosamente por 20 min y luego se calentó en un baño de agua con agitación intermitente durante 15 min a 85 °C. Los viales fueron enfriados a temperatura ambiente y el contenido fue diluido con agua a 25 mL en un matraz volumétrico. 1 mL de la solución anterior fue mezclada con 5 mL de una solución I₂/KI (I₂ 0.025M y KI 0.0065M) y luego se ajustó a un volumen final de 50 mL en un matraz volumétrico. Las muestras se dejaron reposar 15 min a temperatura ambiente y fueron leídas en un espectrofotometro Spectronic Genesys 5 (Spectronic Instruments, Inc. Rochester, N. Y. USA) a 600 nm. Para la preparación del testigo se siguió el mismo procedimiento pero sin incluir el almidón. Para el cálculo del contenido de amilosa en la muestra se realizó una curva patrón de amilosa de papa obtenida con un análisis de regresión lineal.

6.3. Análisis de Biodisponibilidad de los almidones

6.3.1 Almidón total

La determinación del contenido de almidón total se fundamenta en cuantificar la glucosa liberada como resultado de la hidrólisis enzimática con amiloglucosidasa, la cual hidroliza los enlaces glucosídicos α -(1,4) y α -(1,6) de las cadenas de amilosa y amilopectina, según el método propuesto por Goñi *et al.*, 1997. Para ello, se dispersaron 50 mg de muestra en 3 mL de agua destilada y con 3 mL de hidróxido de potasio (KOH) 4M. La dispersión se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se agregaron 3 mL de regulador de fosfatos y 5.5 mL de HCl 2M y se ajustó el pH a 4.75. Después, se adicionaron 60 μ L de una suspensión de amiloglucosidasa. La mezcla resultante se incubó en un baño de agua a 60 °C durante 45 min y con agitación constante. Después de este tiempo, se centrifugó a 3000 xg durante 15 min y se recolectó el sobrenadante en un matraz aforado de 50 mL. El residuo fue lavado con 10 mL de agua destilada. Nuevamente, se

centrifugó y se recolectó el sobrenadante. Para determinar la cantidad de glucosa liberada durante la hidrólisis enzimática, se tomaron alícuotas de 50 μ L del contenido del matraz y se transfirieron a tubos que contenían 1 mL de reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa (GOD-POD). Los tubos se incubaron por 10 min a 37 °C y posteriormente se analizaron en un espectrofotometro Spectronic Genesys 5 (Spectronic Instruments, Inc. Rochester, N. Y. USA) a 510 nm. Las muestras fueron analizadas a la par con una curva patrón de glucosa determinada a partir de un análisis de regresión lineal. El porcentaje de almidón total se calculó utilizando la ecuación 5:

$$\% \text{ de Almidón total} = \frac{\mu\text{g de glucosa/mL} \times 50 \times 0.9}{\mu\text{g de muestra}} \times 100$$

Ec. (5)

Donde: 0.9 es el factor de transformación de glucosa a glucano.

6.3.2 Almidón disponible

El contenido de almidón disponible se calculó por diferencia entre el almidón total y la suma de las fracciones de almidón de digestión lenta y rápida.

6.4. Digestibilidad *In vitro*

6.4.1. Determinación de las fracciones de ARD, ALD y AR

Las fracciones de almidón Almidón de rapida digestión (ARD), almidón de lenta digestión (ALD) y almidón resistente (AR), fueron determinadas de acuerdo a la digestión completa o incompleta en el intestino delgado, siguiendo la metodología propuesta por Englyst *et al.*, 1992.

400 mg de almidon nativo o modificado fueron colocados en matraces Erlenmeyer de 50 mL, y utilizando un baño maría a temperatura de ebullición y el de agitación orbital a 37°C para alcanzar la temperatura. A cada matraz se le adicionaron 25 mg de goma guar. Inmediatamente después, el almidón fue gelatinizado agregando 4 mL de agua destilada a cada matraz colocandose en un baño de agua a temperatura de ebullición durante 30 min y agitando continuamente. Transcurrido el tiempo, el producto se dejó enfriar a temperatura

ambiente durante 15 min (durante este periodo se preparó una solución de pepsina). A cada muestra se le agregaron 5 mL de una solución de pepsina y se colocaron en un baño maría con agitación orbital a 37 °C durante 30 min (durante este periodo se preparó una mezcla de enzimas). Se agregaron 2.5 mL de la mezcla de enzimas a cada muestra a intervalos de 1 min. Se dejó en agitación a 37 °C. Después, se agregaron 5 mL de acetato de sodio 0.25 M a cada muestra y se continuó mezclando en el baño de agua a 37 °C. Por otro lado, se prepararon tubos con 4 mL de etanol puro y se etiquetaron a 20 y 120 min para cada muestra. Después de 20 min de hidrólisis, se tomó una alícuota de 0.5 mL y se colocó en el tubo con etanol y se agregaron 16 mL de agua. La mezcla fue puesta en un vortex durante 30 s. Pasado este tiempo, los tubos se centrifugaron a 1500 xg durante 5 min. Finalmente, la glucosa liberada se determinó con el método de glucosa oxidasa/peroxidasa (GOD/POD) de la siguiente manera:

Incubando en un baño de agua a 37 °C durante 10 min y realizando una lectura en un espectrofotometro Spectronic Genesys 5 (Spectronic Instruments, Inc. Rochester, N. Y. USA) a una longitud de onda de 510 nm.

Las fracciones de almidón se determinaron con las ecuaciones 7, 8 y 9 respectivamente:

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

Ec. (6)

Donde:

At= Absorbancia de la muestra

Vt= Volumen total de la solución de la muestra

C = Concentracion en mg/mL del estandar usado

As = Absorbancia del estandar usado

Wt = Peso en mg de la muestra tomada para el análisis (este se corrigió con la humedad)

D = Factor de dilución

$$\mathbf{ARD} = (G_{20} - GL) \times 0.9$$

Ec. (7)

$$\mathbf{ALD} = (G_{120} - G_{20}) \times 0.9$$

Ec. (8)

$$\mathbf{AR} = AT - (ARD + ALD)$$

Ec. (9)

Donde:

GL = Glucosa libre.

AT = Almidón total.

G₂₀ = Glucosa medida en la muestra después de 20 min.

G₁₂₀ = Glucosa medida en la muestra después de 120 min.

Para el cálculo de la glucosa liberada en esta etapa se utilizaron los siguientes valores:

$V_t = 12.5 \text{ más } 1 \text{ mL/g de muestra húmeda usada.}$

$C = 10$

$D = 1$

6.5. Propiedades funcionales a diferentes temperaturas

6.5.1. Índice de solubilidad en agua e índice de absorción de agua

Se sabe que los gránulos de almidón nativo son insolubles en agua fría. No obstante, la abundancia de grupos hidroxilos en su molécula motiva la tendencia de este polisacárido a absorber agua. Debido a la insolubilidad de los gránulos, el almidón en presencia de agua solo puede absorber una cantidad relativamente baja que va acompañada de un determinado hinchamiento térmico.

De acuerdo al método modificado por Schoch en 1964, para determinar el índice de solubilidad y la absorción en agua, se mantuvieron 36 tubos de ensayo a 100 °C por una noche. Posteriormente, se retiraron los tubos de la estufa y se colocaron en un desecador, se dejaron enfriar, se marcaron y se pesaron. Posteriormente, se agregaron 5 mL de agua destilada en los primeros 6 tubos de cada temperatura (60, 70, 80 y 90 °C), el resto quedan sin agua. 5 g de muestra (en base seca) agregados a un matraz Erlenmeyer con 100 mL de agua fueron llevados a una agitación constante.

En un baño maría se colocaron los 6 tubos que contenían 4 mL de agua de cada serie y se calentaron a 60 °C. En un segundo baño, se colocó un matraz con suspensión de almidón al 5%, se llevó a 60 °C y en ese momento se tomó 1 mL de muestra y se colocó en un tubo con agua a 60 °C (se tomaron 6 tubos a esta temperatura). Se continuó el calentamiento y al llegar a 70 °C se tomaron otros 6 tubos. A 80 °C otros 6 más y finalmente a 90 °C las últimas 6 muestras. Los primeros tubos de cada temperaturase dejaron sedimentar por 4 h.

Después, de que se sedimentó se separó el gel del sobrenadante tomando con la micropipeta 1.5 mL. El sobrenadante se colocó en los 3 tubos de ensayo sin agua (de cada serie). Los 3 tubos se atemperaron, se secaron y se pesaron para tener el peso del gel húmedo (Gh), 3 tubos contuvieron la muestra completa y los 3 restantes el sobrenadante (almidón soluble).

Se colocaron todos los tubos (9 de cada temperatura) en vasos grandes de precipitado y se metieron a la estufa a temperatura de 100 °C durante una noche. Se sacaron los tubos de la estufa, se colocaron en un desecador, se dejaron enfriar y se pesaron, obteniéndose el peso (en gramos, g) de gel seco (Gs), muestra seca (Ms) y suspensión seca (Ss).

Las determinaciones fueron realizadas usando las siguientes ecuaciones:

Capacidad de absorción de Agua (CAA)

$$CAA = \frac{Gh(g)}{Ms(g)}$$

Ec. (10)

Índice de solubilidad en agua (ISA)

$$ISA = \frac{Ss(g)}{Ms(g)}$$

Ec. (11)

Poder de hinchamiento (PH)

$$PH = \frac{Gh(g)}{Gs(g)}$$

Ec. (12)

6.6. Análisis morfológico

6.6.1. Microscopía óptica con luz polarizada.

El análisis de microscopía con luz polarizada fue llevado a cabo usando un microscopio óptico Zeiss, equipado con una cámara Minolita y utilizando el objetivo 40x. Para la observación de los gránulos de almidón las muestras fueron previamente mezcladas con 10 μ L de una solución de yodo (0.2 % de I₂ y 2 % de KI).

6.7. Análisis fisicoquímico y molecular

6.7.1 Difracción de rayos-X

Los patrones de difracción de los almidones se obtuvieron con un difractómetro de Rayos X marca Bruker Axs, modelo D8 Advance, con un generador de radiación de Cu-K α , con filtro de Ni y rejillas de 2 mm. Los análisis se llevaron a cabo de 1 a 40 en 2 θ . Se utilizó una intensidad de 30 mA y un voltaje de 40 kV.

6.7.2. Calorimetría de barrido diferencial (CBD)

6.7.2.1. Gelatinización

Las propiedades térmicas tanto del almidón nativo como de los almidones modificados, tales como temperatura y entalpia de gelatinización se evaluaron con un calorímetro de barrido diferencial (TA Instrument, modelo 2010), calibrado previamente con indio, siguiendo la metodología propuesta por Paredes-López *et al*, (1994). 2 mg de almidón (base seca) fueron puestos en una charola de aluminio y se adicionaron 7 μ L de agua desionizada para obtener dispersiones al 75 %. Las charolas se cerraron herméticamente y se dejó humectar la dispersión a temperatura ambiente durante 1 h. Posteriormente, se sometió la charola a un programa de calentamiento de 20 a 120 °C, con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. Se utilizó una charola de aluminio vacía como referencia.

6.7.2.2. Retrogradación

Una vez calentadas las charolas para gelatinización, éstas se almacenaron a 4 °C durante 7 días. Transcurrido el tiempo de almacenamiento, las charolas se sometieron nuevamente al mismo programa de calentamiento descrito para gelatinización, y de esta manera obtener las propiedades térmicas de retrogradación.

6.7.3. Análisis rápido de viscosidad (ARV)

Para determinar el perfil de viscosidad de las dispersiones de almidón, se empleó la técnica propuesta por la AACC (2000). Se prepararon suspensiones de almidones al 14 % (p/v) de sólidos totales, 29 g en total fueron transferidos a un tazón del analizador rápido de

viscosidad (ARV-4 series, Newport Scientific Pty, Ltd, Warriewood, NSW, Australia), el cual se programó a un ciclo de calentamiento-cocción-enfriamiento, de 50 °C a 90 °C, a una velocidad de calentamiento de 8 °C/min y a una velocidad de 160 rpm.

6.7.4. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con un nivel de significancia de $p < 0.05$, utilizando el paquete estadístico SigmaPlot (Germany, versión 11.0 para Windows). Cuando se encontraron diferencias estadísticas significativas se utilizó una prueba de comparación múltiple de Tukey.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1 Análisis químico proximal

De los 50 kg de plátano en estado inmaduro se obtuvo un rendimiento aproximado de 10 % de almidón, el cual contiene otros componentes minoritarios como: proteínas, lípidos, y cenizas. Por esta razón fue necesario realizar el análisis químico proximal para evaluar la composición química del almidón nativo y conocer su pureza.

Tabla 3. Análisis proximal de los almidones de plátano roatán nativo y modificado.

	Nativo	STMP	EPI
Humedad	10.0671±0.12 ^a	9.8627±0.10 ^a	9.9505±0.03 ^a
Proteínas	1.0778±0.45 ^a	1.0428±0.05 ^a	1.0741±0.01 ^a
Lípidos	0.4832±0.03 ^a	0.4781±0.08 ^a	0.4813±0.21 ^a
Cenizas	0.3063±0.02 ^a	0.4503±0.01 ^b	0.3139±0.14 ^a
Amilosa	38.4502±0.39 ^a	45.5673±0.12 ^b	45.6284±0.07 ^b
Amilopectina	61.5498±0.10 ^a	54.4327±0.06 ^b	54.3716±0.01 ^b
Almidón Total	85.8603±0.03 ^a	85.0043±0.07 ^a	84.9341±0.23 ^a

Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas ($\alpha=0.05$).

Promedio de tres repeticiones ± error estándar

STMP: Trimetafosfato de Sodio; EPI: Epiclorhidrina

El porcentaje de humedad sirvió para los cálculos de la base seca. En las Tablas 3 y 4 se muestra el análisis proximal del almidón de plátano roatán y macho respectivamente. Se observa que los valores de humedad, proteínas y lípidos no se vieron afectados significativamente tras el entrecruzamiento, comparado con sus contrapartes nativos. Sin embargo, en cuanto a cenizas se refiere, el contenido se incrementó en las modificaciones con STMP, esto justificado por la incorporación de grupos fosfatos reaccionantes con los grupos hidroxilos de las glucosas conformadoras de almidón al formar enlaces covalentes, los grupos fosfatos aportan compuestos minerales que no se eliminan después de realizar

los lavados, posteriores al proceso de entrecruzamiento. Para los almidones modificados con EPI no hubo cambios significativos.

Tabla 4. Análisis proximal del almidón de plátano variedad macho nativo y modificado.

	Nativo	STMP	EPI
Humedad	11.2671±0.43 ^a	11.1994±0.03 ^a	11.2416±0.11 ^a
Proteínas	0.9902±0.02 ^a	0.9832±0.26 ^a	0.9882±0.01 ^a
Lípidos	0.5013±0.07 ^a	0.5034±0.51 ^a	0.5012±0.03 ^a
Cenizas	0.6359±0.02 ^a	0.8394±0.71 ^b	0.6401±0.24 ^a
Amilosa	33.4502±0.51 ^a	40.9245±0.28 ^b	43.0064±0.73 ^b
Amilopectina	66.5498±0.12 ^c	59.0755±0.12 ^b	56.9936±0.12 ^a
Almidón Total	88.8213±0.11 ^b	87.3443±0.43 ^a	87.2841±0.28 ^a

Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas ($\alpha=0.05$).

Promedio de tres repeticiones $\pm$ error estándar

STMP: Trimetafosfato de Sodio; EPI: Epiclórhidrina

El contenido de almidón total (AT) para el almidón de plátano roatán fue de 85.86 % (ver Tabla 3), mientras que los almidones modificados con STMP y epiclórhidrina presentaron un contenido desde 85.00 y 84.93 % respectivamente, sin presentar diferencias estadísticamente significativas. Por lo tanto, se puede deducir que la modificación química realizada no afectó el contenido de AT.

Sin embargo, el contenido de AT en almidón de plátano nativo macho fue de 88.82 % y en los almidones modificados con STMP y Epiclórhidrina fue de 87.34 y 87.28 % respectivamente, sin encontrarse diferencias estadísticas significativas. Bello-Pérez *et al* (1999), reportaron valores de AT en almidón nativo de plátano macho de 97.2 % y de 98.1 % para almidón de plátano roatán. Estas diferencias pueden ser debido al estado de madurez del fruto, características agronómicas y método de obtención. No obstante, los resultados de AT encontrados en el presente trabajo son similares a los reportados por

Zamudio-Flores *et al*, (2006) en la misma variedad (plátano macho) (86.04 %).

En la tabla 3 y 4 podemos observar que la concentración de AT difiere entre las distintas variedades de forma nativa. Las modificaciones con STMP y epiclorhidrina propiciaron un incremento en el contenido de amilosa aparente (38 a 33 %) de las muestras sometidas a modificación, lo cual se debió a que las cadenas cortas producidas durante la reacción formaron complejos con el yodo, fundamental para la cuantificación de amilosa aparente. Los valores de almidón total obtenidos son altos, lo que demuestra que el proceso de aislamiento fue adecuado, y que se obtiene un polvo puro. Los valores de amilopectina del plátano macho (66%) fue superior al del plátano roatán (61%) y este resultado nos supone que habrá diferencias sobre la cantidad de almidón resistente que se obtuvo ya que al contener mayor fracción cristalina las cadenas de amilopectina pueden dificultar la formación de nuevos enlaces. El comportamiento observado en la composición química proximal de los almidones se debe al efecto de las modificaciones y las variedades.

7.1.1 Digestibilidad *In vitro*

Basado en el análisis de Englyst *et al*. (1992), se evaluaron las diferentes fracciones de almidón ADR, ADL y AR. Las propiedades de digestión de almidón nativo y los químicamente modificados se presentan en la Tabla 5. Estos almidones fueron analizados con gelatinización previa para evaluar el comportamiento de dichas fracciones durante el proceso de cocción, lo cual es característico en la elaboración de diferentes productos, todas las muestras se analizaron después de ser sometidos a cocción en exceso de agua en baño en ebullición durante 20 min

Todas las muestras de almidón modificado presentaron un contenido de ADR más bajo en comparación con los almidones nativos debido a la incorporación de enlaces covalentes que dificultan la acción enzimática en los gránulos de almidón, retardando de esta forma la liberación de glucosa. La modificación de almidón de plátano roatán con STMP Y EPI mostraron porcentajes similares de ADR (8.85 y 8.02 % respectivamente), estos valores son menores en comparación con el almidón nativo (58.18%) y menores que los almidones de plátano macho nativo y modificados (63.83, 9.25 y 12.10 respectivamente).

Tabla 5. Digestibilidad del almidón nativo y modificado de plátano

Muestra	ADR(%)	ADL(%)	AR(%)
MNativo	63.83±0.11 ^c	10.11±0.12 ^b	26.06±0.32 ^a
MSTMP	9.25±0.51 ^b	12.73±0.67 ^c	78.27±0.55 ^d
MEPI	12.10±0.15 ^c	5.65±0.04 ^a	82.25±0.63 ^e
RNativo	58.18±0.29 ^d	13.79±0.30 ^d	28.00±0.35 ^b
RSTMP	8.85±0.13 ^{ab}	14.52±0.41 ^d	76.63±0.03 ^d
REPI	8.02±0.11 ^a	18.29±0.33 ^e	73.07±0.25 ^c

Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas ($\alpha=0.05$).

ADR, almidón de rápida digestión; ADL, almidón de digestión lenta; AR, almidón resistente; AR fue calculado como $100 - (ADR+ADL)$, asumiendo que la muestra fue 100% almidón.

Promedio de tres repeticiones $\pm$ error estándar

STMP: Trimetafosfato de Sodio; EPI: Epiclorohidrina R:roatán, M:macho.

En resumen, el almidón plátano roatán entrecruzado con epiclorhidrina presentó el contenido más bajo de AR (73.07%), pero mostró los niveles más altos de ADL (18.29%). Sin embargo, la variedad macho modificado con epiclorhidrina mostró los valores más altos en comparación a su contraparte nativa y modificado con STMP. Trabajos realizados por Espinosa-Solís *et al.* (2011) reportaron valores más bajos de AR para almidón lintnerizado de plátano variedad macho y mango (21.9 % y 24.6 %, respectivamente). En otro trabajo realizado por Aparicio-Saguilán *et al.*, (2008) realizaron un entrecruzamiento del almidón de plátano macho usando una mezcla de STMP/STPP y obtuvieron valores altos de AR (94.68 %) pero generando poca solubilidad.

En cuanto al contenido de ADL, los almidones modificados con STMP mostraron diferencias debido a que el Roatán fue de 18.29 incrementado sobre la cantidad del nativo y en la variedad Macho 5.65% con este reactivo a diferencia del almidón de plátano macho nativo de 10.11%. El contenido de AR fue alto para las muestras modificadas lo que indica el efecto de ellas sobre el contenido de AR como se observa en la Tabla 5. También se observa que el almidón de plátano roatán tiene en un inicio una cantidad superior de AR

comparado con el almidón macho (28.00 y 26.06%). Sin embargo, con las modificaciones el AR fue mayor en los almidones de la variedad macho que de la variedad roatán, debido a la composición del granulo de almidón en cuanto de amilosa y amilopectina mostrado en las Tabla 4 y 5 .

Los resultados de digestibilidad de los almidones de plátano macho modificados (ADL de 10.79 a 16.79%) son similares a los reportados por Carlos-Amaya *et al.*, (2011), quienes presentaron un contenido bajo de ADR, incremento en el contenido de ADL y un contenido alto de AR. Por su parte, Chung *et al.* (2008), en un estudio sobre almidones de maíz y plátano encontraron que en los almidones de maíz modificados con diferentes tratamientos (sin gelatinizar), el contenido de ADR y de AR fue más alto que en los almidones modificados de plátano, mientras que en contenido de ADL fue mayor en los almidones modificados de maíz (de 37.9-62.1%) comparados con los observados en (Tabla 5).

Por otra parte, los almidones entrecruzados son considerados como una nueva fuente de fibra dietética (Wurzburg, 1986a-b; Woo & Seib, 2002), debido a que produce contenidos altos de AR. El AR al no ser digerido y absorbido en el intestino delgado es fermentado en el intestino grueso, por lo que la fermentación del AR produce ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente butirato, el cual ha sido relacionando con la prevención de cáncer de colon (Topping & Clifton, 2001).

La modificación química con STMP y EPI reduce la degradación enzimática del almidón y disminuye la respuesta glucémica; por lo que, podría utilizarse en la formulación de nuevos productos de bajo índice glucémico, enfocados en ayudar a las personas con diabetes mellitus.

7.1.1 Difracción de rayos X

El almidón de plátano macho nativo presentó un patrón de difracción tipo B (Figura 12) con picos a valores $2\theta = 5, 15, 17$ y 23° el cual es típico de almidones provenientes de los tubérculos. Varios autores han reportado patrones diferentes de difracción para el plátano de la variedad macho, tal es el caso de Bello-Pérez *et al.* (2000a) quienes reportaron un patrón tipo A, mientras que Millán-Testa *et al.* (2005) reportaron un patrón tipo C (el cual

es una mezcla del tipo A y B). Estas diferencias encontradas en los patrones de difracción en el almidón de plátano de la variedad macho es debido a las condiciones ambientales de crecimiento del cultivo y a la estructura de la molécula de amilopectina (Sang-Ho & Jay-Lin, 2002).

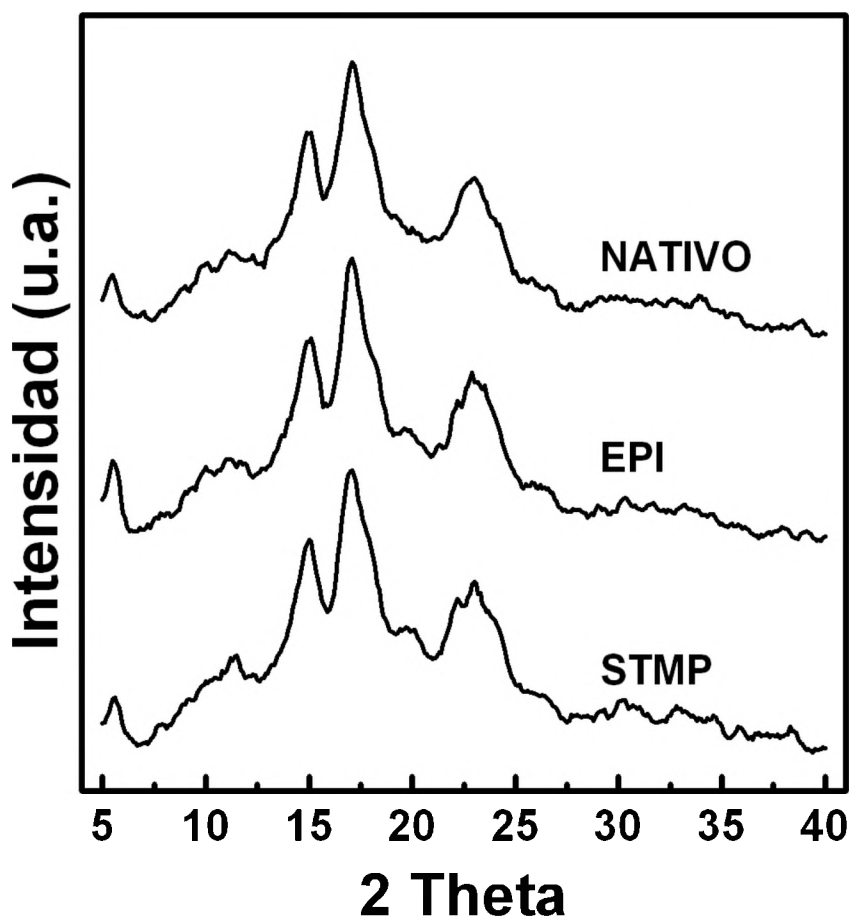


Figura 12. Patrones de difracción de rayos X del almidón de plátano macho nativo y modificado.

Los almidones modificados con STMP y EPI no presentaron ningún cambio en el patrón de difracción. Esto puede ser debido a que los cambios producidos por la introducción de los agentes químicos ocurren principalmente en las regiones amorfas (entre los clusters) de la amilopectina (Jane *et al.*, 1992; Song *et al.*, 2006; Hui *et al.*, 2009), lo que no permite la desorganización de las dobles hélices de la amilopectina (clusters).

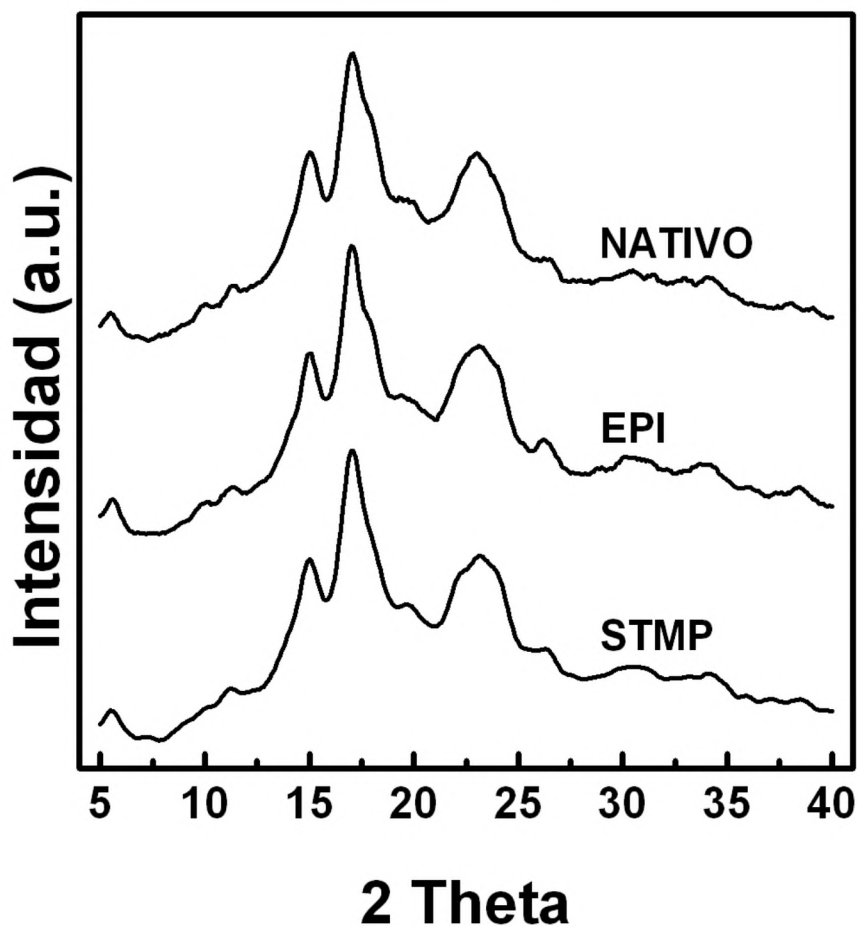


Figura 13. Patrones de difracción de rayos X del almidón nativo y modificado de plátano roatán.

En el caso del almidón de plátano macho se han reportados los tres tipos de patrón de difracción de rayos X. Zhang *et al.* (2005) mencionaron que el arreglo cristalino para el almidón de plátano aún no está claro, ya que depende principalmente de la variedad del plátano y/o las condiciones de cultivo (medio ambiente), el proceso de aislamiento y del estado de madurez del fruto.

Los almidones entrecruzados con epíclorhidrina, trimetafosfato y oxícloruro de sodio, presentarían un nivel mayor de enlaces entrecruzados entre la amilosa y la amilopectina, y dichos enlaces refuerzan la cristalinidad del almidón (Rodríguez-Marín *et al.*, 2010).

7.2 Análisis morfológico

7.2.1 Microscopía óptica con luz polarizada.

El arreglo radial al interior del gránulo de las moléculas de amilosa y amilopectina es debido a la estructura semicristalina. Los almidones nativos tienen una cristalinidad que va desde 15 hasta un 45 %. La mayoría de los gránulos poseen birrefringencia cuando se observan bajo luz polarizada mostrando una cruz de malta. En los almidones de plátano macho modificados y nativos se observó una baja birrefringencia (Figura 14), no se observaron diferencias significativas. La birrefringencia indica un grado de orientación molecular dentro del gránulo. (Bornet, 1993; Zhang *et al.*, 2005).

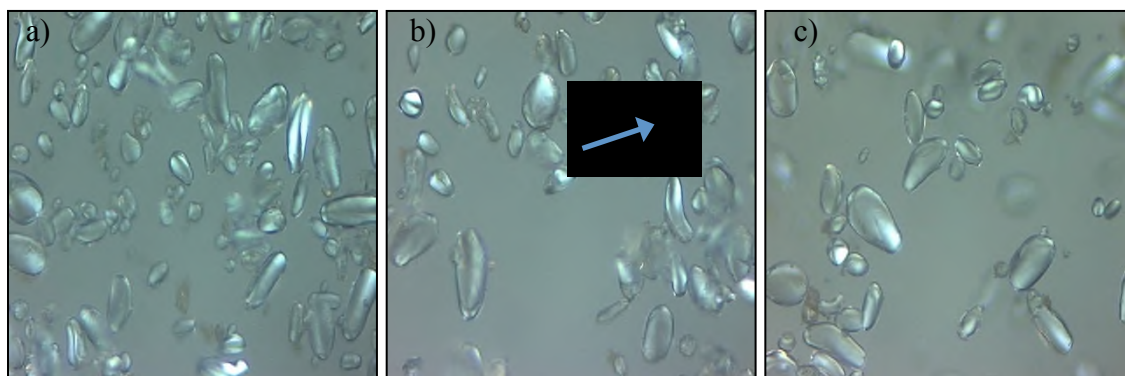


Figura 14. Microfotografías de los almidones de plátano macho: (a) nativo , (b) modificado con STMP, (c) modificado con EPI.

En la figura 12 b,c, la birrefringencia de los gránulos ha desaparecido parcialmente. Esto coincide con lo reportado con Cooreman *et al.* (1995) quienes encontraron en perfiles de almidón de maíz entrecruzados con epíclorohidrina, que la viscosidad del almidón es reducida como resultado del entrecruzamiento y que mientras aumente el nivel de entrecruzamiento disminuye la solubilidad del gránulo. Desde un inicio se observó que existe un daño en los gránulos de almidón tanto en almidones nativos de plátano macho como en roatán (Figuras 14a y Figura 15a) pues no se logra observar la cruz de malta completamente y se muestran gránulos que posiblemente al momento de la extracción se realizó a condiciones muy altas las mismas que tuvieron impacto en su estructura.

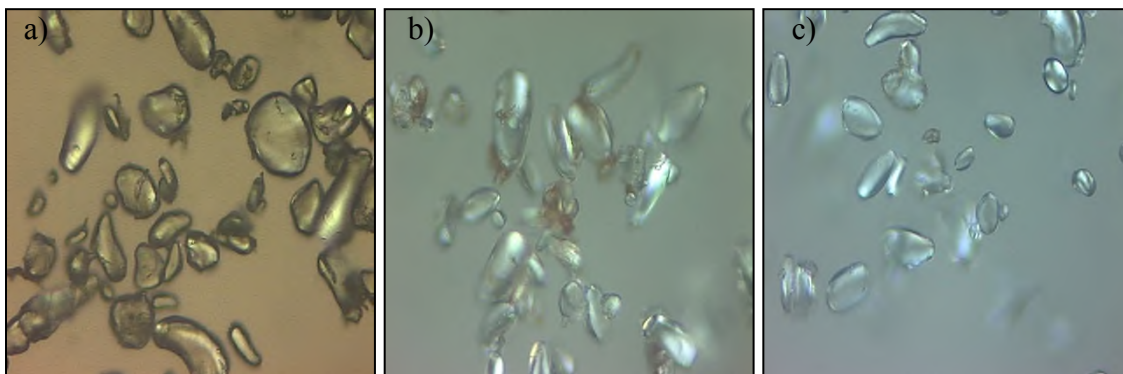


Figura 15. Microfotografías de los almidones de plátano roatán: (a) nativo, (b) modificado con STMP, (c) modificado con EPI.

Se observa en la Figura 14b que los almidones sufrieron una modificación más drástica pues se encuentran zonas amorfas en mayor cantidad lo que indica que sus propiedades deben ser diferentes a las de la otra modificación.

7.3 Propiedades térmicas

El estudio de los fenómenos de gelatinización y retrogradación en los almidones proporcionan información acerca del orden-desorden de las moléculas dentro de un sistema (Biliaderis & Zawistowski, 1990).

7.3.1 Gelatinización

Las propiedades térmicas de los almidones nativo y modificados para ambas variedades se representan en la Tabla 6. Los almidones modificados químicamente con EPI mostraron menor temperatura y entalpia de gelatinización (T_p y ΔH) de 71.03°C y 71.45°C , respectivamente comparados con los nativos. En cuanto al almidón de plátano con STMP el efecto fue mayor para los nativos, donde se observa un mayor orden en la estructura debido al entrecruzamiento visto en la cantidad de AR (Tabla 5).

Entre un efecto similar fue el reportado para almidones entrecruzados de plátano con los mismos reactivos Rodríguez-Marín *et al.* (2010). Los autores reportaron que el almidón de plátano macho entrecruzado con EPI disminuye la temperatura de gelatinización en comparación con el almidón nativo. Por su parte, Yook *et al.* (1993) reportaron que para almidón de arroz entrecruzado con epíclorhidrina, la temperatura y entalpia de

gelatinización disminuye debido a la introducción de grupos sustituyentes que debilitan la estructura interna del gránulo de almidón.

Tabla 6. Propiedades de gelatinización de almidón nativo y modificado de plátano

Muestra	Ti (°C)	Tp (°C)	Tf (°C)	ΔH (J/g)
Macho Nativo	74.0679±0.13 ^c	79.8276±0.15 ^c	85.9505±0.13 ^c	11.0176±0.05 ^c
Macho STMP	71.0398±0.05 ^a	75.0428±0.10 ^a	80.0741±0.03 ^a	9.3456±0.35 ^b
Macho EPI	72.4232±0.03 ^b	83.4781±0.04 ^e	87.4813±0.12 ^d	5.9158±0.09 ^a
Roatán Nativo	75.0306±0.02 ^d	78.3503±0.06 ^b	86.1531±0.14 ^c	11.0324±0.01 ^c
Roatán STMP	71.4502±0.11 ^a	75.6265±0.13 ^a	81.6223±0.09 ^b	9.0193±0.06 ^b
Roatán EPI	74.5498±0.12 ^c	81.5498±0.12 ^d	88.5498±0.12 ^e	6.0123±0.02 ^a

Media de tres repeticiones± error estándar. Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas ($\alpha=0.05$).

STMP: Trimetafosfato de Sodio; EPI: Epiclorohidrina

T_i = Temperatura de inicio.

T_p = Temperatura promedio.

T_f = Temperatura final

ΔH = Entalpia de gelatinización.

En las Figuras 16 y 17 se muestran los perfiles de gelatinización para los almidones de las variedades roatán y macho respectivamente, en las cuales podemos observar una mayor estabilidad térmica para los almidones entrecruzados con STMP para ambas variedades.

La entalpia de gelatinización disminuyó mayormente en el almidón de plátano roatán que en almidón de plátano macho cuando fueron entrecruzados con STMP (9.01 J/g y 9.34 J/g respectivamente), en comparación con el almidón nativo de roatán y macho (11.01 J/g y 9.03 J/g respectivamente). Entre los almidones nativos de ambas variedades no se encontraron diferencias estadísticas. Por otro lado, los almidones de entrecruzados con EPI presentaron la entalpia de gelatinización más baja (6.68 J/g y 5.98 J/g), lo que puede deberse a la debilitaciones de la estructura interna, la estructura se desorganiza en mayor proporción que en las muestras entrecruzada con STMP.

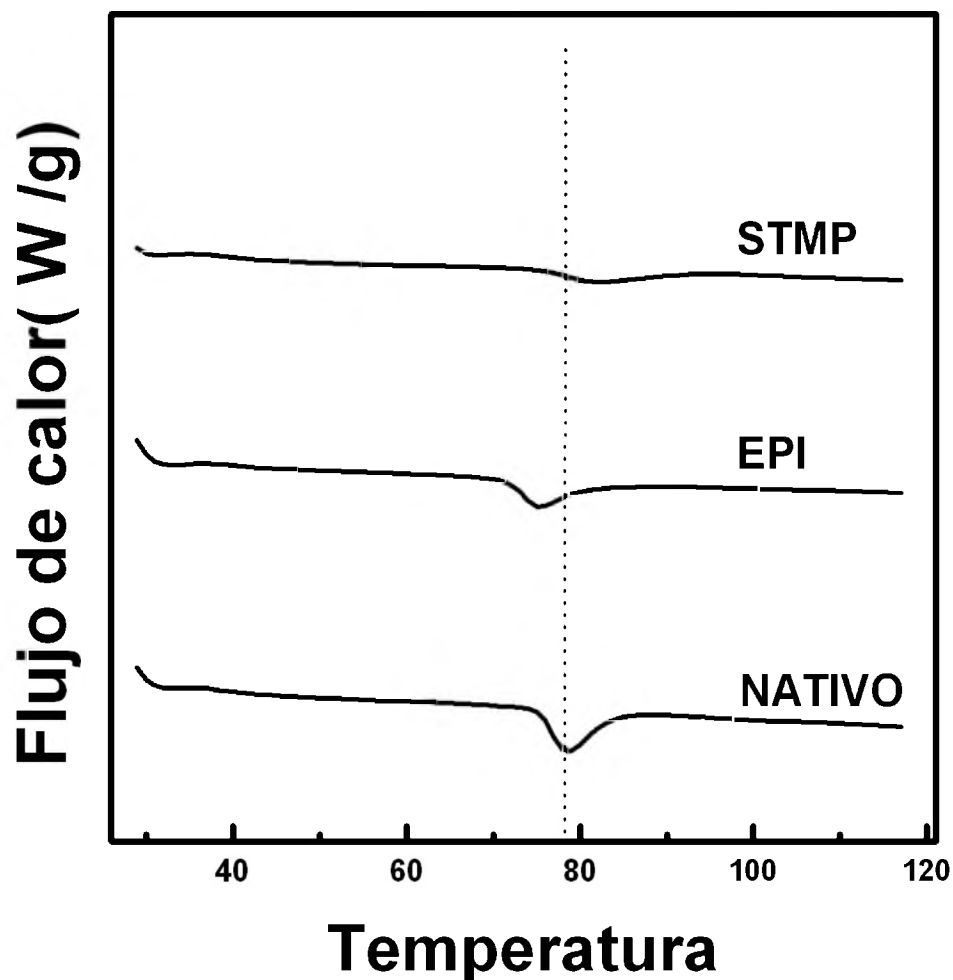


Figura 16. Gelatinización de los almidones de plátano roatán.

Bao *et al.* (2003) reportaron una disminución del 20% en la entalpía de gelatinización en almidón de maíz ceroso esterificado, en comparación con el nativo, esto se debe a que los enlaces internos (puente de hidrógeno) de los componentes del almidón se debilitan por la introducción del grupo alquenil hidrofóbico, lo que provoca una discontinuidad de las dobles hélices de la amilopectina y por lo tanto una menor entalpía de la transición de fase.

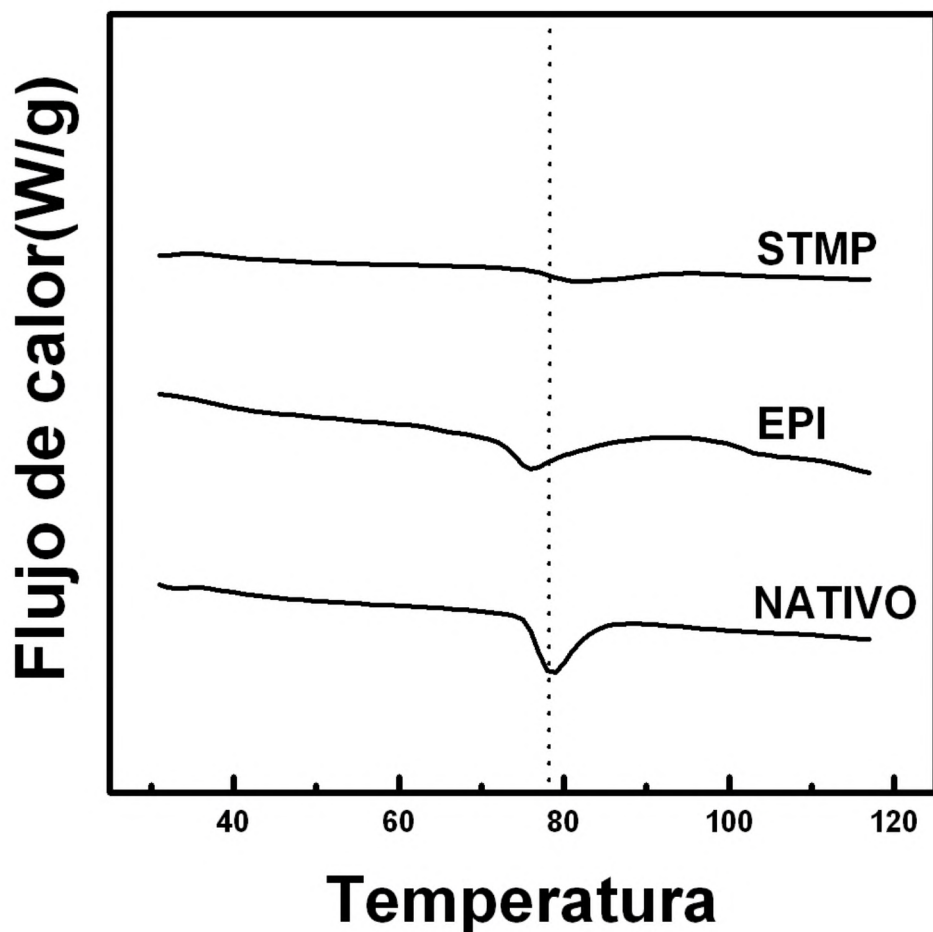


Figura 17. Gelatinización de los almidones de plátano macho.

Los almidones entrecruzados con STMP aun y cuando tienen una mayor cantidad de AR mostraron menor estabilidad térmica, ya que su entalpia se vio disminuida.

Esta característica concuerda con lo reportado por Morikawa & Nashinari (2000), donde caracterizaron almidón de papa sometido a modificación dual por entrecruzamiento e hidroxipropilación, reportando parámetros de gelatinización menores que su contraparte nativa. En este estudio, los autores concluyeron que este comportamiento es debido a que el entrecruzamiento facilita la gelatinización del almidón, porque durante la modificación ocurre una pérdida del orden estructural del gránulo, lo cual ocurre principalmente en la región amorfa.

7.3.2 Retrogradación

Después de la gelatinización los almidones presentan cambios físicos como la re-asociación de las moléculas del almidón, en particular de las dobles hélices de la amilopectina, lo que se denomina retrogradación.

Las propiedades de retrogradación de los almidones nativos y modificados para ambas variedades se presentan en el Tabla 7. Las temperaturas asociadas a la transición de fase de los almidones estudiados fueron similares, pero se encontró que la entalpia de los almidones de plátano entrecruzados con EPI y el almidón nativo no presentaron diferencias significativas.

Tabla 7. Propiedades de retrogradación del almidón nativo y modificado de plátano después de 7 días de almacenamiento a 4°C

Muestra	Ti (°C)	Tp (°C)	Tf (°C)	ΔH (J/g)
Macho Nativo	44.0679±0.13 ^c	54.8276±0.15 ^c	75.9552±0.13 ^c	2.0134±0.05 ^c
Macho STMP	41.0456±0.34 ^a	65.5699±0.14 ^a	70.0531±0.00 ^a	5.3034±0.35 ^b
Macho EPI	42.8932±0.13 ^b	63.4781±0.09 ^e	67.4093±0.19 ^d	5.3458±0.09 ^a
Roatán Nativo	45.0306±0.05 ^d	58.6503±0.23 ^b	76.1531±0.10 ^c	2.0334±0.31 ^c
Roatán STMP	43.9043±0.31 ^a	65.6035±0.03 ^a	71.3463±0.09 ^b	5.0753±0.05 ^b
Roatán EPI	41.7432±0.17 ^c	61.3280±0.19 ^d	68.5238±0.14 ^e	6.0123±0.12 ^a

Media de tres repeticiones± error estándar. Letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas ($\alpha=0.05$).

STMP: Trimetafosfato de Sodio; EPI: Epiclorohidrina

T_i = Temperatura de inicio.

T_p = Temperatura promedio.

T_f = Temperatura final

ΔH = Entalpia de gelatinización.

Los almidones entrecruzados con STMP presentaron valores de entalpia similares comparados a los de EPI y en consecuencia misma retrogradación. Los almidones modificados con STMP fueron los que presentaron los menores valores de entalpia. Esto puede ser posible por la presencia de grupos químicos en la estructura del almidón, lo cual ocasiona que la reorganización de la cadenas del almidón disminuya y en menor proporción en el almidón modificado con EPI como se muestra en la Tabla 7.

Se encontró una disminución en la entalpia de retrogradación de almidones de plátano entrecruzados con ambos agentes químicos en comparación con los almidones nativos. Estos almidones entrecruzados no presentaron diferencias entre ellos al igual que en los reportados por Rodríguez-Marín *et al.* (2010).

7.3.3 Análisis rápido de viscosidad (ARV)

7.3.3.1 Perfiles de viscosidad de las pastas ARV

Cuando una dispersión de almidón se somete a calentamiento en un ARV, los gránulos empiezan a hincharse y aumentar su volumen original, lo cual produce un incremento de la viscosidad. Como consecuencia, se obtiene un pico de viscosidad máxima, debido al hinchamiento máximo de los gránulos (producto de la entrada de agua) y a la lixiviación de la amilosa (Liu, 2005). El analizador rápido de viscosidad provee el cambio de torque producido por el almidón durante el calentamiento, relacionado con los cambios debido a la gelatinización y gelificación del almidón. Los perfiles y parámetros de torque obtenidos por el ARV para los almidones nativos, las dos variedades de plátano y los almidones entrecruzados se muestran en las figura 18 y 19.

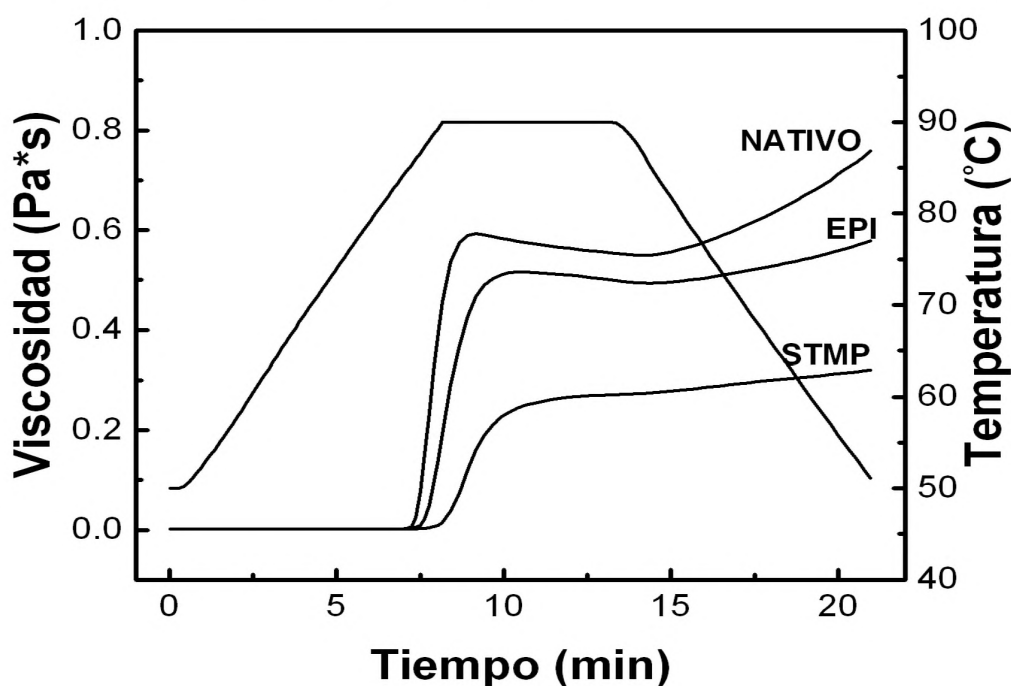


Figura 18. ARV de los almidones de plátano roatán

El almidón nativo de plátano presentó un pico de viscosidad máxima más alto y definido, que el de los almidones entrecruzados. Se sabe que los enlaces entrecruzados limitan el hinchamiento de los gránulos de almidón y cuando el nivel de entrecruzamiento se incrementa el hinchamiento del gránulo disminuye, lo que indica que los gránulos de los almidones entrecruzados tienen menor volumen que los gránulos del almidón nativo, debido a que los almidones entrecruzados presentaron perfiles de viscosidad con valores menores que el almidón nativo, esto debido a que el hinchamiento se limitó por el entrecruzamiento. Cabe mencionar, que el pico de viscosidad máxima se obtiene como respuesta del torque en el ARV, debido al hinchamiento máximo de los almidones, cuanto más se hinchen los gránulos; mayor será el valor en el pico de viscosidad. (Jyothi *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2007; Hirsch & Kokini 2002).

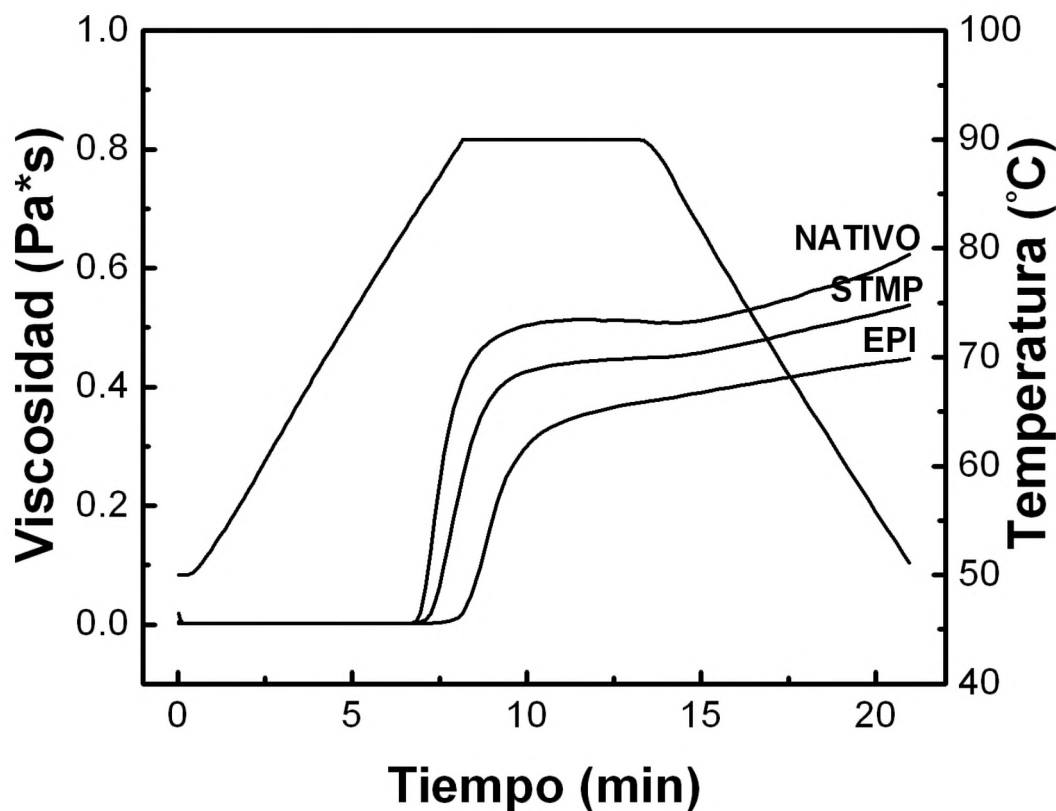


Figura 19. ARV de los almidones de plátano macho

Hirsch & Kokini, (2002) entrecizaron el almidón ceroso de maíz con EPI, STMP, reportaron que el almidón de maíz ceroso presentó valores de viscosidad bajos cuando se empleaban estos agentes entrecizantes comparado con los nativos. En general los valores

de viscosidad máxima obtenidos para los almidones entrecruzados con EPI, STMP presentan casi el doble de diferencia que el nativo probablemente porque las partículas no se hincharon completamente y su volumen fue menor que los gránulos del almidón nativo. Adicionalmente, los picos de viscosidad máxima de los almidones entrecruzados de plátano macho indican que estos almidones podrían estar más entrecruzados que los almidones de plátano roatán, debido a que presentaron menores valores de torque en el perfil (Figura 17). Esto puede deberse al modo de acción de los agentes STMP y epiclorhidrina, que al reaccionar lentamente con el almidón el entrecruzamiento no se efectúa fuertemente.

A pesar de la reacción lenta de la epiclorhidrina y del trimetafosfato de sodio, en general el entrecruzamiento entre las cadenas del gránulo de almidón ocasionó que los almidones en todos los casos mostraran estabilidad al calentamiento y a la esfuerzo de corte durante la etapa de cocción (95 °C) en la cual los almidones entrecruzados no presentan rompimiento de la estructura.

Durante esta etapa de cocción los almidones entrecruzados no presentaron disminución de los valores del torque mientras que los almidones nativos presentaron disminución del torque, lo cual es respuesta de la destrucción de la estructura granular. Esto indica que el entrecruzamiento reforzó la estructura del gránulo haciéndola resistente al calentamiento prolongado. En esta etapa de cocción la respuesta del torque de las dispersiones de almidón está dada por la lixiviación de la amilosa y la ruptura de los gránulos de almidón por efecto de la cizalla. Adicionalmente, el hecho de que los almidones entrecruzados no mostraron rompimiento de la estructura granular, indica que probablemente la solubilidad y el hinchamiento del almidón de plátano se vean restringidos por el entrecruzamiento (Cooreman, 1995; Liu *et al.*, 1999).

VIII. CONCLUSIONES

La modificación química incrementó la fracción de ADL en el almidón de plátano de ambas variedades. De la misma forma hizo una disminución en la cantidad de ADR.

Los almidones modificados y el nativo de ambas variedades presentaron un patrón de difracción de rayos X tipo B. En los almidones modificados no se incrementó el porcentaje de cristalinidad en comparación con el nativo.

Las modificaciones alteraron el orden estructural en el almidón de plátano macho y roatán, por lo tanto, disminuyeron la temperatura y entalpía de gelatinización y retrogradación.

Las modificaciones restringieron el hinchamiento dando pastas menos viscosas lo cual nos da una posible aplicación en industrias de la panificación.

Las modificaciones químicas realizadas en los almidones de las variedades macho y roatán incrementaron la cantidad de almidón resistente, dando posibilidad para uso alimenticio.

IX. BIBLIOGRAFÍA

AACC. (1984). Approved Methods of Analysis. Ed. American Association of Cereal Chemist. St. Paul. MN.

AACC, (2000). Approved Methods of the AACC, 10th Ed. The Association: St. Paul, MN.

Annison, G., and Topping. (1994). Nutritional role of resistant starch: chemical structure vs physiological function. *Annual Review Nutrition*. 14: 297-320.

Aparicio-Saguilán, A., Sayago-Ayerdi, S.G., Vargas-Torres, A., Tovar, J., Ascencio-Otero, T. E., and Bello-Pérez, L. A. (2007). Slowly digestible cookies prepared from resistant starch-rich lintnerized banana starch. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20: 175–181.

Aparicio-Saguilán, A., Gutierrez-Meraz, F., García-Suarez, F. J., Tovar, J., and Bello-Pérez, L. A. (2008). Physicochemical and functional properties of cross-linked banana resistant starch. Effect of pressure cooking. *Starch/Stärke*. 60: 286–291.

Asp, N. G., and Björck, I. (1992). Resistant Starch. *Trends in Food Science and Technology*. 3: 111–114.

Asp, N. G., Van Amelsvoort J. M. M., and Hautvast J. G. A. (1996). Nutritional Implications of resistant starch. *Nutritional Research Reviews*. 9: 1–31.

AOAC, (1980). Official Methods of Analysis. 10 th. Association of Official Analytical Chemists. Washington. DC.

Bao, J., Xing, J., Phillips, D.L., and Corke, H. (2003). Physical properties of octenyl succinic anhydride modified rice, wheat, and potato starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 2283-2287.

Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., Sánchez-Hernández, L., and Paredes-Lopez, O. (1999). Isolation and partial characterization of banana starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 854-857.

- Bello-Pérez, L. A., Agama-Acebedo, E., Sáyago-Ayerdi, S. G., and Moreno-Damian, E. (2000a). Some structural, physicochemical and functional studies of banana isolated from two varieties growing in Guerrero, México. *Starch/Stärke*. 52: 68-73.
- Bello-Pérez, L. A., Contreras-Ramos, S. M., Jiménez-Aparicio, A., and Paredes-López, O. (2000b). Acetylation and characterization of banana (*Musa paradisiaca*) starch. *Acta Científica Venezolana*. 51: 143-149.
- Bello-Pérez, L. A., Contreras-Ramos, S. M., Romero-Manilla, R., Solorza-Feria, J., and Jiménez-Aparicio, A. (2002). Propiedades químicas y funcionales del almidón modificado de plátano *Musa paradisiaca* L. (var. Macho). *Agrociencia*. 36: 169-180.
- Bello-Pérez, L. A., De Francisco, A., Agama-Acevedo, E., Gutiérrez-Méraz, F., and García- Suárez, F. J. L. (2005). Morphological and molecular studies of banana starch. *Food Science and Technology International*. 11, (5): 367-372.
- Betancur, D. A. (2001). Caracterización molecular, nutrimental y funcional de almidones de *Phaseolus lunatus* y *Mucuna puriens*. Tesis de Doctorado. Escuela Nacional de ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México, D. F.
- Biliaderis, C. G., and J. Zawistowski. (1990). Viscoelastic behavior of aging starch gels: Effects of concentration, temperature, and starch hydrolysates on network properties. *Cereal Chemistry*. 67, (3): 240-246.
- Biliaderis, C.G. (1991). The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 69: 60-78.
- Bjorck, I. (1996). Starch: Nutritional Aspects, Cap. 11. En: *Carbohydrates in Food*. Charlotte-Eliasson, A. Ed. University of Lund, Sweden. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Bonilla, A., and Morúa, G. (2001). Extracción y caracterización parcial del almidón de banano verde utilizando una pectinasa, *Revista del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, Volumen 8, Universidad de Costa Rica.
- Bornet, F. (1993). Technological treatments of cereals. Repercussions on the physiological

properties of starch. *Carbohydrate Polymers*. 21: 195-203.

Buleón, A., Myllärinen, P., Lahtinen, R., and Forssell, P. (2002). The crystallinity of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers*. 48: 41-48.

Carlos-Amaya, F., Osorio-Díaz, P., Agama-Acevedo, E., Yee-Madeira, H., and Bello-Pérez L.A. (2011). Physicochemical and digestibility properties of double-modified banana (*Musa paradisiaca* L.) starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59: 1376-1382

Carmona-García, R., Sánchez-Rivera M., M., Méndez-Montevalvo, G., and Garza-Montoya, B. (2009). Effect of the cross-linked reagent type on some morphological, physicochemical and functional characteristics of banana starch (*Musa paradisiaca*). *Carbohydrate Polymers*. 76: 117-122.

Cassidy A., Bingham S. A., and Cummings J. H. (1994). Starch intake and colorectal cancer risk: an international comparison. *British Journal of Cancer*. 69: 937-942.

Champ, M., Langkilde, A. M., Brouns, F., Kettlitz, B., and Bail-Collet, Y. L. (2003). Advances in dietary fibre characterization. 2. Consumption, chemistry, physiology and measurement of resistant starch; implications for health and food labelling. *Nutrition Research Reviews*. 16: 143-161.

Chávez M. M., Hernández M., and Roldán J. A. (1992). Tablas de uso práctico del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. Comisión Nacional de Alimentación del Instituto Nacional de Nutrición.

Chung, H.J., Shin, D.H., and Lim, S.T. (2008). In vitro starch digestibility and estimated glycemic index of chemically modified corn starches. *Food Research International*. 41: 579-585.

Clausen, M. R. (1995). Butyrate and colorectal cancer in animals and in humans. *European Journal of Cancer Prevention*. 4: 483-490.

Colonna, P., Leloup, V., and Buleón, A. (1992). Limiting factors of starch hydrolysis.

European Journal of Clinical Nutrition. 46, (2): S17-S32.

Cooreman, L., F., Rensburg, Van H., and Delcour, J., A. (1995). Pasting profiles and solubility of native and cross-linked corn starch in dimethylsulfoxide-water mixtures. *Journal of Cereal Science*. 22: 251-257.

Cummings, J. H., and MacFarlane, G. T. (1991). The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *Journal of Applied Microbiology*. 70: 443-459.

Eerlingen, R. C., and Delcour, J. A. (1995). Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. *Journal of Cereal Science*. 22: 129– 38.

Ege, S. (2003) *Química orgánica: Estructura y reactividad*. Editorial Reverté. S.A. 2: 1283-1284.

Englyst, H. N. and Cummings, J. H. (1986). Digestion of the carbohydrates of banana (*Musa paradisiaca sapientum*) in the human small intestine. *American Journal of Clinical Nutrition*. 44: 42–50.

Englyst H.N., Kingman S.M., and Cummings J.H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*. 46: S33 – S50.

Englyst K. N., and Englyst H. N. (2005). Carbohydrate bioavailability. *British Journal of Nutrition*. 94: 1-11.

Espinosa-Solís, V., Sanchez-Ambriz, S. L. Hamaker R. B. and Bello Pérez, L. A. (2011). Fine structural characteristics related to digestion properties of acid-treated fruit starches. *Starch/ Stärke*. 63: 717–727.

EURESTA. (1992). European flour action concerted on resistant starch. *EURESTA Newsletter III*: 7.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), (2003). FAOSTAT statistics database (last updated May 2004), Agriculture, Rome, Italy.

Flores-Gorosquieta, E. (2004). Obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de plátano empleando un reactor enzimático a nivel planta piloto. Tesis de Maestría. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del Instituto Politécnico Nacional. Yautepec, Morelos, México. 34.

González-Soto, R. A., Agama-Acevedo, E., Solorza-Feria, J., Rendón-Villalobos, R., and Bello-Pérez, L. A. (2004). Resistant Starch Made from Banana Starch by Autoclaving and Debranching. *Starch/Stärke*. 56: 495-499.

Goñi I., Martín-Carrón N., and García-Alonso A. (1997). Funcionalidad de los almidones de la dieta. Digestión y fermentación. *Alimentaria*. 65-69.

Han, J-A., and BeMiller, J., N. (2008). Effects of protein on crosslinking of normal maize, waxy maize, and potato starches. *Carbohydrate Polymers*. 73: 532-540.

Hasjim, J., and Jay-Lin, J. (2009). Production of Resistant Starch by Extrusion Cooking of Acid-Modified Normal-Maize Starch. *Journal of Food Science*. 74: 556-562.

Hertzler, S. R., and Saviano, D. A. (1996). Colonic adaptation to daily lactose feeding in lactose maldigesters reduces lactose intolerance. *American Journal of Clinical Nutrition*. 64: 232-236.

Hirsch, J., B., and Kokini, J., L. (2002). Understanding the mechanism of cross-linking agents (POCl₃, STMP y EPI) through swelling behaviour and pasting properties of cross-linking waxy maize starches. *Cereal Chemistry*. 79, (1):102-107.

Hizukuri, S., Takeda, Y., and Yasuda, M. (1981). Multi branched nature of amylose and the action of debranching enzymes. *Carbohydrate Research*. 94: 205-213.

Hizukuri, S. (1986). Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins, and its significance. *Carbohydrate Research*. 147: 342-347.

Holm J., Bjorck I., Asp N. G., Sjoberg L. B., and Lundquist I. (1985). Starch availability in vitro and in vivo after flaking, steam-cooking and popping of wheat. *Journal of Cereal Science*. 3: 193-200.

Hoover, R., and Ratnayake, W. S. (2002). Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. *Food Chemistry*. 78: 489-498.

Hoover R., and Zhou Y. (2003). *In vitro* and *in vivo* hydrolysis of legume starches by α -amylase and resistant starch formation in legumes- a review. *Carbohydrate Polymers*. 54: 401-417.

Hui, R., Qi-he, C., Ming-liang, F., Qiong, X., and Guo-qing, H. (2009). Preparation and properties of octenyl succinic anhydride modified potato starch. *Food Chemistry*. 114: 81-86.

Imberty, A., Buleón, A., Tran, V., and Pérez, S. (1991). Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch/Stärke*. 43, (10): 375-384.

Imberty, A., and S. Pérez. 1988. A revisit to the three-dimensional structure of B-type starch. *Biopolymers*. 27: 1205-1221.

International Starch Institute. 1999. [En línea] Disponible: [http://www. Internaional Starch Institute.com](http://www.InternationalStarchInstitute.com), 27 de Enero 2013.

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), (2006). Tabla de composición de alimentos de Centroamérica. Guatemala: INCAP.

Jane, J., Xu, A., Radosavljevic, M., and Seib, P.A. (1992). Location of amylose in normal starch granules. I. Susceptibility of amylose and amylopectin to cross-linking reagents. *Cereal Chemistry*. 69, (4): 405-409.

Jenkins D. J. A., Wolever T. M. S., Collier G. R., Ocana A., Rao A. V., Buckley G., Lam Y., Mayer A., and Tompson L. U. (1987). Metabolic effects of a low-glycemic-index diet. *American Journal of Clinical. Nutrition*. 46: 968-975.

Jiang, T., and Savaiano, D. A. (1997). *In vitro* lactose fermentation by human colonic bacteria is modified by *Lactobacillus Acidophilus* supplementation. *Journal of Nutrition*. 127: 1489-1495.

- Jyothi, N., A., Moorthy N., S., and Rajasekharan, N., K. (2006). Effect of cross-linking with epichlorohydrin on the properties of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch. *Starch/Stärke*. 58: 292-299.
- Karaoglu D., Kelleher DJ., and Gilmore R. (2001) Allosteric regulation provides a molecular mechanism for preferential utilization of the fully assembled dolichol-linked oligosaccharide by the yeast oligosaccharyltransferase. *Biochemistry*. 40, (40):12193-206.
- Kasemsuwan, T., Jane, J. L., Leas, S., Zobel, H., and Robyt, J. F. (1994). Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. *Starch/Stärke*. 46: 121-129.
- Lajolo F. M., and Wenzel M. E. (2006). *Carbohidratos en alimentos regionales iberoamericanos*. Editora da Universidade, São Paulo, Brasil.
- Langkilde, A. M., Arrigoni, E., Brouns., F., Verkooyen, I., Fässler, C., Andersson, H., Kettlitz, B., van Nieuwenhoven, M., Philipsson, H., and 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.
- Lehmann U., and Robin F. (2007). Slowly digestible starch—its structure and health implications: a review. *Food Science and Technology*. 18: 346-355.
- Light, M., J. (1990). *Modified food starches: Why, What, Where and How*. National starch and Chemical Co. Bridgewater, N J.
- Lineback, D. R. (1984). The starch granule organization and properties. *Bakers Digest*. 13: 16-21.
- Liu, Q. (2005). Understanding starches and their role in foods. In: *Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications*, Cui, S., W. (Ed) Taylor & Francis, Inc. 7: 314-323.
- Liu, H., Ramsden, L., and Corke, H. (1999). Physical properties of cross-linked and acetylated normal and waxy rice starch. *Starch/Stärke*. 51(7): 249-252.

Lutz, T., and Scharrer, E. (1991). The colonic flora, fermentation, and large bowel digestive function. In the Large Intestine: Physiology, Pathophysiology and Disease, eds. S. F. Philips, J. H. Pemberton and R. G. Shorter. Mayo foundation, Raven Press, Nueva York. 51-92.

MacAllister, R. V. (1979). Nutritive sweeteners made from starch. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, Vol. 36. In: S. Tipson and D. Horton (Eds), Academics Press, New York, USA.

MacIntyre, A., Gibson, P. R., and Young, G. P. (1993). Butyrate production from dietary fiber and protection against large bowel cancer in a rat model. Gut. 34: 386-391.

Millán-Testa, C. E., M. G. Méndez-Montealvo, M. A. Otthenhof, I. A. Farhat., and L. A. Bello-Pérez. (2005). Determination of the molecular and structural characteristics of okenia, mango and banana starches. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 495-501.

Moore, C. O., TuschHoff, J. V., Hastings, C. W., and Schanefelt, R. V.(1984). Applications of starches in foods. In Starch: Chemistry and Technology, ed. R. L. Whistler. Academic Press, Inc. New York, 575-591.

Moreno J.D. (2000). Calidad de la papa para usos industriales. Boletín de la papa 2:1-7.

Morikawa, K., and Nishinari, K. (2000). Rheological and DSC studies of gelatinization of chemically modified starch heated at various temperatures. Carbohydrate Polymers. 43: 241-247.

Mutungi, C., Rost, F., Onyango, C., Jaros, D., and Rohm, H. (2009). Crystallinity, Thermal and Morphological Characteristics of Resistant Starch Type III Produced by Hydrothermal Treatment of Debranched Cassava Starch. Starch/Stärke. 61: 634-645.

Oates, C. G. (1997). Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. Trends in Food Science and Technology. 81: 375-382.

Ostergard, K., Gunnarson, A., and Bjorck, I. (1988). A Study of Native and Chemically

Modified Potato Starch. Part II. Digestibility in the Rat Intestinal. *Starch/Stärke*. 41: 128-134.

Paredes-López O., Bello-Pérez L. A., and López M. G. (1994). Amylopectin: structural, gelatinization and retrogradation studies. *Food Chemistry*. 50: 411–418.

Parker, R., and Ring, S. G. (2001). Aspects of the physical chemistry of starch. *Journal of Cereal Science*. 34: 1-17.

Perera, C., Hoover, R., and Martin, A. M. (1997). The effect of hydroxypropylation on the structure and physicochemical properties of native, defatted and heat-moisture treated potato starches. *Food Research International*. 30: 235-247.

Perera, C., Shahidi, F., Hoover, R., and Chavan, U. D. (1999). Characterization of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) Starch. *Food Chemistry*. 65: 61-70.

Plan Rector Sistema Producto Plátano del Estado de Oaxaca, 2012.

Polesi L. F., and Silveira-Sarmento S. B. (2011). Structural and physicochemical characterization of RS prepared using hydrolysis and heat treatments of chickpea starch. *Starch/Stärke*. 63: 226-235.

Remesy, C., Levrat, M-A., Gamet, L., and Demigné C. (1993). Cecal fermentations in rats fed oligosaccharides (inulin) are modulated by dietary calcium level. *American Journal of Physiology*. 264: 855-862.

Robin, J.P., Mercier, C., Charbonniere, R., and Guilbot, A. (1974). Litnerized starches. Gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. *Cereal Chemistry*. 51: 389-406.

Rodríguez-Marín, M.L., Núñez-Santiago, C., Wang, Y.J., and Bello-Pérez, L.A. (2010). Physicochemical and structural characteristics of cross-linked banana starch using three cross-linking reagents. Article in press.

Rombeau, J. L., and Velázquez, O. C., Lederer, H. M. (1996). Butyrate and the colonocyte.

Implications for neoplasia. *Digestive Diseases Science*. 41: 727-739.

Röper, H. (1996). Starch: present use and future utilization. In: *Carbohydrates as Organic Raw Materials III*. vanBerkum, H., Röper, H. And Voragen, F. Eds. CRF, Carbohydrate Research Foundation, Wageningen, The Netherlands. 17-35

Ruíz, O. M., Nieto, R.D., and Larios, R. I. (1985). *Botánica*. Décimo Sexta Edición. Editorial Eclalsa. 101-142.

Sang, Y., Prakash, O., and Seib, P., A. (2007). Characterization of phosphorylated cross-linked resistant starch by ³¹P nuclear magnetic resonance (³¹P NMR) spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*. 67: 201-212.

Sang-Ho, Y., and Jay-Lin, J. (2002). Structural and physical characteristics of waxy and other wheat starches. *Carbohydrate Polymers*. 49: 297-305.

Scheppach, W. Bartram, P., Richter, A., Richter, F., Dusel, G., Liepold, H., Hofstetter, G., Ruthlein, J., and Kasper, H. (1992). Effect of short chain fatty acids on the human colonic mucosa in vitro. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 16: 43-48.

Schoch, T.J. (1964). Swelling power and solubility of granular starches. In: *Methods in Carbohydrates Chemistry*. 4: 106-108.

Shin, M., Woo, K., and Seib, P. (2003). Hot-water solubilities and water sorptions of resistant starches at 25 °C. *Cereal Chemistry*. 80: 564–566.

Singh, J., Kaur L., and Mc Carthy O.J. (2007). Factors influencing the physic-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-review. *Food Hydrocolloids*. 21: 1-22

Sievert, D., Czuchajowska, Z., and Pomeranz, Y. (1991). Enzyme Resistant Starch. III. X-Ray Diffraction of Autoclaved Amilomaize VII Starch and Enzyme-Resistant Residues. *Cereal Chemistry*. 68: 86-91.

Skrabanja V., Liljeberg H., Hedley C., Kreft I., and Björck I. (1999). Influence on genotype

and processing on in vitro rate starch hydrolysis and resistant starch formation in peas (*Pisum sativum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, (5): 2033–2039.

Skude, G., and Ihse, I. (1976). Salivary amylase in duodenal aspirates. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 11-17.

Song, X., He, G., Ruan, H., and Chen, Q. (2006). Preparation and properties of octenyl succinic anhydride modified early Indica rice starch. *Starch/Stärke*, 58: 109-117.

Tobin, G., and Muller, H. G. (1988). *Nutrición y ciencia de los alimentos*. Primera Edición. Editorial Acribia, S. A. 171-173.

Topping, D. L., and 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.

Tovar, J., Herrera, E., Laurentín, A., Melito, C., and Pérez, E. (1999). *In vitro* digestibility of modified starches, In *Recent Research Advances in Agricultural and Food Chemistry Vol. 3* (Ed. S.G. Pandalai) Research Signpost, Trivandrum. 1-10.

Van Munster, I. P., and Nagengast, F. M. (1993). The role of carbohydrate fermentation in colon cancer prevention. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 28: 80-86.

Van Soest, J. J. G., and Knooren, N. (1997). Influence of glycerol and water content on the structure and properties of extruded starch plastic sheets during ageing. *Journal of Applied Polymer Science*. 64: 1411-1422.

Wang, L. Z., and White, P. J. (1994) Structure and properties of amylose, amylopectin and intermediate materials of oat starches. *Cereal Chemistry*. 71: 263-268.

Woo, K.S., and Seib, P.A. (2002). Cross-Linked Resistant Starch: Preparation and Properties. *Cereal Chemistry*. 79, (6): 819-825.

Wu, Y., and Seib, P. A. (1990). Acetylated and hidroxypopilated distarch phosphates from waxy barley: paste properties and freeze-thaw stability. *Cereal Chemistry*. 67, (2): 202-208.

- Würsch, P. (1999). Production of resistant starch. In *Complex Carbohydrates in Foods*. eds. S. Sungsoo-Cho, L. Prosky and M. Dreher. Marcel Dekker Inc., New York. 385-394.
- Wurzburg, O. B. (1986a). Nutritional aspects and safety of modified food starches. *Nutrition Reviews*. 44: 74-79.
- Wurzburg, O. B. (1986b). Cross-linked starches. In: *Modified starches: Properties and uses*. O. B. Wurzburg (Ed.), Boca Raton, FL: CRC Press. 41-53.
- Wurzburg, O.B., and Vogel, W.F. (1984). Modified starch-safety and regulatory aspects. In: *Gums and stabilizers for the food industry 2*. Phillips, G.O., Wedlock, D.J. and Williams, P.A. (eds). Pergamon Press: Oxford, England. 406-415.
- Yook, C., Pek, Un-Hua., and Park, Kwan-Hwa. (1993). Gelatinization and retrogradation Characteristics of hydroxypropylated and cross-linked rices. *Journal of Food Science*. 58, (2): 405-407.
- Yoshimura, M., Takaya, T., and Nishinari, K.,(1996). Effects of konjac-glucomannan on the gelationisation and retrogradation of corn starch as determined by rheology and differential scanning calorimetry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 2970-2976.
- Yuan, R.C., Thompson, D.B., and Boyer, C.D. (1993). The fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from three wx-containing genotypes in two inbred lines. *Cereal Chemistry*. 70: 81-89.
- Zamudio-Flores, P.B. (2005). Elaboración de películas degradables de almidón de plátano: evaluación de sus propiedades mecánicas y de barrera. Tesis de Maestría. CeProBi-IPN. Yautepec, Morelos, México.
- Zamudio-Flores, P. B., Vargas-Torres, A., Pérez-González, J., Bosquez-Molina, E., and Bello-Pérez, L. A. 2006. Films prepared with oxidized banana starch: Mechanical and barrier properties. *Starch/Stärke*. 58: 274-282.
- Zhang, P., BeMiller, J. N., Whistler, R. L., and Hamaker, B. R. (2005). Banana starch:

production, physicochemical properties, and digestibility a review. Carbohydrate Polymers. 59: 443-458.

Zobel, H.F. (1988). Molecules to granules: a comprehensive starch review. Starch/Stärke. 40: 44-50.

ANEXO I

Determinación de amilosa aparente y amilosa total

Utilizando el método propuesto por Hoover & Ratnayake, 2002, el cual se basa en la afinidad que tiene la amilosa para formar complejos con yodo.

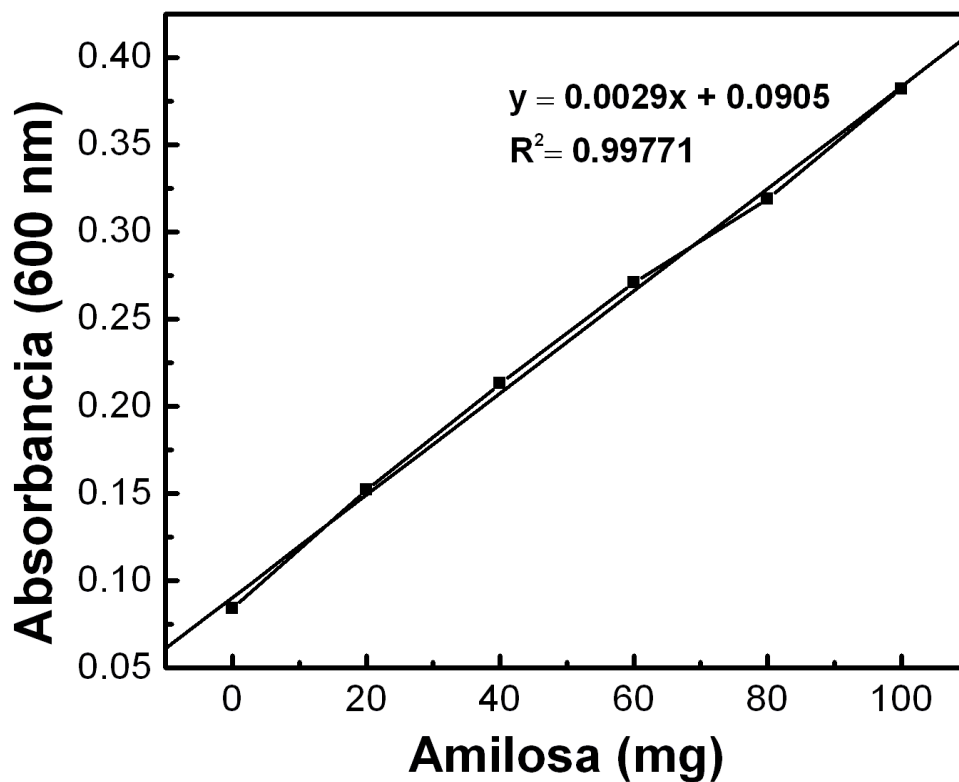


Figura 20. Curva patrón de amilosa de papa

Para el cálculo del contenido de amilosa en la muestra se realizó una curva patrón de amilosa de papa obtenida con un análisis de regresión lineal.

ANEXO II

Determinación de almidón total

La determinación del contenido de almidón total se fundamenta en cuantificar la glucosa liberada como resultado de la hidrólisis enzimática con amiloglucosidasa, la cual hidroliza los enlaces glucosídicos α -(1,4) y α -(1,6) de las cadenas de amilosa y amilopectina, según el método propuesto por Goñi *et al.*, 1997.

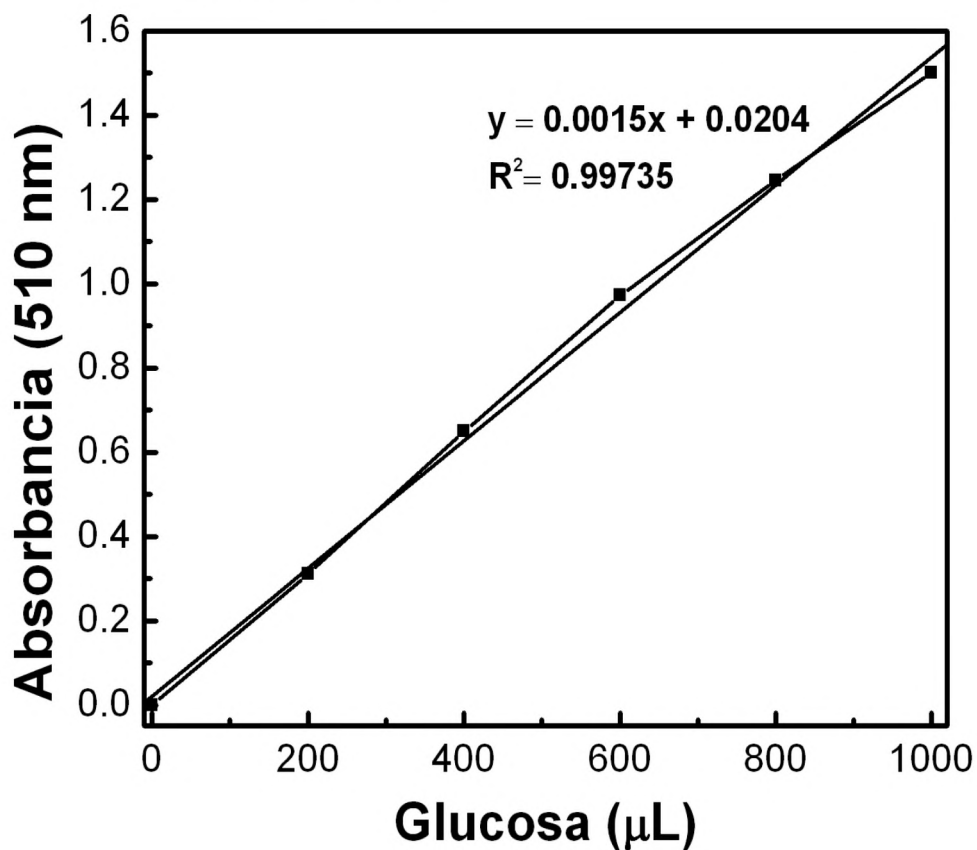


Figura 21. Curva patrón de glucosa

Las muestras fueron analizadas a la par con una curva patrón de glucosa determinada a partir de un análisis de regresión lineal. El porcentaje de almidón total se calculó utilizando la ecuación 5.

ANEXO III

Determinación de ARD, ADL y AR

Las fracciones de almidón Almidón de rápida digestión (ARD), almidón de lenta digestión (ADL) y almidón resistente (AR), fueron determinadas de acuerdo a la digestión completa o incompleta en el intestino delgado, siguiendo la metodología propuesta por Englyst *et al.*, 1992.

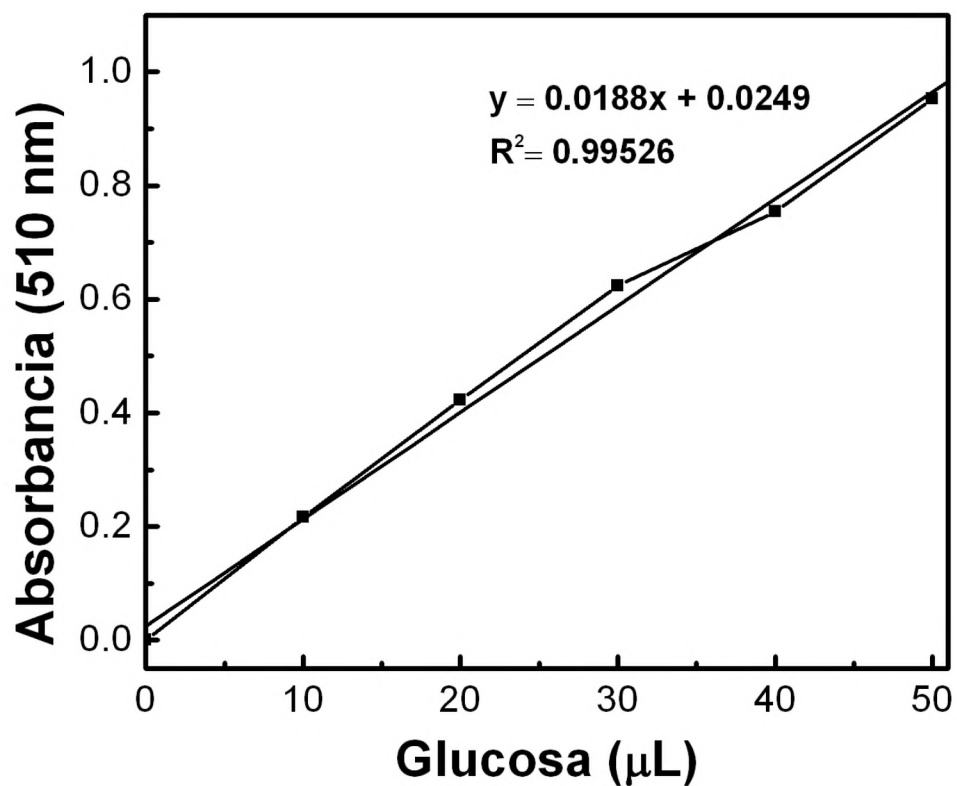


Figura 22. Curva patrón de glucosa

Las muestras fueron analizadas a la par con una curva patrón de glucosa determinada a partir de un análisis de regresión lineal. Las fracciones de almidón se determinaron con las ecuaciones 7, 8 y 9 respectivamente.