



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**

---

**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA  
ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA**

**Optimización del proceso de hidrólisis ácida del  
almidón de yuca cerosa y su succinatación,  
para la elaboración de emulsiones estabilizadas  
por sólidos**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
QUÍMICO EN ALIMENTOS**

**P R E S E N T A**

**HÉCTOR GIOVANI VÁZQUEZ GARCÍA**

**DIRECTOR:**

**Dr. CARLOS ALBERTO GÓMEZ ALDAPA**

**CO-DIRECTORA:**

**M. en C. HEIDI ANDREA FONSECA FLORIDO**



**MINERAL DE LA REFORMA, HGO. 2016**



El presente trabajo de investigación, fue realizado en el laboratorio de Físicoquímica de Alimentos 1 del Área Académica de Química (AAQ) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, y en el laboratorio del Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Unidad Querétaro, Instituto Politécnico Nacional, bajo la dirección del Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa y la codirección de la M. en C. Heidi Andrea Fonseca Florido.

*“Para formar un carácter, se necesita tres condiciones reunidas: un ideal, convicciones inquebrantables y una voluntad constante. No es la ciencia ni la fuerza física la que distingue al hombre, es el carácter”*

*Justo Alonso Torres*

## DEDICATORIA

*Dedico esta tesis a mi familia...*

*A mi mamá Susana Eugenia García Alonso y a mi papá Héctor Francisco Vázquez Hernández, a quienes agradezco infinitamente por su apoyo en cada momento de mi formación en la universidad, pero sobre todo por brindarme su confianza, sin ustedes no hubiera logrado vencer todas aquellas pruebas que la vida ponía en mi camino. Gracias porque a pesar de los errores cometidos como persona, y el dolor que les cause en su momento, su amor incondicional me mantuvo de pie para llegar a ser lo que soy actualmente.*

*A mi hermano Jean Alejandro Vázquez García, por soportar todas mis locuras, darme la fortaleza de continuar en este camino pese a todos los obstáculos, y enseñarme que los retos siempre se pueden enfrentar sin tenerles miedo, gracias a ti también logré ser Licenciado en Nutrición.*

*A mi tía Clara Bertha Vázquez Hernández y Sandra Elisa García Alonso, por ser como una segunda madre, por siempre motivarme a no darme por vencido en aquellos momentos de debilidad, su cariño y amor permitieron que lograra enfrentar mis miedos demostrando lo mejor de mí.*

*A mis primos Sandra, Gerardo, Beto, Rocío, Jean, a quienes les agradezco por estar a mi lado cuando los necesitaba.*

*A mi abuelita María Eugenia Alonso Lujan, a quien le agradezco por escucharme cuando más necesitaba de alguien, por estar al pendiente de mí, acompañarme en los momentos más importantes de mi estancia en la universidad y por darme sus consejos en decisiones difíciles, pero sobre todo por brindarme un amor ciego pese a todos mis errores como nieto.*

*A mi abuelito Jorge Bruno García Solís (QEPD) a quien extraño demasiado y agradezco por hacerme el nieto más feliz en el tiempo que Dios le dio vida.*

*Con cariño... Giovanni*

## AGRADECIMIENTOS

*Al Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa por su confianza y el apoyo que me brindó cuando más lo necesita y abrirme las puertas para formar parte de su equipo de trabajo.*

*A Heidi Andrea, que en tan poco tiempo de conocernos me brindó su ayuda y conocimiento para sacar adelante este proyecto. Su motivación, me ayudó darme cuenta de lo interesante que es enfrentar la vida pese a todo lo desconocido.*

*A Gilberto Serrano, por ser esa fuerza que necesitaba para salir adelante, cuando no encontraba el camino correcto, tu amor durante todo este tiempo logró mantenerme firme en mis decisiones y no agachar la frente ante los demás.*

*A Mariana Hernández, por su amistad y confianza que a lo largo de este tiempo, por ser una amistad sincera, llena de emociones felices y tristes, pero siempre mostrando responsabilidad para salir adelante juntos.*

*A mis amigas y amigos que siempre han estado conmigo en los buenos y malos momentos de mi vida: Itzel, Jair, Ana, Eve, Juan, Aldahir, Vania, Liz, Paty y Pancho. Grandes aventuras compartimos juntos, sin duda alguna conservaré siempre esos gratos momentos.*

*A todas las personas que han sido parte de mi formación personal y académica.*

<b>ÍNDICE GENERAL</b>	<b>PÁGINA</b>
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. ANTECEDENTES .....	3
1. ALMIDÓN.....	3
1.1 Generalidades del almidón .....	3
1.2 Estructura del gránulo de almidón.....	4
1.3 Composición molecular .....	4
1.4 Organización del gránulo de almidón.....	7
1.5 Modificación del almidón.....	8
1.5.1 Tipos de modificaciones del almidón .....	8
1.5.1.1 Hidrólisis ácida del almidón.....	9
1.5.1.2 Esterificación del almidón por grupos OSA.....	11
2. EMULSIONES.....	12
2.1 Tipos de emulsificantes.....	14
2.2 Mecanismos que contribuyen a la inestabilidad de las emulsiones .....	15
3. Emulsiones estabilizadas por sólidos o tipo “Pickering” .....	16
3.1 Estabilidad de emulsiones tipo Pickering .....	18
3.1.1 Fuerzas de Van der Waals.....	19
3.1.2 Fuerzas electrostáticas .....	19
3.1.3 Impedimento estérico.....	21
4. Almidón de yuca cerosa.....	22
III. JUSTIFICACIÓN .....	23
IV. OBJETIVOS.....	24
1. OBJETIVO GENERAL .....	24
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
1. MATERIALES .....	25
2. METODOLOGÍA .....	25
2.1 Microscopia electrónica de barrido.....	25
2.2 Proceso de hidrólisis del almidón de yuca cerosa.....	25
2.2.1 Hidrólisis ácida del almidón.....	25

2.2.2	Diseño experimental y análisis estadístico del proceso de hidrólisis .....	26
2.3	Optimización del poder de emulsificación del almidón de yuca cerosa hidrolizada.....	27
2.3.1	Elaboración de emulsiones tipo Pickering.....	27
2.3.2	Índice de emulsificación .....	28
2.3.3	Determinación del potencial Z.....	28
2.3.4	Tamaño de partícula .....	28
2.3.5	Optimización .....	28
2.4	Esterificación del tratamiento óptimo con anhídrido octenil succínico.....	29
2.4.1	Grado de sustitución (GS) en almidón succinatado .....	29
2.5	Espectroscopia de infrarrojo .....	30
2.6	Microscopía de luz de las emulsiones.....	30
2.7	Comportamiento reológico de las emulsiones .....	30
2.7.1	Determinación de las curvas de flujo .....	30
2.7.2	Pruebas de cizalla oscilatoria de baja amplitud.....	31
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	32
1.	Microscopía electrónica de barrido .....	32
2.	Evaluación de emulsiones elaboradas a partir de almidón de yuca cerosa hidrolizado.....	33
2.1	Elaboración de emulsiones tipo Pickering.....	33
2.1.1	Índice de emulsificación .....	35
2.1.2	Potencial Z.....	37
2.1.3	Tamaño de partícula .....	38
3.	Optimización del poder de emulsificación del almidón hidrolizado de yuca cerosa hidrolizado .....	42
4.	Modificación del almidón hidrolizado óptimo de yuca cerosa mediante succinación .....	45
4.1	Espectroscopia de infrarrojo .....	45
4.2	Microscopía de luz .....	47
4.3	Microscopía electrónica de barrido del gránulo de almidón de yuca cerosa hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA .....	49

4.4 Índice de emulsificación del almidón de yuca cerosa nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA.....	49
4.5 Potencial Z de las emulsiones con almidón de yuca cerosa nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA .....	52
4.6 Tamaño de partícula de las emulsiones con almidón de yuca cerosa nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA .....	53
4.7 Reología.....	55
VII. CONCLUSIONES .....	61
VIII. REFERENCIAS .....	62



<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>Figura 1.</b> Micrografías del gránulo de almidón de papa (1), maíz (2) y arroz (3).	5
<b>Figura 2.</b> Estructuras químicas básicas de la amilosa (A), molécula esencialmente lineal y amilopectina (B) una molécula ramificada, cuyas ramificaciones representan el 5% de sus enlaces totales.	6
<b>Figura 3.</b> Representación esquemática de la estructura del gránulo de almidón.	7
<b>Figura 4.</b> Mecanismo del proceso de hidrólisis ácida del almidón	11
<b>Figura 5.</b> Representación del almidón modificado OSA.	12
<b>Figura 6.</b> Tipos de estabilizadores de emulsiones.	14
<b>Figura 7.</b> Mecanismos que contribuyen a la inestabilidad de las emulsiones.	15
<b>Figura 8.</b> Partículas de almidón rodeando a la gotícula de aceite	18
<b>Figura 9.</b> Interacción de fuerzas de Van der Waals entre moléculas.	19
<b>Figura 10.</b> Fuerzas de atracción y repulsión.	20
<b>Figura 11.</b> Doble capa eléctrica.	21
<b>Figura 12.</b> Micrografías del gránulo de almidón nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA de yuca cerosa tomadas a 500X y 1500X.	32
<b>Figura 13.</b> Emulsiones con almidón hidrolizado de yuca cerosa al día 1 (1), 7 (2) y 14 (3).	34
<b>Figura 14.</b> Zonas de emulsión.	39
<b>Figura 15.</b> Tamaño de partícula de las emulsiones con almidón hidrolizado de yuca cerosa a diferentes días.	40
<b>Figura 16.</b> Efecto de la concentración de ácido clorhídrico (%) y tiempo de hidrólisis (h), sobre el índice de emulsificación a los 14 días.	43
<b>Figura 17.</b> Región óptima del proceso de hidrólisis ácida del almidón	45

de yuca cerosa para la elaboración de emulsiones.

<b>Figura 18.</b>	Espectro de infrarrojo de almidones modificados de yuca cerosa.	46
<b>Figura 19.</b>	Micrografías de luz de las emulsiones con almidones modificados de yuca cerosa a 20X (a) y 40X (b).	48
<b>Figura 20.</b>	Índice de emulsificación de las emulsiones con almidón nativo (1), hidrolizado óptimo (2) e hidrolizado óptimo/OSA (3) de yuca cerosa evaluados a 1, 7 y 14 días.	51
<b>Figura 21.</b>	Tamaño de partícula de las emulsiones con almidón nativo (1), hidrolizado óptimo (2) e hidrolizado óptimo/OSA (3) de yuca cerosa día 1.	55
<b>Figura 22.</b>	Curvas de flujo al día 0 (1) y 14 (2) de las emulsiones con almidón de yuca cerosa.	57
<b>Figura 23.</b>	Barrido de frecuencia a 0 (1) y 14 (2) días de las emulsiones con almidón de yuca cerosa.	60

ÍNDICE DE TABLAS	PÁGINA
<b>Tabla 1.</b> Características morfológicas de diferentes gránulos de almidón.	5
<b>Tabla 2.</b> Modificaciones en el almidón y sus usos en alimentos.	10
<b>Tabla 3.</b> Tratamientos empleados para el proceso de hidrólisis ácida del almidón.	26
<b>Tabla 4.</b> Diseño central compuesto, rotatable, con dos factores ( $\alpha=1.414$ ) para la hidrólisis ácida del almidón yuca cerosa.	27
<b>Tabla 5.</b> Resultados de índice de emulsificación de las emulsiones con almidón hidrolizado de yuca cerosa a diferentes días.	35
<b>Tabla 6.</b> Resultados de potencial Z (mV) de las emulsiones con almidón hidrolizado de yuca cerosa a diferentes días de las emulsiones.	38
<b>Tabla 7.</b> Análisis estadístico para las respuestas de índice de emulsificación (IE 14), a los 14 días de elaboración de las emulsiones con almidón hidrolizado de yuca cerosa.	43
<b>Tabla 8.</b> Coeficientes estimados del modelo ajustado y nivel de significancia para las respuestas de índice de emulsificación (IE 14), a los 14 días de elaboración de las emulsiones con almidón hidrolizado de yuca cerosa.	44
<b>Tabla 9.</b> Resultados de índice de emulsificación de las emulsiones con almidón nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA de yuca cerosa a diferentes días.	51
<b>Tabla 10.</b> Resultados de potencial Z (PZ) de las emulsiones con almidón nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA de yuca cerosa al día 1.	53
<b>Tabla 11.</b> Parámetros del modelo de Ostwald-de Waele (ley de la potencia) día 0 de las emulsiones con almidón de yuca cerosa.	57
<b>Tabla 12.</b> Parámetros del modelo de Ostwald-de Waele (ley de la potencia) día 14 de las emulsiones con almidón de yuca cerosa.	58

## I. INTRODUCCIÓN

El uso de pequeñas partículas sólidas, para la estabilización de emulsiones, ha sido ampliamente investigado, donde, destacan los trabajos realizados por Ramsden (1903) y Pickering (1907), quienes utilizaron partículas sólidas, encontrando que dichas partículas podrían absorberse sobre la interfase aceite/agua, estabilizando las emulsiones, fueron los pioneros en el campo. Diversos factores pueden contribuir a la estabilización de las emulsiones, como son: la concentración y la humectabilidad de la partícula, así como también, la forma y el tamaño de la misma; y el pH y la salinidad de la fase acuosa (Timgren y col., 2013; Bello-Pérez y col., 2015). Las emulsiones tipo Pickering o también conocidas como emulsiones estabilizadas por sólidos, a diferencia de otras emulsiones, estabilizadas con tensioactivos, presentan ventajas como es la alta estabilidad contra la coalescencia y la maduración de Ostwald (Marku y col., 2012), debido a la energía de absorción irreversible y la fuerte interacción partícula-partícula, creando una barrera interfacial densa (Aveyard y col., 2003; Li y col., 2013). Este tipo de emulsiones son utilizadas ampliamente en la industria de alimentos, farmacéutica y cosméticos, en las cuales, se emplean diferentes partículas sólidas como son, nanopartículas, silica, almidones modificados, almidones nativos, hidrocoloides, proteínas, entre otros (Binks, 2002; Aveyard y col., 2003).

Debido a que los almidones nativos, en algunas ocasiones, no cumplen con los requerimientos o necesidades para ser utilizados en la industria (BeMiller y Whistler, 2009; Fonseca y col., 2016), es necesario realizar una modificación sobre estos, la cual involucra tratamientos químicos, físicos y/o enzimáticos, con el objetivo de incrementar y mejorar sus características funcionales y desempeño en diferentes aplicaciones. Un tipo de modificación química, es la hidrólisis ácida, la cual modifica la estructura del gránulo de almidón, provocando un incremento en la despolimerización del mismo y la modificación en la carga superficial del gránulo. Otro tipo de modificación utilizada, es la incorporación de grupos OSA (octenil succinato anhidro), para proporcionar un carácter hidrofóbico al almidón y

mejorar sus propiedades como agente emulsificante (Bello-Pérez y col., 2015; Simsek y col., 2015).

En el caso de las emulsiones estabilizadas por sólidos, los almidones hidrofóbicos, modificados químicamente, juegan un papel importante, debido a su disponibilidad y bajo costo, reemplazando el uso de tensioactivos y emulsificantes, en bebidas, derivados lácteos, salchichas, galletas, entre otros; así como, en la reducción en el contenido de grasa, en algunos productos como la mayonesa (Gross, 2000; Plate y col., 2012; Sweedman y col., 2014).

## II. ANTECEDENTES

### 1. ALMIDÓN

#### 1.1 Generalidades del almidón

El almidón ocupa una posición única entre los carbohidratos utilizados en alimentos. Este polímero es el carbohidrato de reserva en plantas y es considerado el biopolímero natural más abundante después de la celulosa (Liu, 2008). El almidón constituye una fuente de energía, esencial para muchos organismos, especialmente el humano. Desde el punto de vista nutricional, el almidón es el principal componente de la dieta humana, representa una fracción importante en un gran número de productos agrícolas, como cereales (maíz, trigo y arroz), cuyo contenido de almidón oscila entre 30 y 80 %, leguminosas (frijol, chícharo y haba) de 25 a 50% de almidón, en tubérculos (papa y yuca), en los que el almidón representa entre un 60 a 90% de la materia seca (Hoseney, 1991).

Los almidones comerciales se obtienen de semillas de cereales, particularmente de maíz, maíz céreo, maíz rico en amilosa, trigo, varios tipos de arroz y de algunas raíces y tubérculos, particularmente papa, camote y tapioca, los cuales tienen diversos usos, debido a que las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los almidones varían, dependiendo de la fuente botánica de obtención (Singh y col., 2003; Srichuwong y col., 2005; Park y col., 2009).

Tanto los almidones nativos, como los modificados, tienen una gran diversidad de aplicaciones en los alimentos (Biliaderis, 1991; Obanni y BeMiller, 1997; Karam y col., 2005), así como también en la fabricación de pegamentos, pinturas, como agente floculante, material de “relleno”, materia prima en la industria farmacéutica, producción de edulcorantes de alta intensidad y sustitutos de grasa. En el ámbito ecológico, en la fabricación de plásticos biodegradables. También se ha probado su uso como un material que puede encapsular sustancias como proteínas,

sabores y olores, para su posterior liberación dentro de un producto alimenticio o farmacéutico (BeMiller y Whistler, 2009).

## 1.2 Estructura del gránulo de almidón

El almidón es sintetizado en forma de gránulos, semicristalinos, en cereales, raíces, tubérculos, hojas y frutos. Los gránulos de almidón muestran diferentes morfologías, incluyendo formas esféricas, ovaladas, poligonales, elongadas, etc., donde la morfología y estructura depende de la fuente botánica (Bello-Pérez y col., 2015). El almidón se deposita en los órganos de las plantas en forma de gránulos, relativamente densos, insolubles en agua, con un tamaño entre 1 y 100  $\mu\text{m}$ , por lo cual, son fácilmente extraídos de los órganos de almacenamiento de las plantas, esto a través de molienda húmeda o a través de la extracción química (Liu, 2008).

La variación morfológica y composición química en los gránulos de almidón, son características que afectan las propiedades funcionales (Tabla 1, Figura 1), así como también, su susceptibilidad al ataque enzimático o químico (Guzmán y Paredes, 1995). Los gránulos de almidón, al ser extraídos, presentan la apariencia de un polvo blanco e incoloro. En forma general, tienen una composición química con bajos contenidos de proteína, cenizas, lípidos, donde estos constituyentes juegan un papel importante en las propiedades funcionales del almidón (Agustiniano, 2004).

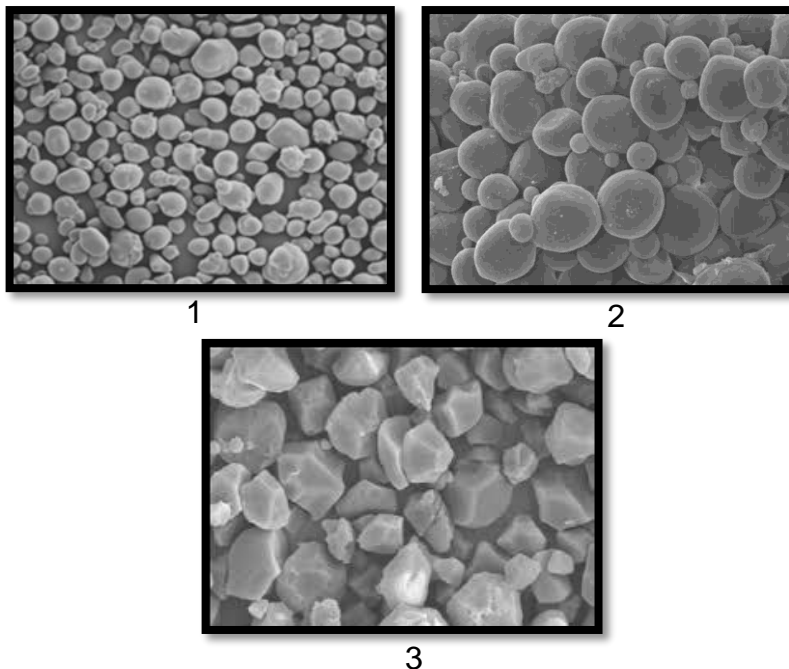
## 1.3 Composición molecular

El almidón, es un polisacárido que está constituido por 2 glúcidos de diferente estructura, amilosa y amilopectina. La amilopectina es una molécula altamente ramificada, constituida por unidades de glucosa, unidas mediante enlaces  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) y ramificaciones conectadas mediante enlaces  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6).

**Tabla 1.** Características morfológicas de diferentes gránulos de almidón

Fuente de almidón	Tamaño (µm)	Forma
Amaranto	0.8-2.5	Redonda
Maíz	1-20	Poliédrica
Papa	1-100	Ovalada irregular
Trigo	1-45	Ovalada, truncada
Arroz	2-24	Redonda, poligonal
Tapioca	4-35	Redonda, elíptica
Sorgo	1-35	Esférica
Yuca	10-35	Esférica, truncada
Cebada	23	Redonda, elíptica
Plátano	10-40	Elíptica
Sorgo	35	Esférica

Swinkels, 1985; Hoover, 2001; Sáyago-Ayerdi, 2004; Ceballos y col., 2007



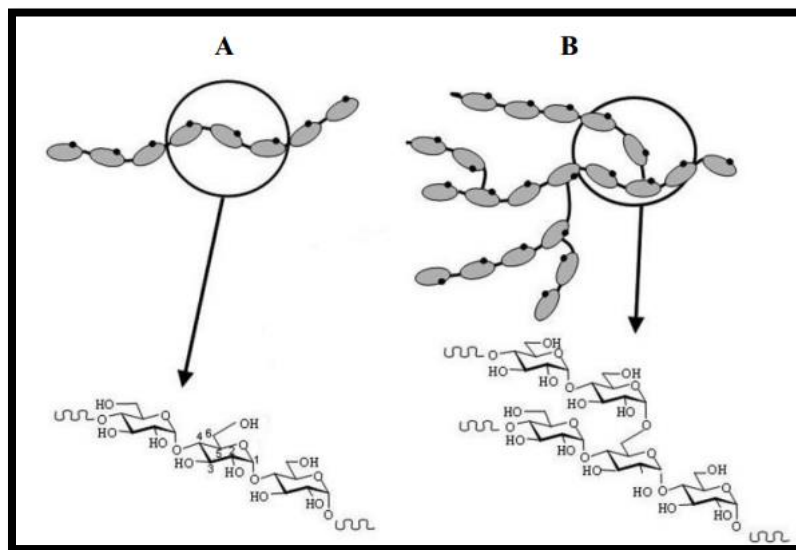
**Figura 1.** Micrografías del gránulo de almidón de papa (1), maíz (2) y arroz (3).

La amilosa, en su mayoría, es una molécula lineal, con enlaces  $\alpha$ -(1→4) y algunas pocas ramificaciones (Pérez y Bertoft, 2010) (Figura 2). Los gránulos del almidón deben su funcionalidad a los dos polisacáridos principales, amilosa y amilopectina,



así como a la organización física de estos al interior del gránulo (Paredes-López y col., 1994), ya que estos polímeros representan entre el 98 y el 99% del peso seco del gránulo de almidón.

La relación amilosa/amilopectina de estos dos polisacáridos varía de acuerdo a la fuente botánica, lo cual, dependiendo del contenido de amilosa, permite clasificar a los almidones como: cerosos o waxy (<2%), normales (20-30%) y ricos en amilosa (>50%) (Tester y col., 2004).



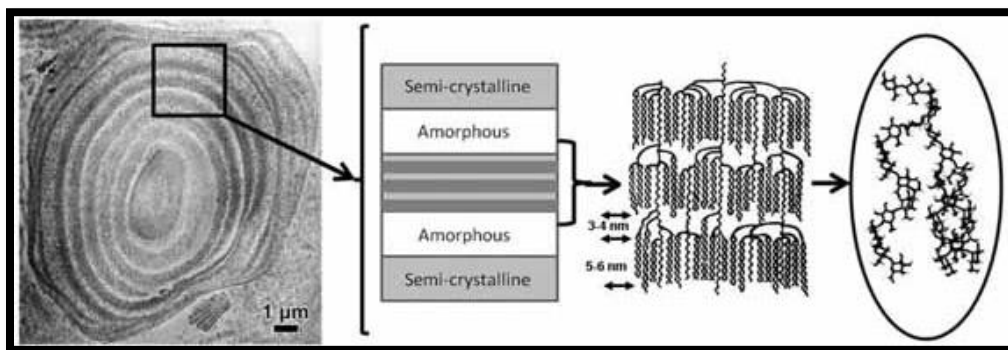
**Figura 2.** Estructuras químicas básicas de la amilosa (A), molécula esencialmente lineal y amilopectina (B) una molécula ramificada, cuyas ramificaciones representan el 5% de sus enlaces totales.

La amilopectina, es el componente mayoritario del almidón, se encuentra en una proporción de 70-80% (almidones normales), en ciertos casos alcanza niveles de hasta un 98-99%, este tipo de almidones, son definidos como cerosos (Zobel, 1988). Su estructura, composición y proporción en el gránulo, contribuyen notablemente en las propiedades funcionales del almidón, por esta razón, ha sido estudiada ampliamente, en términos de su tamaño molecular, ramificación y longitud de las cadenas internas y externas (Bello-Pérez y col., 2000).

## 1.4 Organización del gránulo de almidón

En términos moleculares, el gránulo de almidón, es una estructura altamente organizada. Cuando los gránulos son observados, bajo luz polarizada, aparece una cruz típica de birrefringencia, como dos bandas interceptándose (denominada cruz de Malta), la cual indica que existe un alto grado de orden molecular dentro del gránulo (Liu, 2008).

Los gránulos de almidón están constituidos por regiones amorfas y regiones semicristalinas (Figura 3). Las macromoléculas del almidón, presentan una organización radial, en la que el hilum, origen del crecimiento del gránulo, representa la región menos ordenada (Baker y col., 2001). La presencia de enlaces  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6), en la amilopectina, es responsable de la formación de zonas amorfas y cristalinas alternadas. Las estructuras de dobles hélices, formadas por cadenas adyacentes de amilopectina, dan lugar a la lámina cristalina, mientras que los puntos de ramificación, constituyen las láminas amorfas. Se ha sugerido que algunas moléculas de amilosa pueden estar localizadas en las regiones amorfas, interaccionando con las cadenas ramificadas de la amilopectina. Estas regiones amorfas del gránulo del almidón, son susceptibles a reacciones químicas, por tanto, éstas pueden ser removidas por acción de ácidos o pueden reaccionar con otros grupos funcionales. Las regiones amorfas, son los principales elementos estructurales responsables del hinchamiento del gránulo nativo (Liu, 2008).



**Figura 3.** Representación esquemática de la estructura del gránulo de almidón (Pérez y Bertoft, 2010).

## 1.5 Modificación del almidón

Los almidones modificados; son aquellos, a los que se les ha realizado algún tratamiento o proceso, para desarrollar propiedades funcionales deseables, tales como solubilidad, viscosidad, textura, adhesión, dispersión y tolerancia al calor (Kim y col., 1999). Las alteraciones toman lugar a nivel molecular, con un mínimo cambio en la apariencia superficial del gránulo, entre las modificaciones comúnmente utilizadas, se encuentran: entrecruzamiento, estabilización, hidrólisis ácida, oxidación, dextrinización, hidrólisis enzimática, sustitución lipofílica, pre gelatinización, tratamiento térmico, entre otros (Eliasson, 2004). El almidón modificado tiene numerosas aplicaciones funcionales en diversas áreas; confiriendo adhesión, evitando el endurecimiento, produciendo polvos, estabilizando emulsiones, encapsulando, facilitando el flujo, dando firmeza a espumas, melificando, glaseando, retirando humedad, moldeando, así como estabilizante y espesante (Light, 1990).

Los almidones modificados, proporcionan una mejora en la funcionalidad, consistencia y fiabilidad, para resistir las exigencias del moderno procesado alimentario, así como, satisfacer las demandas de alimentos innovadores y de alta calidad por parte del consumidor.

### 1.5.1 Tipos de modificaciones del almidón

Los almidones nativos de diferentes fuentes botánicas, presentan propiedades únicas, que son utilizadas por los procesadores de alimentos para necesidades específicas. Sin embargo, los almidones nativos, presentan ciertas limitaciones funcionales, en el amplio rango de aplicaciones de la industria alimentaria, ya que esta requiere que los almidones resistan las condiciones de procesamiento, de distribución, de almacenamiento y las condiciones finales del procesamiento, aplicadas por el consumidor.

La modificación es realizada para introducir funcionalidades específicas y para hacer que los productos preparados, sean más resistentes a las condiciones de calor, cizallamiento y pH (ácido), asociadas con las condiciones de procesamiento (BeMiller, 2003), para prevenir las tendencias de gelificación y de retrogradación (Morikawa y Nishinari, 2000). En la Tabla 2, se muestran ejemplos de las modificaciones más empleadas en el almidón.

### 1.5.1.1 Hidrólisis ácida del almidón

La hidrólisis ácida, ha sido utilizada para modificar la estructura de gránulo de almidón y producir "almidón soluble" durante muchos años (Kirchoff, 1871).

Para alcanzar este fin, se emplea ácido clorhídrico (HCl) o bien, ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se realiza una hidrólisis parcial, es decir, el ataque del ácido, se realiza inicialmente en las regiones amorfas del almidón, obteniendo geles más firmes a menores temperaturas, dependiendo de las condiciones de hidrólisis (tiempo, concentración y temperatura), se puede llegar inclusive, al ataque de las láminas cristalinas del gránulo de almidón (Hoover, 2000).

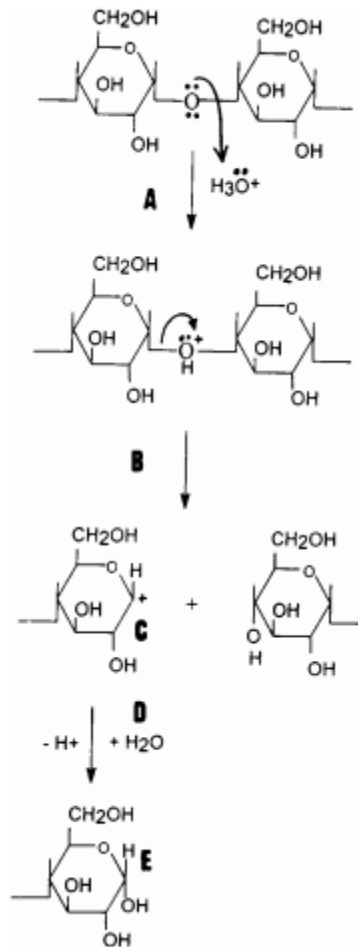
En la hidrólisis ácida, el ion hidronio (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>), lleva a cabo un ataque electrofílico en el átomo de oxígeno del enlace glucosídico α-(1→4) (Figura 4a). En el siguiente paso, los electrones, en uno de los enlaces carbono-oxígeno, se mueven sobre el átomo de oxígeno (Figura 4b), para generar un carbocatión de alta energía (carbocatión inestable) (Figura 4c). El carbocatión intermedio, es un ácido de Lewis, por lo que posteriormente reacciona con el agua (Figura 4d), una base de Lewis, lo que lleva a la regeneración de un grupo hidroxilo (Figura 4e) (Hoover, 2000). En la industria, los almidones modificados con ácidos (maíz, maíz ceroso, trigo, y yuca), son preparados, en forma general, por el tratamiento de una suspensión de almidón (40%) con HCl diluido o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 25-55 °C, durante diversos períodos de tiempo.

**Tabla 2.** Modificaciones en el almidón y sus usos en alimentos

Tipo de modificación	Propiedades	Usos
Almidones oxidados	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Más blancos</li> <li>- Más bajas temperaturas de gelatinización y formación de pastas</li> <li>- Geles más suaves y más claros</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rellenos de pasteles</li> <li>- Salsas</li> <li>- Aderezos</li> </ul>
Almidones estabilizados (hydroxipropilados o acetilados)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Más bajas temperaturas de gelatinización y formación de pastas</li> <li>- Mejorar la estabilidad en congelación-descongelación de pastas y geles</li> <li>- Disminución de la tendencia de gelificación y retrogradación de pastas y geles (mejora la estabilidad de las pastas)</li> <li>- Más fácil redispersibilidad cuando son pregelatinizados</li> <li>- Mayor claridad de las pastas y geles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fideos</li> <li>- Sopas</li> <li>- Rellenos</li> <li>- Salsas y aderezos</li> <li>- Alimentos enlatados</li> <li>- Alimentos congelados preparados</li> <li>- Yogur y cremas</li> </ul>
Almidones esterificados	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Incrementa las temperaturas de gelatinización y formación de pastas</li> <li>- Incrementa la resistencia al cizallamiento y la estabilidad ácida</li> <li>- Disminución de la tendencia de gelificación y retrogradación de pastas y geles (mejora la estabilidad de las pastas)</li> <li>- Incrementa la viscosidad de las pastas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rellenos de pasteles</li> <li>- Pudines</li> <li>- Salsas</li> <li>- Aderezos</li> </ul>
Almidones entrecruzados y estabilizados	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Más bajas temperaturas de gelatinización y formación de pastas, pero incremento en la viscosidad</li> <li>- Otros atributos de los productos entrecruzados y estabilizados</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Alimentos enlatados</li> <li>- Productos horneados</li> <li>- Productos congelados</li> </ul>
Almidones diluidos (depolymerizados)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Decrecimiento en la viscosidad de las pastas</li> <li>- Más bajas temperaturas de gelatinización y formación de pastas</li> <li>- Incrementa la solubilidad</li> <li>- Alto poder adhesivo y de absorción</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Productos de confitería</li> <li>- Carne procesada</li> <li>- Productos recubiertos</li> <li>- Quesos análogos</li> </ul>
Almidones de hidrólisis enzimática	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inhibición de la cristalización</li> <li>- Incremento de la dispersibilidad</li> <li>- Control en la congelación</li> <li>- Absorción</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reemplazadores de grasa</li> <li>- Encapsulación de sabores</li> <li>- Bebidas</li> <li>- Carnes</li> <li>- Panes</li> </ul>
Almidones pregelatinizados	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resistencia a altas temperaturas</li> <li>- Estabilidad en la viscosidad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rellenos de pasteles</li> <li>- Pudines</li> <li>- Salsas</li> <li>- Alimentos para bebés</li> </ul>
Almidones annealing y heat moisture treatment (HMT)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resistencia a altas temperaturas</li> <li>- Menor solubilidad</li> <li>- Menor viscosidad</li> <li>- Mayor resistencia al cizallamiento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Polvos instantáneos de alimentos</li> <li>- Salsas instantáneas</li> <li>- Postres instantáneos</li> <li>- Aperitivos extruidos</li> </ul>

Morikawa y Nishinari, 2000; BeMiller, 2003 Eliasson, 2004; Cui, 2005; BeMiller,

2005



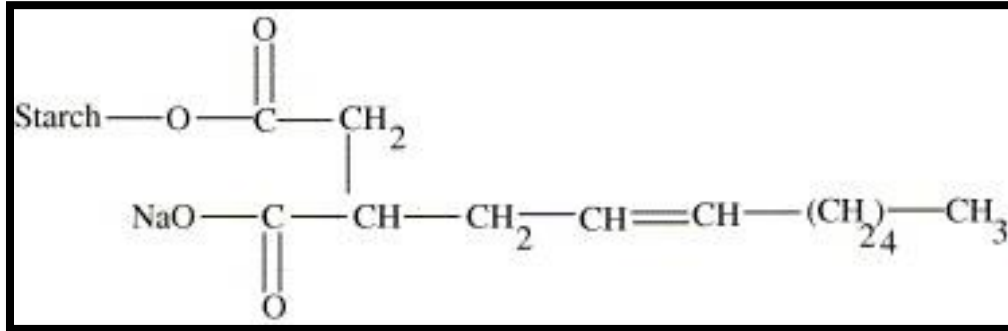
**Figura 4.** Mecanismo del proceso de hidrólisis ácida del almidón (Hoover, 2000).

Cuando se alcanza la viscosidad o fluidez deseada, la suspensión de almidón se neutraliza y los gránulos se recuperan mediante lavado, centrifugación y secado (Hoover, 2000).

### 1.5.1.2 Esterificación del almidón por grupos OSA

Los ésteres de almidón succinatado, son preparados comercialmente por la reacción básica de anhídridos de alquencil succínico, con el almidón en suspensión acuosa. La sustitución puede ocurrir en las posiciones 2,3 y 6 de los carbonos de la unidad de glucosa (Sweedman y col., 2014). El anhídrido más utilizado para esta modificación, es el octenilsuccinato (OSA), el objetivo principal de esta

modificación, es la incorporación del carácter hidrófobo al almidón, que originalmente es altamente hidrófilico (Bhosale y Singhal, 2006). En la Figura 5, se muestra la representación de un almidón OSA.



**Figura 5.** Representación del almidón modificado OSA (Bhosale y Singhal, 2006).

Los almidones OSA, son efectivos emulsificadores, por tener grupos bifuncionales, tanto hidrofóbicos, como hidrófilicos (Tesh y col., 2002). A diferencia de los tensioactivos típicos, los almidones succinatados, forman películas fuertes en la interfase aceite/agua, proporcionando a la emulsión, resistencia a la reaglomeración. Las soluciones acuosas de los almidones alquenil succinatados y en particular almidón OSA, han sido usadas para estabilizar concentrados de sabor en bebidas, aceites en aderezos, para encapsular sabores, aromas y vitaminas en formulaciones, mediante secado por aspersion (Shogren y col., 2000).

## 2. EMULSIONES

Una emulsión, es un sistema disperso, constituido por la homogenización o dispersión de dos o más fluidos, no miscibles entre ellos, en el que una de estas fases, se encuentra distribuida de forma discontinua, en el seno de la otra, denominándose fase dispersa y fase continua, respectivamente. La fase dispersa, se encuentra en forma de pequeñas gotas, distribuidas en la fase continua o dispersante; ambas fases son inestables, ya que la fase dispersa, tiende a

asociarse, para construir una capa, que puede precipitar o migrar a la superficie, según la diferencia de densidades entre las dos fases, originando desestabilidad del sistema disperso (McClements, 2012).

Una emulsión, está constituida por tres regiones, las cuales presentan propiedades fisicoquímicas diferentes: la fase dispersa, la fase continua y la interfase. Todas las moléculas o ingredientes de la emulsión, se distribuyen según su concentración y polaridad, a lo largo de las tres regiones.

Las moléculas polares, tienden a localizarse en la fase acuosa, las moléculas no polares, tienen afinidad por la fase oleosa y las moléculas anfifílicas, se localizan en la interfase. Las moléculas de una emulsión, tienden a moverse de una región a otra, alterando de esta forma, las condiciones físicas y químicas de la emulsión.

Este movimiento, así como la concentración e interacciones de sus constituyentes, tienen una influencia significativa en las propiedades fisicoquímicas, funcionales y de textura de estos sistemas dispersos (McClements, 1999). Las propiedades de las emulsiones, tales como su estabilidad y la viscosidad, dependen de la distribución del tamaño de las gotículas, que abarca un intervalo amplio, desde unos 10 nm, hasta casi las 1000  $\mu\text{m}$ .

El método más simple, para establecer la naturaleza de una emulsión, es verificar la miscibilidad con disolventes acuosos y apolares. Una emulsión constituida por una dispersión con gotas de aceite en agua, puede ser fácilmente diluida con agua (O/W), y viceversa, una emulsión constituida por gotas de agua en aceite, puede ser fácilmente diluida con aceite (W/O), sin una separación de fase detectable, en un periodo de tiempo suficientemente corto; esta prueba puede ser fácilmente realizada, con la ayuda de un microscopio óptico (Dickinson, 2011).

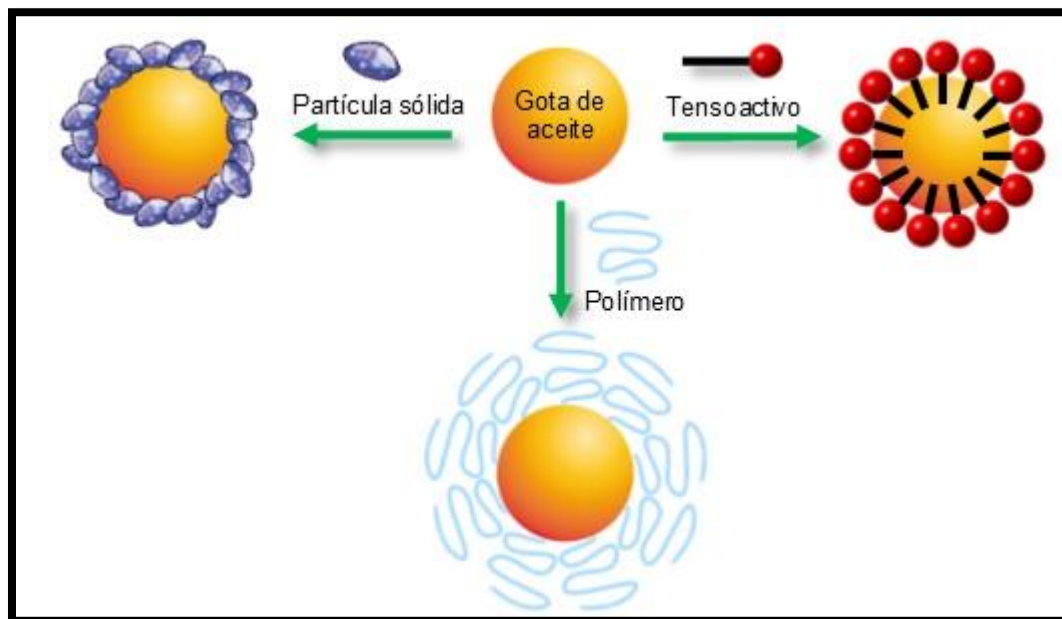


## 2.1 Tipos de emulsificantes

Un emulsionante, emulsificante o emulgente, es una sustancia que ayuda en la mezcla de dos sustancias, que normalmente son inmiscibles entre si. De esta manera, al añadir este emulsificante, se consigue formar una emulsión. Se denomina así también, a los aditivos alimentarios, encargados de facilitar el proceso de emulsión de los ingredientes (Kōzō y Hiroshi, 1969).

Los emulsificantes se pueden clasificar en:

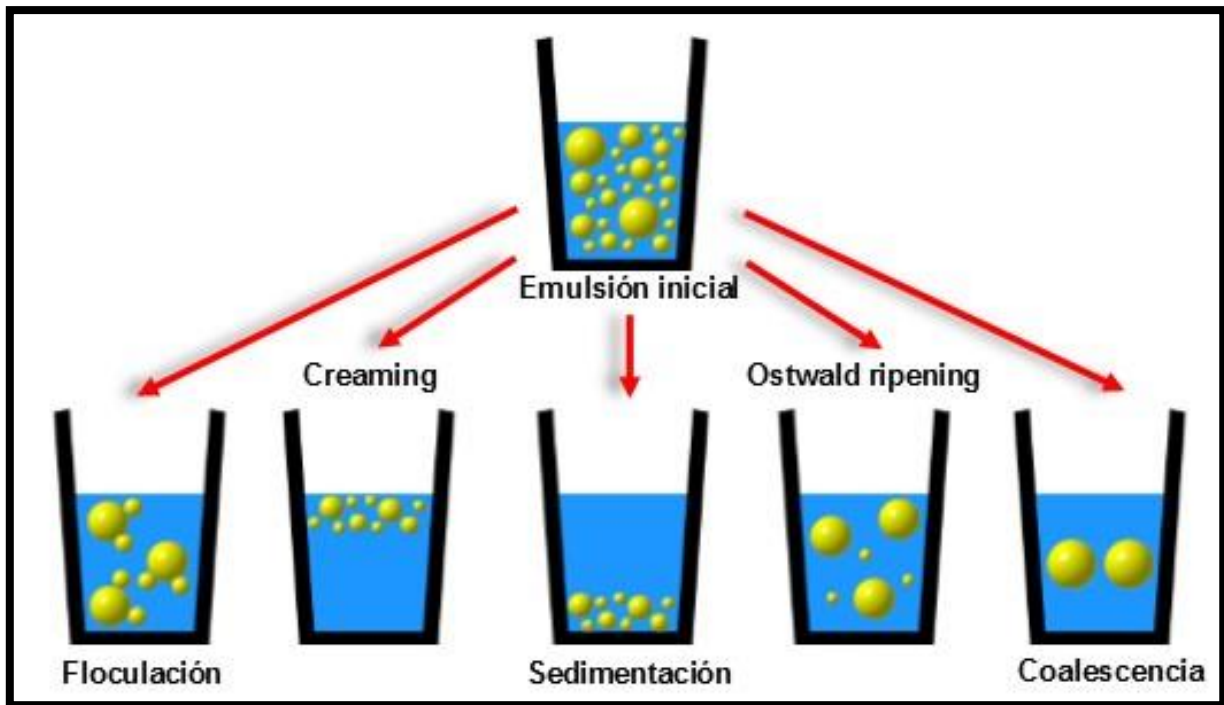
1. Agentes tensioactivos (aniónicos, catiónicos, zwitteriónicos, no-iónicos).
2. Polímeros naturales (acacia, tragacanto, agar, pectina, metilcelulosa carboximetilcelulosa y almidón).
3. Sólidos finamente divididos.
4. Agentes emulsificantes sintéticos: lauril sulfato de sodio, derivados de ácido sulfónico, monovalentes, polivalentes, cloruro de benzalconio, ésteres de sorbitán (Span) y polisorbatos (Tween). En la Figura 6, se muestran algunos tipos de emulsificantes y sus diferencias en el mecanismo de estabilización.



**Figura 6.** Tipos de estabilizadores de emulsiones.

## 2.2 Mecanismos que contribuyen a la inestabilidad de las emulsiones

El proceso de ruptura de las emulsiones, puede ocurrir mediante cuatro mecanismos de inestabilidad diferentes (Clint, 1991). La Figura 7, muestra una representación gráfica de cada uno de los procesos. Cabe destacar, que la sedimentación y el “creaming” o flotación, son procesos similares.



**Figura 7.** Mecanismos que contribuyen a la inestabilidad de las emulsiones.

1. “Creaming”/sedimentación: Proceso causado por la acción de la gravedad, que produce un gradiente vertical de concentración de las gotículas, sin variar la distribución del tamaño de las mismas.
2. Floculación: Adhesión de las gotículas, sin fusionarse y una vez más, no existe una variación en la distribución de tamaño de las mismas. El proceso de floculación, está controlado por un equilibrio global, entre las fuerzas de atracción electrostáticas de Van der Waals y repulsivas de tipo estéricas y de hidratación (Aranberri, 2006).

3. Coalescencia: Es la fusión de gotículas, para crear gotículas de mayor tamaño, con la eliminación de parte de la interfase líquido/líquido. Este cambio irreversible, requeriría un aporte extra de energía, para restablecer la distribución de tamaño de partícula original. A pesar de que el proceso de inestabilidad, debido a la coalescencia, no se comprende en su totalidad, se cree que está relacionado con el tensioactivo que estabiliza la emulsión (Fletcher y Horsup, 1992; Kabalnov, 1998).

4. Ostwald ripening: Se presenta, por el crecimiento de las gotículas más grandes, a costa de las gotículas más pequeñas, hasta que éstas últimas, prácticamente desaparecen. Este proceso ocurre a una velocidad, que es función, de la solubilidad de la fase dispersa en la fase continua y se debe a que la presión interna de las gotículas es mayor en las más pequeñas (Aranberri, 2006).

La teoría general DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek), puede utilizarse para describir, cualitativamente, las interacciones entre las gotículas. La teoría DLVO asume que la estabilidad coloidal es debida, principalmente, a las interacciones de largo alcance, que ocurren entre las gotículas. Esta teoría considera dos tipos de fuerzas: las fuerzas de Van der Waals, que son de atracción y de largo alcance, y las fuerzas electrostáticas, que son repulsivas, debido a las cargas que se encuentran en la superficie de las gotículas, creando una energía de repulsión (Aranberri, 2006).

### **3. Emulsiones estabilizadas por sólidos o tipo “Pickering”**

Las emulsiones estabilizadas por sólidos, se caracterizan por la adición de partículas sólidas, como estabilizantes. Estas pueden ser de cualquier tipo, de aceite en agua, agua en aceite o múltiples (Aveyard y col., 2003). Estas emulsiones, no solo conservan las características usuales de las emulsiones estabilizadas por tensioactivos, además, otorgan otras propiedades, como la alta resistencia a la coalescencia y a la maduración de Ostwald y presentan el

potencial, para mejorar, la estabilidad oxidativa, comparado con las emulsiones adicionadas con tensioactivos. Por lo que, es posible sustituir las emulsiones tradicionales, por emulsiones estabilizadas por sólidos, en muchas aplicaciones (Aveyaard y col., 2003).

La estabilidad de las emulsiones tipo “Pickering”, depende en gran medida, del tamaño de la partícula utilizada. A menores tamaños de partícula, la estabilidad puede mantenerse por periodos de tiempo largos, dependiendo de la homogeneidad de la partícula, de tal manera que las partículas, mantengan estas propiedades, para estabilizar las gotículas obtenidas en las emulsiones (Timgren y col., 2013; Simsek y col., 2015). El uso de partículas sólidas, como estabilizadores de emulsiones, ha permitido ampliar el diseño de las formulaciones, ayudando en la reducción y eliminación de tensioactivos de bajo peso molecular (Aveyaard y col., 2003).

Los estabilizadores de partículas, ampliamente utilizados, para emulsiones tipo Pickering son: sílice, alúmina, cera, quitina, partículas de arcilla, óxidos de titanio, etc. (Binks y Rocher, 2009; Gao y col., 2009; Chen y col., 2011; Tzoumaki y col., 2011). Algunos estabilizadores de partículas, potencialmente compatibles con los alimentos, que se han utilizado en las emulsiones estabilizadas por sólidos de aceite/agua, incluyen, nanocristales de quitina (Tzoumaki y col., 2011), nanocristales de celulosa (Wege y col., 2008; Capron y Cathala, 2013), cristales de grasa (Rousseau, 2013), proteína (Folter y col., 2012; Liang y Tang, 2014) y flavonoides (Luo y col., 2012).

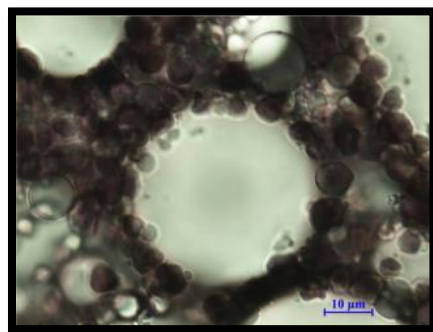
Dentro de las partículas sólidas, empleadas para las emulsiones tipo Pickering, se encuentran gránulos de almidón. El almidón puede ser empleado de manera nativa o químicamente modificado, donde el almidón modificado hidrofólicamente, con un tamaño de gránulo pequeño y de forma regular, ha sido reportado como posible partícula para la estabilización de emulsiones O/W (Timgren y col., 2011; Yusoff y Murray, 2011; Marku y col., 2012; Tan y col., 2012). Sin embargo, los

gránulos de almidón nativos, son altamente hidrofílicos, por lo que dependiendo del tamaño de gránulo, no se absorben adecuadamente en la interfaz aceite/agua (tamaños de gránulo mayores a 30  $\mu\text{m}$ ). Por lo anterior, el empleo de almidones OSA, ha sido objeto de mayores estudios, para su empleo en la estabilización de emulsiones O/W, debido al grado de estabilización electrostática espacial alcanzada (Tesch y col., 2002; Rayner y col., 2014).

### 3.1 Estabilidad de emulsiones tipo Pickering

Una de las características de la inestabilidad de las emulsiones, es el incremento en el tamaño de gotícula, que puede ser causado por coalescencia, floculación o maduración de Ostwald, donde, estos mecanismos, se ven favorecidos, por el paso del tiempo, debido al debilitamiento de las fuerzas de repulsión o atracción, y por el efecto de la gravedad, esta última, provocando la sedimentación de las partículas o formación de creaming, por las gotículas de grasa.

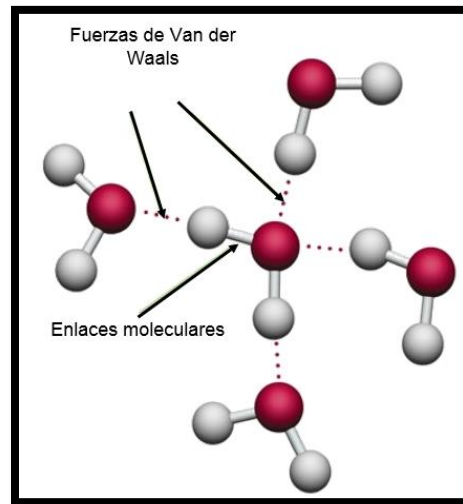
El mecanismo, por el cual, los gránulos de almidón, logran estabilizar las gotículas de aceite, es debido, a que estas quedan atrapadas en una película más densa de gránulos de almidón (Figura 8), actuando como una barrera estérica, para inhibir las fuerzas de atracción entre las gotículas de grasa, evitando de este modo, la coalescencia, así como también por medio de fuerzas de Van der Waals y electrósticas presentes en la emulsión que ayudan a la estabilización de la misma. A continuación, se explicaran los mecanismos empleados en la estabilización.



**Figura 8.** Partículas de almidón rodeando a la gotícula de aceite (Song y col., 2015).

### 3.1.1 Fuerzas de Van der Waals

Las fuerzas de Van der Waals, son fuerzas de estabilización molecular, es decir, dan estabilidad a la unión entre varias moléculas (Figura 9), también, conocidas como atracciones intermoleculares o de largo alcance y son las fuerzas entre moléculas (González, 2010). Son fuerzas más débiles, que las internas, que forman enlaces en la molécula, ya que dependen, exclusivamente del tamaño y forma de la molécula, pudiendo ser de atracción o de repulsión. Son tan débiles, que no se les puede considerar un enlace, como el enlace covalente o iónico, solo se les considera una atracción (González, 2010).



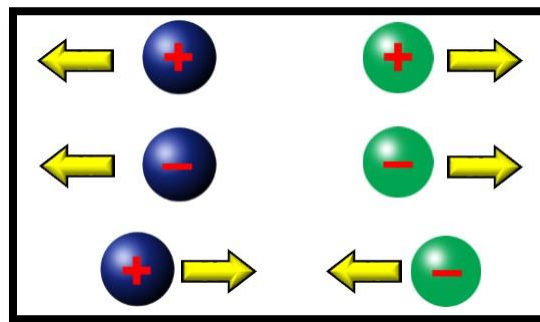
**Figura 9.** Interacción de fuerzas de Van der Waals entre moléculas.

### 3.1.2 Fuerzas electrostáticas

Los átomos, que están presentes en todos los cuerpos, están compuestos de electrones, protones y neutrones. Los tres tienen masa, pero solamente, el electrón y el protón, presentan carga. El protón tiene carga positiva y el electrón tiene carga negativa. Si se colocan dos electrones (carga negativa ambos), a una distancia "r", estos se repelerán con una fuerza "F". Esta fuerza depende de la distancia "r" entre los electrones y la carga de ambos. Esta fuerza "F", es llamada fuerza electrostática. Si en vez de utilizar electrones, se utilizan protones, la fuerza

será también de repulsión, pues las cargas son iguales. La fuerza electrostática cambiará de repulsiva a atractiva, dependiendo del signo de las cargas que interaccionan (Figura 10).

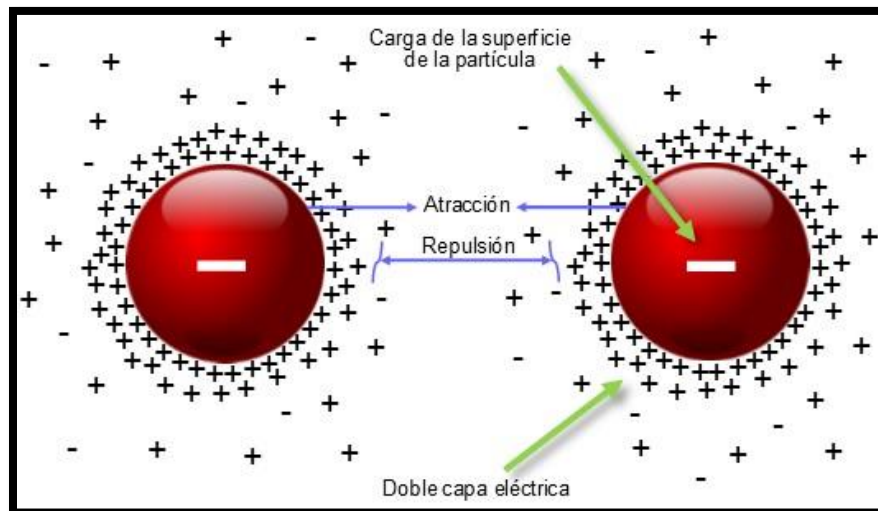
Las fuerzas electrostáticas, se producen entre superficies cargadas y son fuerzas de largo alcance. La carga de la partícula, se origina por la ionización o disociación de grupos químicos en la superficie o por la adsorción de especies cargadas (por fuerzas de Vander Waals, interacciones hidrofóbicas o iónicas), tales como polielectrolitos, proteínas, etc. Cuando se tienen partículas cargadas, inmersas en una solución electrolítica, sobre la superficie de las partículas, se forma una capa difusa, altamente móvil, de iones y contraiones, la cual recibe el nombre de doble capa eléctrica.



**Figura 10.** Fuerzas de atracción y repulsión (Levine, 1981).

Esta capa, resiste a la compresión, debido a que los contraiones, deben mantener su movilidad. La doble capa eléctrica, permite estabilizar los sistemas dispersos, al actuar como barrera a la floculación, la coalescencia y la coagulación (Figura 11). El principio de la estabilización electrostática, está relacionado, con el efecto que las fuerzas electrostáticas repulsivas, tienen en las gotículas de la emulsión (Garti y Lutz, 2004).

Para que ocurra la coalescencia de las gotículas en una emulsión; éstas deben de estar en contacto unas con otras, este fenómeno, se conoce como floculación y para evitarlo, las gotículas pueden mantenerse separadas por repulsión entre sus superficies cargadas.



**Figura 11.** Doble capa eléctrica (Levine, 1981).

Cuando dos superficies o partículas, cargadas idénticamente, se aproximan en un medio fluido, generan una interacción repulsiva, que dependiendo de su magnitud, de la distancia entre las superficies o partículas y las fuerzas de atracción que puedan generarse, las mantendrá separadas. Estas interacciones representan una barrera de energía, que ayuda a reducir la coalescencia (Myers, 1996; Bergenstahl y Claesson, 1997); tal es el caso de las emulsiones tipo Pickering, que al emplear partículas sólidas de almidón modificado, la interacción entre estas, será de fuerzas repulsivas, lo que evitara la coalescencia de las gotículas de grasa.

### 3.1.3 Impedimento estérico

La estabilización estérica, o el impedimento estérico en emulsiones, es un factor dominante, cuando se trata con partículas anfifílicas, ya que se adsorben en la interfaz de la emulsión. Estas partículas pueden mejorar la estabilidad y retardar los fenómenos de ruptura de las emulsiones, debido a que forman películas gruesas (Garti y Lutz, 2004), provocando una repulsión estérica (barrera), que se produce entre partículas que contienen especies adsorbidas en su superficie.



#### 4. Almidón de yuca cerosa

El mercado de almidones industriales, ha ido en aumento y la demanda actual, se conforma principalmente por cuatro cultivos: papa, maíz, trigo y yuca o tapioca (Ellis y col., 1998; Davis y col., 2003). La yuca, es particularmente importante, como fuente de almidón en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Cerca del 84.5% del peso seco de la raíz de yuca, es almidón (Sánchez y col., 2009).

En comparación con otras raíces y tubérculos, de cultivos tropicales, el almidón de yuca y su biosíntesis, han sido bien estudiados (Munyikwa y col., 1997). Los gránulos de almidón, son generalmente redondos (oval), con una superficie plana en un lado (truncado). El tamaño de los gránulos individuales, varía de 5-40  $\mu\text{m}$ , con valores promedios, reportados, que varían de 5.4-17.2  $\mu\text{m}$  (Hoover y col., 2001; Moorthy y col., 2004).

A pesar de la diversidad de almidones nativos, de diferentes fuentes botánicas, no se logran satisfacer las demandas de los diferentes sectores (accesorios, productos agroquímicos, cosméticos, detergentes, alimentos, médica y gas, papel y cartón, productos farmacéuticos, plásticos, purificación, bebidas, textiles (Ellis y col., 1998; Davis y col., 2003). Por lo que, se ha recurrido al uso de modificaciones genéticas en plantas, para obtener diferentes características en el almidón. El reciente descubrimiento de mutaciones en la planta de yuca, para la obtención de almidón de yuca ceroso (Ceballos y col., 2007, 2008), es relevante, ya que amplía el número de aplicaciones y la competitividad del almidón de yuca, pues ofrece diversas ventajas, siendo una alternativa adicional de fuentes de almidones, para su uso en la industria.

### III. JUSTIFICACIÓN

El uso de emulsiones en la vida cotidiana, incluye tanto el área alimenticia, farmacéutica y cosmetológica; sin embargo, su estabilidad es un problema en el sector industrial. Para resolverlo, se desarrollaron tensioactivos sintéticos o polímeros, con superficie activa, que se absorben en la interfase y reducen la energía interfacial. El uso de emulsificantes naturales en la industria alimentaria ha sido ampliamente estudiado, no obstante, aunque los tensioactivos siguen teniendo una gran utilidad, su número y aplicaciones son limitados debido a la inestabilidad que presentan en la preparación de nuevos productos alimenticios. Sin embargo la alta toxicidad de algunos tensioactivos sintéticos, debido a su composición química, toma relevancia, ya que deben considerarse totalmente inocuos para la salud del consumidor, y para ello deben pasar por una serie de pruebas generalmente costosas y de larga duración de ejecución, es por ello la necesidad de su biocompatibilidad y la relación costo/beneficio, han ocasionado que los emulsificantes tradicionales hayan sido limitados en sus aplicaciones.

En consecuencia, se ha planteado el uso de polímeros naturales, con características anfifílicas, que posean la capacidad de estabilizar emulsiones. Debido a la necesidad de buscar agentes estabilizantes de origen natural, se ha optado por el empleo de almidones modificados, a través de la reacción con anhídrido octenil succínico. En este contexto, los trabajos realizados en los últimos años, no han sido concluyentes, sobre que propiedades del gránulo de almidón favorecen la utilización de éstos agentes emulsificantes, debido a esto, se ha propuesto el uso de un almidón no convencional, como es la yuca cerosa hidrolizada, como alternativa en la búsqueda de materiales de origen natural, que favorezca la elaboración de emulsiones estabilizadas por sólidos.

## IV. OBJETIVOS

### 1. OBJETIVO GENERAL

Optimizar el proceso de hidrólisis ácida del almidón de yuca cerosa y su succinación, para la elaboración de emulsiones estabilizadas por sólidos.

### 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.1. Modificar químicamente, mediante la hidrolisis ácida, el almidón de yuca cerosa.

2.2. Optimizar el proceso de hidrolisis ácida del almidón de yuca cerosa, para su uso como emulsificante, mediante la evaluación del índice de emulsificación.

2.3. Succinatar el almidón, hidrolizado en las condiciones óptimas, de yuca cerosa, mediante la esterificación con anhídrido octenil succínico, para evaluar su capacidad emulsificante.

2.4. Evaluar y comparar el poder emulsificante del almidón nativo, hidrolizado y succinatado de yuca de cerosa, por medio de tamaño de partícula, potencial Z, índice de emulsificación, microscopia de luz y pruebas reológicas.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. MATERIALES

El almidón de yuca cerosa fue provisto por el Centro de Investigación en Agricultura Tropical (CIAT), en la ciudad de Cali, Colombia.

Todos los reactivos empleados fueron grado analítico.

### 2. METODOLOGÍA

#### 2.1 Microscopia electrónica de barrido

El almidón de yuca cerosa, se analizó en un microscopio electrónico de barrido (modelo JEOL JSM-6300 Akishima, Tokyo, Japón). La muestra completamente seca, se depositó sobre un portamuestras, con cinta electroconductiva de carbón de doble cara, posteriormente, se recubrió con oro. Las condiciones bajo las cuales se estudiaron las muestras fueron 15 A y 20 KV. Para determinar el tamaño de gránulo, se realizaron 20 mediciones a diferentes gránulos.

#### 2.2 Proceso de hidrólisis del almidón de yuca cerosa

##### 2.2.1 Hidrólisis ácida del almidón

La hidrólisis ácida del almidón de yuca cerosa, se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Utrilla-Cuello y col. (2014), con algunas modificaciones. 100 g de almidón en base seca, se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 500 mL, al cual se le adicionaron 300 mL de una solución acuosa de ácido clorhídrico, a diferentes concentraciones, de acuerdo al diseño experimental (Tabla 3), la solución se mantuvo con agitación, a temperatura ambiente (25 °C), a diferentes periodos de tiempo, de acuerdo al diseño experimental (Tabla 3), una vez transcurrido el tiempo, la solución se neutralizó, mediante goteo con una solución de NaOH al 20%, posteriormente el almidón se

lavó tres veces con agua destilada y se centrifugó a 8000 x g, por 15 min, en una centrifuga Hermle Labortechnik (modelo Z300K, Wehingen, Alemania). El almidón precipitado, se secó en una estufa con circulación de aire (Lab-Line, Ambi-Hi- Low Chamber, Livonia, Michigan, EE.UU.) a 40 °C, durante 24 h, posteriormente fue molido en un mortero y cribado en una malla de 250 µm, las muestras se almacenaron en bolsas de polietileno (Ziploc Brand Bags, Racine, Wisconsin, EE.UU.) y se almacenaron en un recipiente de plástico sellado, a temperatura ambiente (25 °C), para posteriores análisis.

**Tabla 3.** Tratamientos empleados para el proceso de hidrólisis ácida del almidón

<b>Tratamiento</b>	<b>Tiempo (Horas)</b>	<b>%HCl</b>
<b>1-V</b>	2.00	2.00
<b>2-V</b>	2.00	5.00
<b>3-V</b>	5.00	2.00
<b>4-V</b>	5.00	5.00
<b>5-V</b>	1.37	3.50
<b>6-V</b>	5.62	3.50
<b>7-V</b>	3.50	1.37
<b>8-V</b>	3.50	5.62
<b>9-V</b>	3.50	3.50
<b>10-V</b>	3.50	3.50
<b>11-V</b>	3.50	3.50
<b>12-V</b>	3.50	3.50
<b>13-V</b>	3.50	3.50
<b>14-V</b>	3.50	3.50
<b>15-V</b>	3.50	3.50
<b>16-V</b>	3.50	3.50

### 2.2.2 Diseño experimental y análisis estadístico del proceso de hidrólisis

Se utilizó un diseño experimental central, compuesto, rotatable, con dos variables independientes: concentración de ácido clorhídrico y tiempo de hidrólisis, el diseño constó de 16 tratamientos (Tabla 3). Los datos fueron analizados por superficie de respuesta, empleado el software Desing Expertc versión 7.1.5 (Stat Ease Inc.,

Minneapolis, MN). Los datos experimentales, se ajustaron a un modelo polinomial de segundo orden, representado en la ecuación 1:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_{12}x_1x_2 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_{22}x_2^2 \quad (1)$$

Donde  $y_i$ , es la variable de respuesta,  $x_1$ , el tiempo de hidrólisis y  $x_2$ , la concentración de ácido clorhídrico (Tabla 4).

**Tabla 4.** Diseño central compuesto, rotatable, con dos factores ( $\alpha=1.414$ ) para la hidrólisis ácida del almidón yuca cerosa.

Variable independiente	Niveles				
	$-\alpha$	-1	0	1	$\alpha$
Tiempo (h)	1.37	2	3.5	5	5.62
Concentración (%)	1.37	2	3.5	5	5.62

## 2.3 Optimización del poder de emulsificación del almidón de yuca cerosa hidrolizada

### 2.3.1 Elaboración de emulsiones tipo Pickering

Las emulsiones se prepararon utilizando la metodología de Timgren y col. (2013), con algunas modificaciones. Las emulsiones fueron preparadas, en viales de vidrio, con 6 mL de solución buffer, como fase continua (5 mmol/L de buffer de fosfato a pH 7 y 0.2 mol/L de NaCl), 4 mL de parafina líquida (fase dispersa) y 800 mg de almidón hidrolizado teniendo una concentración de 200 mg de almidón/mL de aceite en todas las emulsiones, las cuales fueron homogenizadas con un Ultraturrax (digital T25, IKA, Estados Unidos) utilizando una propela (S25N-8G-ST) a 20,000 rpm durante 60 s. Las muestras se almacenaron a temperatura ambiente y se analizaron durante 14 días.

### 2.3.2 Índice de emulsificación

El índice de emulsificación (EI) de las muestras, se determinó como la altura (cm) de la emulsión, entre la altura (cm) total de la muestra y se calculó de acuerdo a la ecuación 2 (Timgren y col., 2013).

$$EI: \frac{\text{Altura de la capa cremosa}}{\text{Altura total de la emulsión}} \quad (2)$$

### 2.3.3 Determinación del potencial Z

Las emulsiones aceite en agua, fueron inyectadas directamente, para la medición del potencial Z, a 25 °C en un equipo Zetasizer nanoseris (Nano Z; Malvern Instruments, Worcester, Reino Unido). Las mediciones fueron reportadas como el promedio de 3 mediciones, realizadas por cada sistema disperso.

### 2.3.4 Tamaño de partícula

La distribución de tamaño de partícula de las emulsiones, se midió usando un analizador de tamaño de partículas por difracción láser (LS13320, Beckman Coulter), en una celda de flujo continuo. El índice de refracción (IR) de la muestra se fijó a 1.54 (almidón), ya que las gotículas de aceite, fueron cubiertas por los gránulos de almidón y por lo tanto, estas podrían ser consideradas para dispersar la luz como un gránulo grande (Simsek y col., 2015). El IR de la fase continua se ajustó a 1.33 (agua) y el índice de obscuramiento fue de 8-10%.

### 2.3.5 Optimización

La optimización se realizó, mediante la metodología de superposición de superficies, empleando el software Desing Expertc versión 7.1.5 (Stat Ease Inc., Minneapolis, MN). La respuesta seleccionada para realizar la optimización, fue el índice de emulsificación.

## 2.4 Esterificación del tratamiento óptimo con anhídrido octenil succínico

Una vez obtenido el almidón hidrolizado en las condiciones óptimas determinadas en el apartado anterior, este se empleó para la elaboración de las emulsiones tipo Pickering, de igual manera, se procedió a la esterificación del mismo, la cual fue llevada a cabo con 2-octen-1-succinil anhídrido (OSA 3% en base seca), de acuerdo a la metodología de Bhosale y Singhal (2006), y la determinación del grado de sustitución se llevó a cabo bajo la metodología descrita por Bhosale y Singhal (2006), la cual se muestra a continuación:

### 2.4.1 Grado de sustitución (GS) en almidón succinatado

Una muestra de almidón de 2.5 g base seca (modificado y sin modificar) fueron disueltos en 50 mL de agua destilada y se adicionaron 25 mL de una solución acuosa de NaOH 0.5 N a la mezcla de almidones y se dejó reposar durante 24 h. El exceso de álcali fue titulado con una solución estándar de ácido clorhídrico (HCl) 0.5 N, usando fenolftaleína como indicador. La solución se dejó en reposo por 2 h. Las muestras de almidón nativo fueron utilizadas como blancos. El porcentaje de acetil fue calculado de la siguiente manera:

$$\% \text{ Succinato} = \frac{(B - M) \times 0.1 \times N}{W} \times 100$$

$$GS = \frac{162 \times S}{21000 - (209 \times S)}$$

Donde:

B: Volumen gastado en la titulación del blanco (mL) almidón sin modificar.

M: Volumen gastado en la titulación de la muestra (mL) almidón modificado.

N: Normalidad del ácido.

W: Cantidad de muestra (g).

GS: Grado de sustitución de succinato.

S: Porcentaje de succinato del almidón succinatado.



162= peso molecular de las unidades de glucosa

21,000= 100 x peso molecular del grupo octenil succinil

209= peso molecular de grupo octenil succinil.

## **2.5 Espectroscopia de infrarrojo**

Los almidones de yuca cerosa nativo, hidrolizado y succinatado, se analizaron en el espectro de infrarrojo. Se utilizó un espectrofotómetro de infrarrojo Perkin Elmer (System 200 FT-IR, Estados Unidos) equipado con un sistema de reflectancia total atenuada (ATR) a 25 °C. Para cada muestra, se colectaron 48 barridos, con una resolución de 4 cm<sup>-1</sup> y de estos se obtuvo el valor promedio. Se trabajó en la región de 400 a 4,000 cm<sup>-1</sup>.

## **2.6 Microscopía de luz de las emulsiones**

A las 24 h de preparadas las emulsiones, con los almidones de yuca cerosa nativo, hidrolizado y succinatado, se tomaron fotografías de estas, con el propósito de observar su morfología, para lo cual, se utilizó un microscopio BX41 (Olympus, Estados Unidos), empleando un objetivo de 20 y 40X. Una gota de cada emulsión, se colocó en un cubreobjetos y a continuación, se colocó en el equipo. Cada muestra fue analizada inmediatamente. Las imágenes de las emulsiones, fueron tomadas, con ayuda de una cámara y procesadas usando el programa Image Pro Plus.

## **2.7 Comportamiento reológico de las emulsiones**

### **2.7.1 Determinación de las curvas de flujo**

Las curvas de flujo, de cada una de las emulsiones, con almidón de yuca cerosa nativo, hidrolizado y succinatado, se determinaron empleando un Reómetro (Anton Paar, model Physica MCR 101), en modo rotacional, con platos paralelos, con un

diámetro de 25 mm y un gap de 1000  $\mu\text{m}$ . Se realizaron ensayos rotacionales, para determinar el comportamiento de flujo de las emulsiones, registrando las curvas de esfuerzo de corte ( $\sigma$ ), en función de la velocidad de corte ( $\gamma$ ), las que luego se modelaron matemáticamente, con la ley de la potencia. Tres ciclos fueron programados 0.1 a 100  $\text{S}^{-1}$ , 100 a 0.1  $\text{S}^{-1}$  y 0.1 a 100  $\text{S}^{-1}$ . Las muestras fueron analizadas por triplicado a temperatura ambiente.

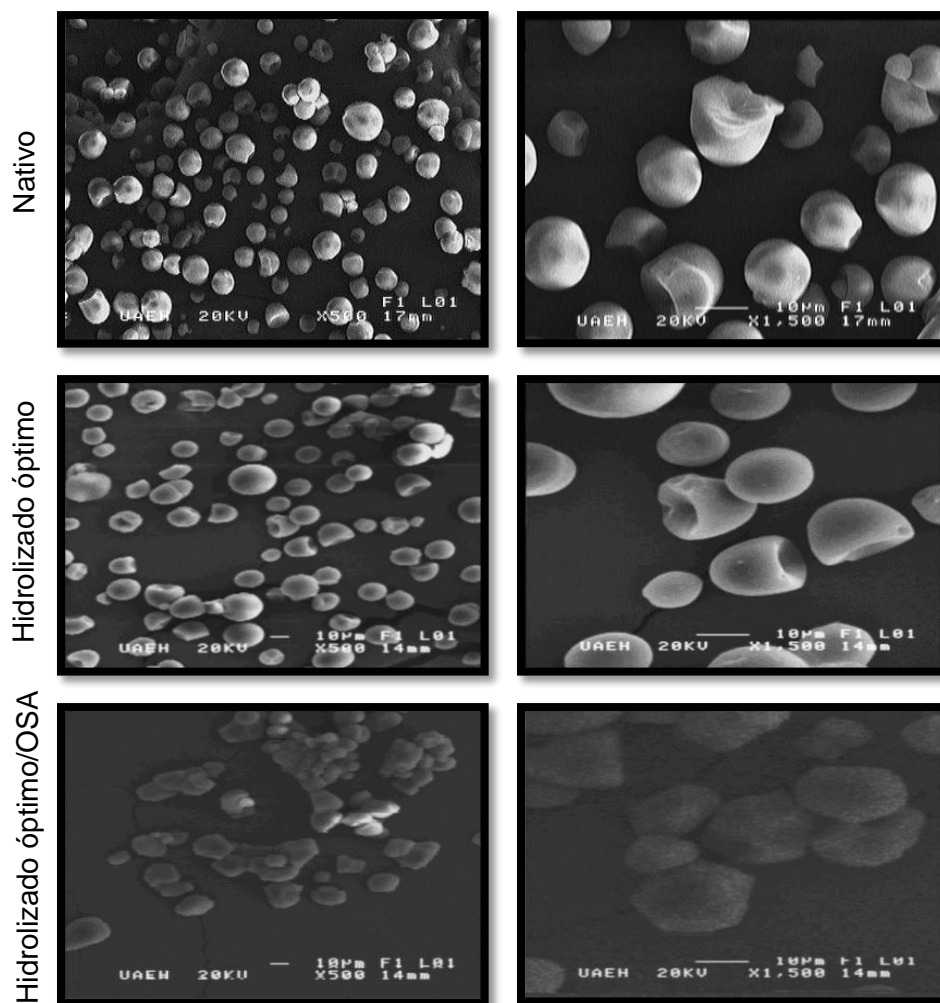
### **2.7.2 Pruebas de cizalla oscilatoria de baja amplitud**

Con el propósito de evaluar la estabilidad de las emulsiones formadas con almidón de yuca cerosa nativo, hidrolizado y succinatado, se midió el módulo de almacenamiento ( $G'$ ), módulo de pérdida ( $G''$ ) y ángulo de desfase ( $\delta$ ), a 25  $^{\circ}\text{C}$ , empleando una deformación del 3% (la cual fue establecida previamente de la región viscoelástica lineal), con barridos de frecuencia de 0.1 – 100  $\text{s}^{-1}$ .

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 1. Microscopía electrónica de barrido

En la Figura 12, se muestran las micrografías del gránulo de almidón nativo de yuca cerosa a 500 y 1500 aumentos, observándose que los gránulos del almidón, presentaron una forma truncada, con superficie lisa, lo que concuerda con lo reportado por Ceballos y col. (2007). El tamaño promedio de los gránulos fue de 10.7  $\mu\text{m}$ , los valores del diámetro del gránulo, mínimo y máximo, encontrados fueron de 7.6  $\mu\text{m}$  y 14.7  $\mu\text{m}$ , respectivamente y los valores de altura del gránulo, mínimo y máximo, encontrados fueron de 2.3  $\mu\text{m}$  y 6.2  $\mu\text{m}$ .



**Figura 12.** Micrografías del gránulo de almidón nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA de yuca cerosa tomadas a 500X y 1500X.

## **2. Evaluación de emulsiones elaboradas a partir de almidón de yuca cerosa hidrolizado**

### **2.1 Elaboración de emulsiones tipo Pickering**

Una vez realizado el proceso de hidrólisis ácida, de cada uno de los tratamientos, de acuerdo al diseño previamente establecido, se elaboraron las emulsiones tipo Pickering, las cuales fueron evaluadas durante 14 días. Las emulsiones se prepararon utilizando el método de Timgren y col. (2013) con algunas modificaciones, empleando una concentración de 200 mg de almidón hidrolizado/mL de aceite. Las muestras se almacenaron a temperatura ambiente.

En la Figura 13, se muestran las emulsiones evaluadas a 1, 7 y 14 días de ser elaboradas. Todos los tratamientos elaborados mostraron una estabilidad uniforme, observándose 3 zonas en la emulsión en cada vial; una primera zona blanca, la cual corresponde a la emulsión estabilizada, una segunda zona transparente, que corresponde al buffer (fase continua) y una tercera zona, donde se encuentra el almidón sedimentado que no formó parte de la emulsión.

Al día 1, la estabilidad inicial de las gotas de aceite se mantuvo, sin modificaciones en la zona de emulsión de cada uno de los viales. A los 7 días, las emulsiones mostraron una menor zona de emulsión en comparación al día 1, aumentando la cantidad de almidón sedimentado, observándose una disminución en la estabilidad de las mismas. Por último, en el día 14, los tratamientos que mostraron mayor estabilidad, de acuerdo a la zona de emulsión, fueron: 1-V (2.00 h/2.00 %HCl), 4-V (5.00 h/5.00 %HCl), 9-V (3.50 h/3.50 %HCl), 13-V (3.50 h/3.50 %HCl) y 16-V (3.50 h/3.50 %HCl), cabe mencionar que los tratamientos 9-V al 16-V, corresponden a los puntos centrales del diseño planteado en la metodología, por lo que de acuerdo a las fotografías, algunos tratamientos presentaron una disminución en la estabilidad con respecto al tiempo de evaluación.



**Figura 13.** Emulsiones con almidón hidrolizado de yuca cerosa al día 1 (1), 7 (2) y 14 (3).

### 2.1.1 Índice de emulsificación

El índice de emulsificación es el parámetro que indica la estabilidad de la emulsión, el cual, involucra la relación entre la altura de la zona de emulsión y la altura total (Bello-Pérez y col. 2015).

En la Tabla 5, se muestran los valores calculados del índice de emulsión (IE) de las 16 emulsiones, obtenidos con los diferentes tratamientos de almidón de yuca cerosa hidrolizado, evaluados a los 1, 7, y 14 días, después de ser elaboradas. Se observó que los tratamientos, 4-V (5.00 h/5.00 %HCl) y 9-V (3.50 h/3.50 %HCl) mantuvieron su estabilidad, ya que el IE no se modificó con respecto al tiempo, manteniendo un valor de 0.59. Sin embargo, en las demás emulsiones se observó que a medida que transcurrió el tiempo, el IE disminuyó, lo cual también fue evidenciado en las zonas de emulsión observadas en la Figura 13 con respecto al tiempo de cada tratamiento.

**Tabla 5.** Resultados de índice de emulsificación de las emulsiones con almidón hidrolizado de yuca cerosa a diferentes días

Tratamiento	Día 1	Día 7	Día 14
1-V	0.62	0.57	0.51
2-V	0.54	0.46	0.43
3-V	0.57	0.54	0.51
4-V	0.59	0.59	0.59
5-V	0.54	0.49	0.46
6-V	0.59	0.54	0.51
7-V	0.57	0.54	0.49
8-V	0.54	0.51	0.49
9-V	0.59	0.59	0.59
10-V	0.54	0.54	0.49
11-V	0.57	0.57	0.54
12-V	0.59	0.59	0.54
13-V	0.57	0.57	0.54
14-V	0.59	0.57	0.54
15-V	0.59	0.57	0.54
16-V	0.62	0.59	0.57

La disminución en los valores de IE, con respecto al tiempo, de manera general, se puede explicar en función de que la interacción gránulo-gránulo formada (monocapa) en la interfase de la emulsión, disminuyó como consecuencia, en primer lugar de la fuerza de gravedad, que ocasiona la sedimentación de los gránulos de almidón, y en segundo, a la diferencia de densidades entre las dos fases, lo cual permite el desplazamiento de las gotículas de aceite a la superficie, causando que exista una menor actividad emulsificante de los diferentes almidones de yuca cerosa hidrolizados.

Aunque algunos tratamientos presentaron una disminución en el IE con respecto al tiempo, en todos los casos, fue posible apreciar una zona de emulsión, favorecida por el tamaño de los gránulos del almidón (Figura 12) y la modificación de hidrólisis realizada, pues la modificación rompe enlaces glucosídicos entre las cadenas de almidón, dejando sitios disponibles con carga (Hoover, 2000), lo que permite que exista una mayor interacción (fuerzas electrostáticas) entre los gránulos de almidón y la fase dispersa, provocando que las gotículas queden atrapadas.

De acuerdo a lo reportado por otros autores (Aveyard y col., 2003; Li y col., 2013; Timgren y col., 2013; Bello-Pérez y col., 2015), una mayor concentración de almidón, mejora la estabilidad de las emulsiones, por lo que al emplear una concentración de 200 mg/mL de aceite en las emulsiones se encontró que las emulsiones elaboradas con almidón hidrolizado, durante los 14 días presentaron cambios ligeros en el IE, como resultado del impedimento estérico debido a la concentración de almidón, lo que permitió formar una capa densa alrededor de las gotas de aceite que limita la coalescencia de estas, mejorando la capacidad emulsificante del almidón, lo cual también fue evidenciado en la Figura 13.

### 2.1.2 Potencial Z

El potencial Z es una magnitud de las fuerzas electrostáticas de repulsión /atracción o de carga superficial de las partículas coloidales, que permite evaluar la estabilidad de las emulsiones (Nilson y Bergenstahl, 2007), su valoración aporta un panorama general de las causas de dispersión, la agregación o floculación de las partículas. En la Tabla 6, se muestran los valores del potencial Z, obtenidos para las emulsiones preparadas con los diferentes tratamientos con almidón hidrolizado de yuca cerosa.

Se observó en las emulsiones prepradas con los diferentes tratamientos de almidones hidrolizados, que al transcurrir los días, aumentan los valores de potencial Z, ya que cuando el almidón es sometido a un proceso de hidrólisis ácida, incrementa el valor de su potencial Z, debido a la presencia de un mayor número de grupos expuestos  $\text{OH}^-$ , lo cual permitió una mayor interacción con la fase acuosa de la emulsion, dicho efecto dependió de la severidad del tratamiento de hidrólisis, ocasionando una mayor interaccion con los fosfatos y las sales empleadas en la preparación de la solucion tampon. Por otro lado, se observó que las emulsiones 2-V (2.00 h/5.00 %HCl), 5-V (1.37 h/3.50 %HCl), 6-V (5.62 h/3.50 %HCl), 7-V (3.50 h/1.37 %HCl), 8-V (3.50 h/5.62 %HCl), 10-V (3.50 h/3.50 %HCl), 11-V (3.50 h/3.50 %HCl), 14-V (3.50 h/3.50 %HCl) y 15-V (3.50 h/3.50 %HCl), obtuvieron un valor alto de potencial Z, lo cual disminuye la estabilidad en la emulsión, debido a que las fuerzas electrostáticas de repulsión ocasionadas en la superficie de los gránulos es mayor (Chen y col, 2011), provocando que el almidón sedimente como se observa en la Figura 13.

Estudios previos han indicado que partículas altamente cargadas, no pueden estabilizar emulsiones, debido a que una partícula cargada se detecta como una “imagen de carga” en la interfase aceite/agua y actúa como una barrera de energía de repulsión cuando se encuentra cerca de la interfase (Hui y col., 2009).



Un valor de potencial Z entre -12.0 a -15.0 mV, mantiene la estabilidad de la emulsión con el transcurso del tiempo, ya que se observó que las emulsiones 4-V (5.00 h/5.00 % HCl) y 9-V (3.50 h/3.50 % HCl) con valores de -12.5 mV y -14.9 mV, respectivamente, no sufrieron modificaciones, lo cual puede ser observado en la Figura 13 y en los valores del índice de emulsificación (Tabla 5).

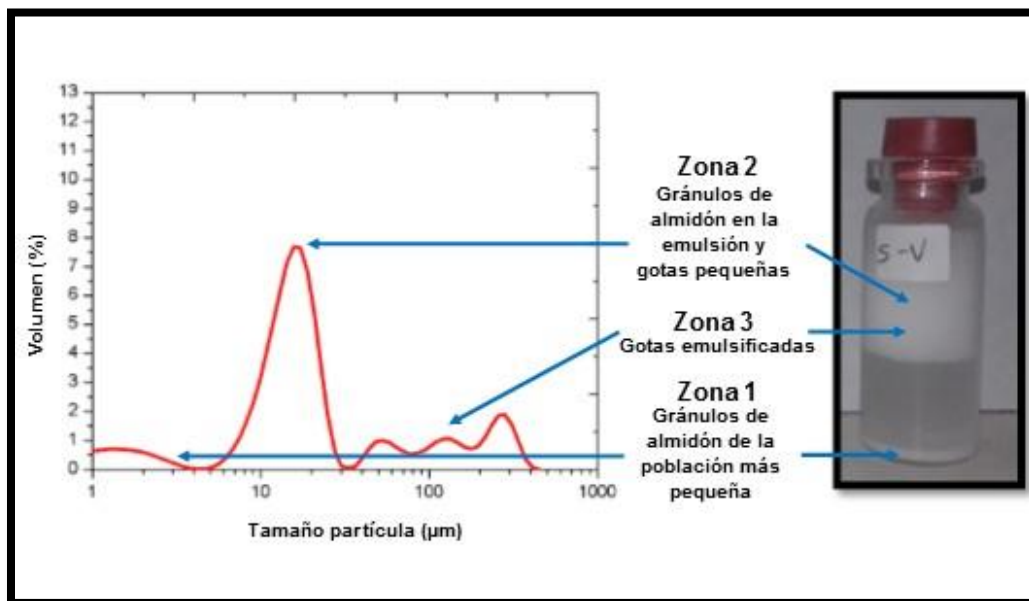
**Tabla 6.** Resultados de potencial Z (mV) de las emulsiones con almidón hidrolizado de yuca cerosa a diferentes días de preparadas

Tratamiento	Día 1	Día 7	Día 14
1-V	-7.68	-8.16	-15.4
2-V	-8.86	-10.8	-21.2
3-V	-4.5	-5.61	-10.2
4-V	-4.46	-5.17	-12.5
5-V	-9.58	-11.90	-18.6
6-V	-4.46	-10.40	-15.5
7-V	-3.21	-12.10	-16.7
8-V	-6.00	-10.4	-16.0
9-V	-4.87	-7.04	-14.9
10-V	-6.65	-15.00	-15.4
11-V	-5.02	-11.2	-22.6
12-V	-3.54	-9.51	-14.9
13-V	-6.18	-8.64	-13.7
14-V	-7.58	-13.00	-22.0
15-V	-5.6	-9.11	-18.1
16-V	-3.71	-4.92	-6.13

### 2.1.3 Tamaño de partícula

Las gráficas de distribución de tamaño de partícula se dividen en tres zonas. En la Figura 14, se muestran las diferentes zonas: zona 1, corresponde a la población de gránulos más pequeños del almidón de yuca cerosa sedimentados; zona 2, indica el tamaño de partícula promedio del gránulo de yuca cerosa con gotículas de aceite emulsionadas y una zona 3, que corresponde a gotículas emulsificadas de mayor tamaño, de acuerdo a lo reportado por Simsek y col. (2015). En la Figura 15, se muestran las gráficas de distribución de tamaño de partícula de las emulsiones a partir de 1, 7 y 14 días de ser elaboradas, en donde se observó

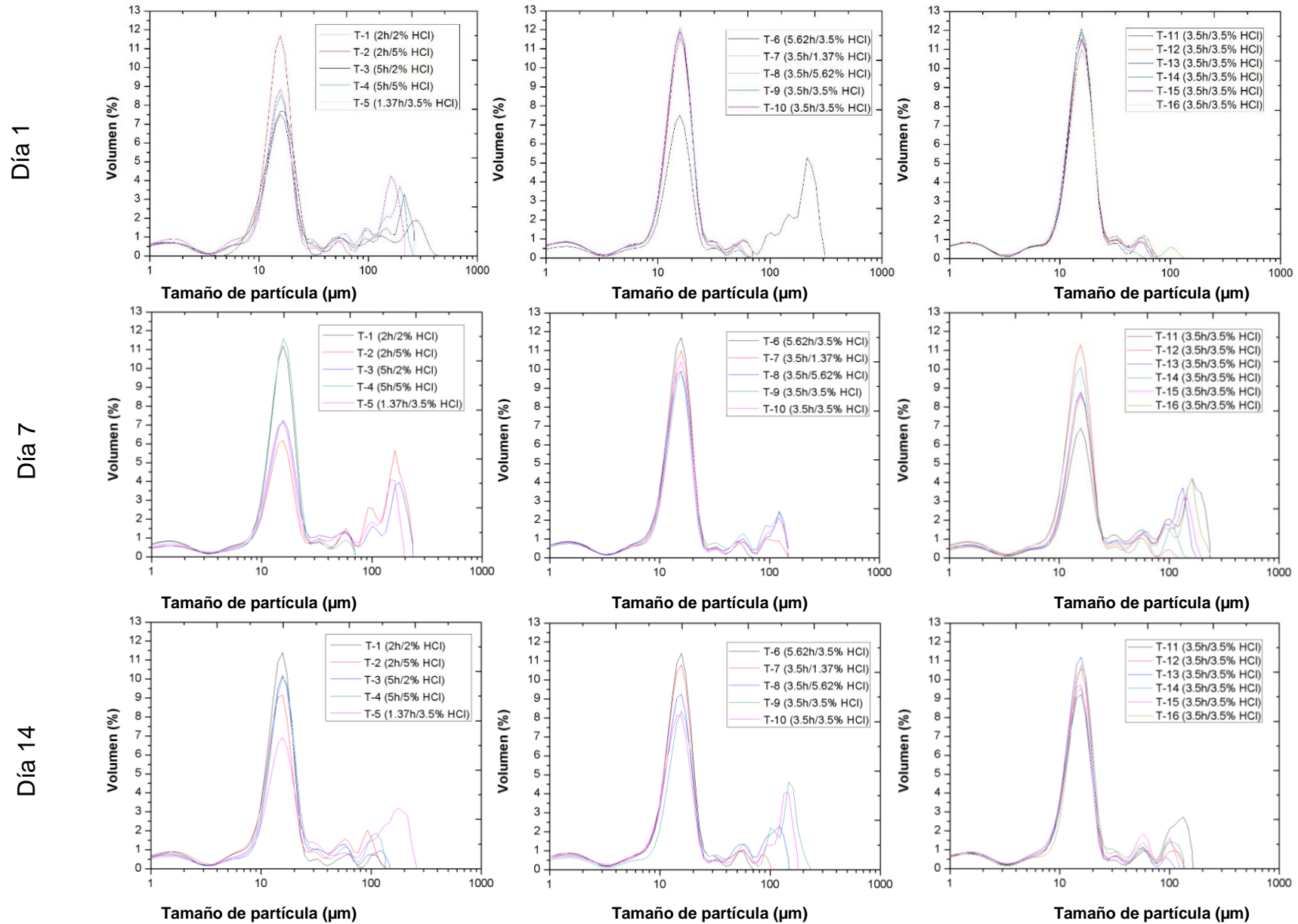
cómo las condiciones del proceso de hidrólisis ácida, a la cual, fueron sometidos cada uno de los tratamientos, afectan la estabilidad de las emulsiones.



**Figura 14.** Zonas de emulsión.

Después de 1 día de preparación, la mayoría de los tratamientos, mostraron mínimas diferencias en la distribución de tamaño de partícula en las zonas 1, 2 y 3, Observándose en la zona 2, que los valores del tamaño de partícula promedio ( $10.7 \mu\text{m}$ ) del gránulo de almidón, concuerdan con lo reportado, de igual manera se observó que el tamaño promedio de las gotículas emulsionadas fue similar al de los gránulos de almidón, evidenciando que el proceso de homogenización fue el adecuado. De forma particular, se observó que la emulsión 6-V ( $5.62 \text{ h}/3.50 \% \text{ HCl}$ ) mostró una mayor proporción de partículas de mayor tamaño en la zona 3, lo cual se debe a que hubo una mayor cantidad de coalescencia entre las gotículas de aceite, provocando una mayor amplitud y altura en los picos, también evidenciado en la Figura 13.

Después de 7 días de almacenamiento de las emulsiones, se observó que estas mantuvieron una similitud en las 3 zonas de distribución de tamaño de partícula. Sin embargo, las emulsiones que corresponden a los tratamientos 2-V ( $2.00 \text{ h}/5.00$



**Figura 15.** Tamaño de partícula de las emulsiones con almidón hidrolizado de yuca cerosa a diferentes días.

% HCl), 3-V (5.00 h/2.00 % HCl) y 5-V (1.37 h/3.50 % HCl) mostraron en la zona 3, un aumento en la distribución de tamaño de partícula, debido a la disminución de las fuerzas electrostáticas y de Van der Waals en la superficie de los gránulos de almidón, provocando una mayor cantidad de almidón sedimentado, lo cual favorece la coalescencia de las gotículas de aceite, lo que llevo de igual manera a la disminución de los valores del IE (Tabla 3).

Al final del experimento, (14 días), se observó que solo las emulsiones 4-V (5.00 h/5.00 % HCl) y 9-V (3.50 h/3.50 % HCl) se mantuvieron estables. Notandose que no se observaron cambios en la distribución del tamaño de partícula, principalmente, en la zona 3 de ambas emulsiones con respecto al día 7, lo que indica que se vió favorecida la interacción entre los gránulos de almidón en la interfase agua/aceite, permitiendo una menor coalescencia de gotículas de aceite en la emulsión, lo cual, se correlaciona con los resultados obtenidos en la evaluación visual de la estabilidad de la emulsión (Figura 13), de IE (Tabla 5) y de potencial Z (Tabla 6).

De acuerdo a los resultados obtenidos en el índice de emulsificación, potencial Z y tamaño de partícula, se encontró que el proceso de hidrólisis ácida llevado a cabo en el almidón, modificó la carga superficial de los gránulos en algunos tratamientos, mejorando sus propiedades de emulsificación, gracias a la distribución de fuerzas electrostáticas que estos generaron en el seno de la emulsión, evitando la coalescencia de las gotículas de aceite, facilitado por la absorción de los gránulos en la interfase aceite/agua, creando de esta manera también una barrera física (impedimento estérico), que junto a las fuerzas electrostáticas presentes, estabilizan a las gotículas de aceite, como resultado de que la energía cinética de colisión entre estas, sea insuficiente para remover las partículas sólidas (Binks, 2002), en este caso a los gránulos de almidón.

La estabilidad de las emulsiones fue baja, ya que con el transcurso del tiempo, se observó que el tamaño de las gotículas de aceite fue creciendo, como se puede

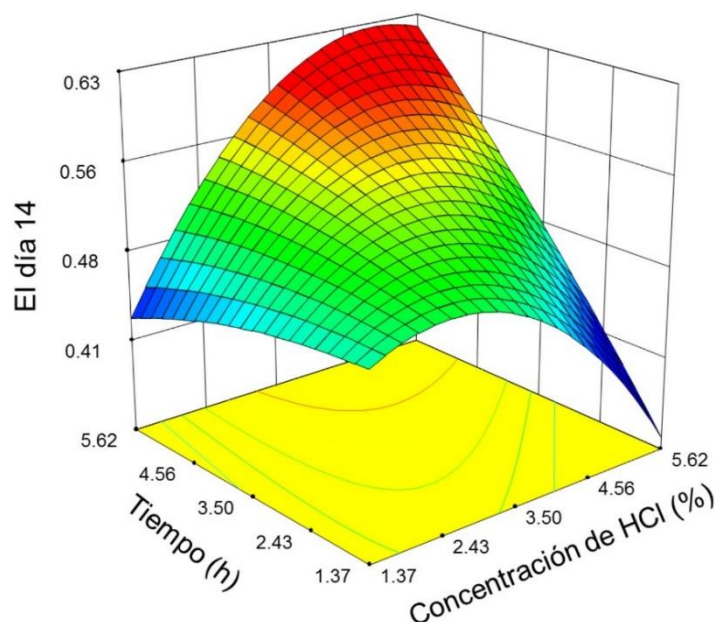
observar en la Figura 15, debido a que los gránulos de almidón fueron perdiendo poder emulsificante, como consecuencia de su sedimentación (efecto de la gravedad y diferencia de densidades entre las dos fases), por lo que la estabilidad de la emulsión disminuye, pues existe una menor cantidad de almidón atado a la superficie de las gotículas, incrementando así, la inestabilidad de la zona emulsionada, así como también la fracción de volumen de la emulsión (Li y col. 2013; Timgren y col. 2013; Simsek y col. 2015).

De acuerdo a los resultados obtenidos (Figura 13), al final del experimento, todos los tratamientos presentaron almidón sedimentado en el fondo de los viales, por lo que es necesario realizar una modificación adicional que permita estabilizarlo en la interfase aceite/agua, para poder así incrementar su poder de emulsificación y por ende mejorar la estabilidad de las emulsiones y su posible uso como agente emulsificante en emulsiones tipo Pickering.

### **3. Optimización del poder de emulsificación del almidón hidrolizado de yuca cerosa hidrolizado**

En la Figura 16, se muestra la gráfica de superficie de respuesta de la variable del índice de emulsificación medido a los 14 días en función del tiempo de hidrólisis y de la concentración de ácido clorhídrico. En esta gráfica se puede observar que a bajas concentraciones de ácido, el tiempo de hidrólisis presenta un efecto lineal, con una pendiente muy pequeña, sin embargo, cuando la concentración de ácido aumenta, el tiempo de hidrólisis tiene un efecto muy marcado en el índice de emulsificación. Mientras que la concentración de ácido presenta un efecto cuadrático, independientemente del tiempo de hidrólisis empleado. Observándose un efecto de interacción entre la concentración de ácido empleado y el tiempo de hidrólisis durante esta modificación química del almidón. Obteniéndose los menores valores del IE (<0.41) con un tiempo de 1.37 h y una concentración de HCl de 5.62%, mientras que los mayores valores fueron obtenidos empleando un

tiempo de 5.62 h y una concentración de HCl entre 3.50% y 5.62 %, con valores de índice de emulsificación que oscilaron entre 0.56 y 0.63.



**Figura 16.** Efecto de la concentración de ácido clorhídrico (%) y del tiempo de hidrólisis (h), sobre el índice de emulsificación a los 14 días.

En la Tabla 7, se presenta el ANOVA correspondiente a los resultados del índice de emulsificación obtenidos a los 14 días de preparación de las emulsión con almidón de yuca cerosa hidrolizado. Se observó que para IE, el modelo de regresión cuadrático utilizado fue significativo, con valores de  $R^2$  ajustada  $>0.8063$ , presentando un coeficiente de variación de 3.78%, p de F del modelo 0.0015 y una falta de ajuste de 0.4889.

**Tabla 7.** Análisis estadístico para las respuestas de índice de emulsificación (IE 14), a los 14 días de elaboración de las emulsiones con almidón hidrolizado de yuca cerosa.

Respuesta	$R^2$ ajustada	C.V. (%)	Valor F	p de F (modelo)	Falta de ajuste
IE 14	0.8063	3.78	11.96	0.0015	0.4889

En la Tabla 8, se presentan los coeficientes estimados del modelo ajustado, para la variable de IE a los 14 días. Se observó que la concentración de ácido

clorhídrico sobre la respuesta de IE, presentó efecto significativo  $p < 0.05$  en su término cuadrático ( $\beta_{11}$ ), mientras que el tiempo de hidrólisis presentó efecto significativo ( $p < 0.05$ ) en el término lineal ( $\beta_2$ ). La interacción concentración de HCl y tiempo ( $\beta_{12}$ ) no presentó efecto significativo  $p < 0.05$  sobre la respuesta evaluada.

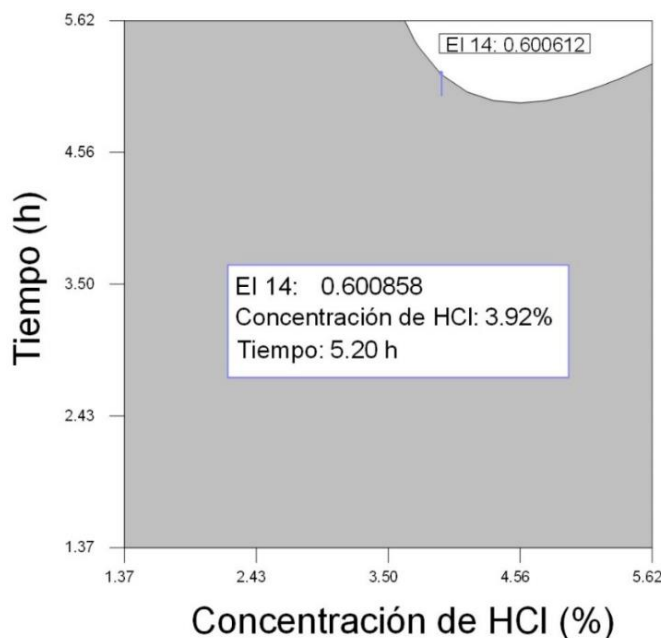
**Tabla 8.** Coeficientes estimados del modelo ajustado y nivel de significancia para las respuestas de índice de emulsificación (IE 14), a los 14 días de elaboración de las emulsiones con almidón de yuca cerosa hidrolizado.

Respuesta	Intercepto	Lineal		Interacción	Cuadrático	
	$\beta_0$	$\beta_1$	$\beta_2$	$\beta_{12}$	$\beta_{11}$	$\beta_{22}$
IE 14	<b>+0.443</b>	+0.050	<b>-0.019</b>	+0.017	<b>-0.015</b>	-2.365

Modelo en el cual  $\beta_1$ ,  $\beta_{11}$  y  $\beta_2$ ,  $\beta_{22}$  corresponde a la concentración de ácido clorhídrico (%) y tiempo (h), respectivamente, para la ecuación:  $y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2$ . Números con negrita presentan efecto significativo  $p < 0.05$ .

En la Figura 17, se muestra la región óptima del proceso de hidrólisis ácida, para el almidón de yuca cerosa. El criterio de optimización utilizado fue un máximo de índice de emulsificación a los 14 días de elaboradas las emulsiones.

Las condiciones óptimas para obtener un almidón con los criterios seleccionados fueron un tiempo de hidrólisis de 5.20 horas y una concentración de ácido clorhídrico de 3.92%. El almidón hidrolizado bajo las condiciones predichas por el diseño, las cuales se validaron experimentalmente, presentó un índice de emulsificación de 0.60.



**Figura 17.** Región óptima del proceso de hidrólisis ácida del almidón de yuca cerosa para la elaboración de emulsiones.

#### 4. Modificación del almidón hidrolizado óptimo de yuca cerosa mediante succinatación

Diferentes autores (Marku y col. 2012; Li y col. 2013; Timgren y col. 2013; Bello-Pérez y col. 2015; Simsek y col. 2015), han reportado, que las propiedades emulsificantes de los gránulos de almidón, se pueden mejorar, realizando una modificación química mediante la incorporación de grupos OSA, que permitan incrementar su carácter hidrofóbico. Por lo que el almidón hidrolizado bajo las condiciones óptimas (HCl 3.92% y 5.20 h), de acuerdo a los resultados obtenidos del diseño de experimentos, fue succinutado con octenil succinato anhidro, obteniendo un valor de grado de sustitución de  $0.023\% \pm 0.001$ .

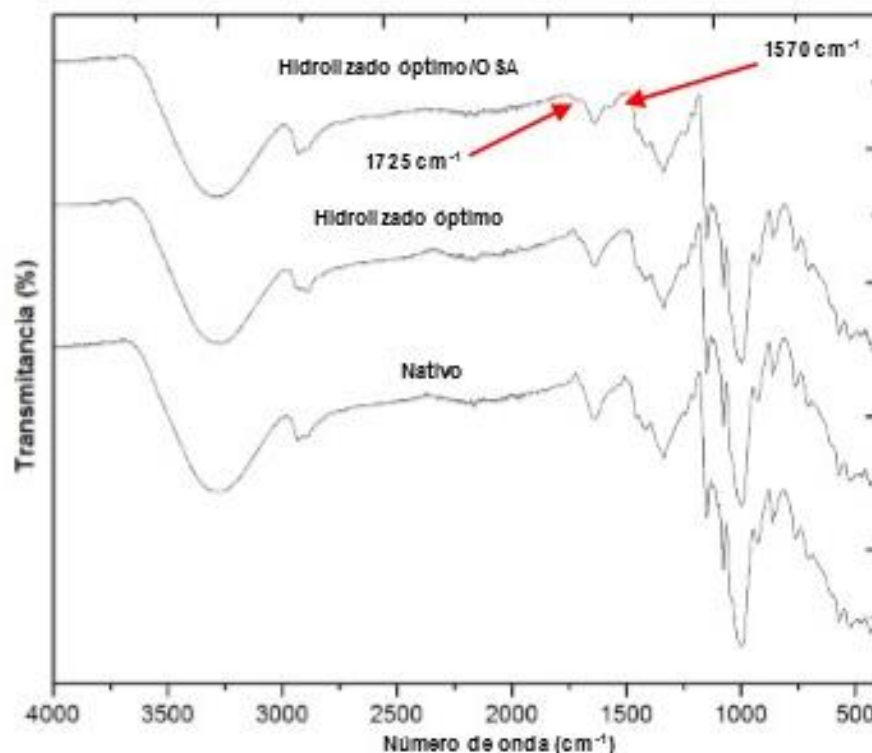
##### 4.1 Espectroscopia de infrarrojo

En la Figura 18, se muestra el espectro de infrarrojo de cada uno de los almidones: nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA, utilizados para la estabilización de las emulsiones. Una banda ancha apareció aproximadamente a



3340  $\text{cm}^{-1}$ , que es característica de los grupos hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ). El almidón típico en la región de la huella digital aparece entre 800 y 1200  $\text{cm}^{-1}$ , atribuidos a la vibración de estiramiento del grupo C-O. La banda alrededor de 1015  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyó a los grupos C-O de la C-O-C en el polisacárido; las bandas cerca de 1081 y 1160  $\text{cm}^{-1}$  son características del anillo de glucosa anhidra C-O; la banda cerca de 930  $\text{cm}^{-1}$  fue asignada a la vibración modo de esqueleto de  $\alpha$ - (1-4) glucosídico, y la banda cerca de 850  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a los enlaces C-H y la deformación  $\text{CH}_2$  (Miao y col., 2014).

En comparación con el almidón nativo e hidrolizado óptimo, el espectro de infrarrojo del hidrolizado-OSA, mostró dos bandas adicionales alrededor de 1570 y 1725  $\text{cm}^{-1}$ . La primera banda está asociada a la vibración de tensión de  $\text{C} = \text{O}$ , mientras que la segunda banda a 1570  $\text{cm}^{-1}$ , se atribuye a la vibración de tensión asimétrica de  $\text{RCOO}^-$  carboxilato. Los resultados de infrarrojos muestran que algunos grupos hidroxilo en el almidón, fueron sustituidos por grupos carbonilo y carboxilo éster de OSA (Liu y col., 2008; Simsek y col., 2015).



**Figura 18.** Espectro de infrarrojo de almidones modificados de yuca cerosa.

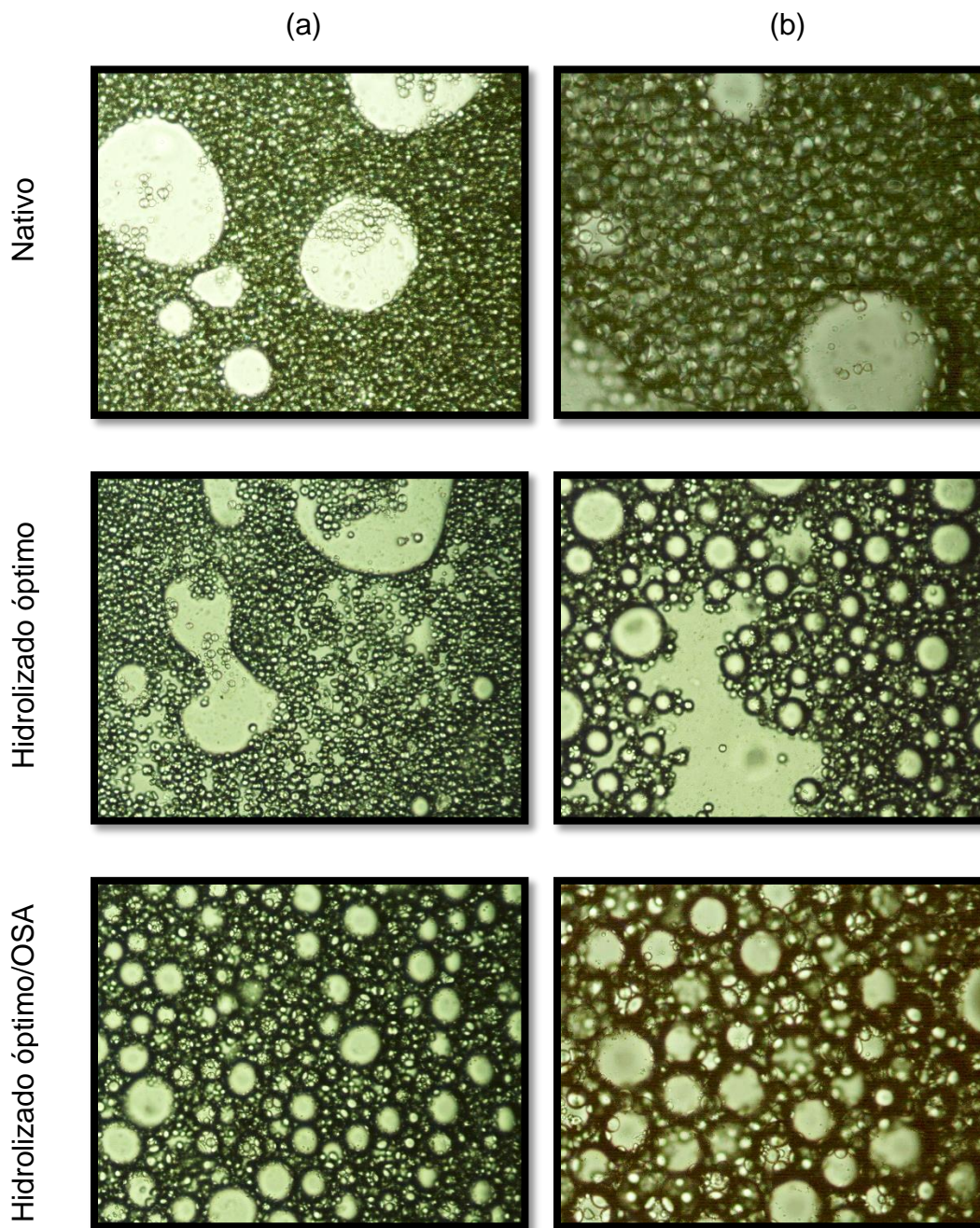
## 4.2 Microscopía de luz

Las emulsiones fueron observadas bajo microscopía de luz transmitida a 20X y 40X, respectivamente, después de 1 día de ser elaboradas. En la Figura 19, se observó cómo los gránulos de almidón nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado/OSA, se encontraban adsorbidos en las gotículas de aceite, cuando se empleó una concentración de 200 mg de almidón/mL de aceite. En donde se pudo evidenciar que, para el caso del almidón nativo, las gotículas emulsionadas presentaron un mayor tamaño, debido a que la interacción gránulo-aceite fue limitada, en donde el almidón se encontraba suspendido, formando una barrera física, la cual, perdió estabilidad con el tiempo, reflejándose en una disminución de la capacidad emulsificante.

Por el contrario, en el almidón hidrolizado óptimo, se observaron gotículas de aceite de menor tamaño con respecto al almidón nativo, lo cual mostró un efecto satisfactorio en la estabilidad de la emulsión. A 40X, se observó una matriz de gotículas con variación en la distribución del tamaño de las mismas, donde los gránulos se observaron alrededor de las gotículas, creando una barrera estérica, que evito la coalescencia de las gotículas de aceite.

Para el caso de la emulsión con almidón hidrolizado óptimo/OSA, se observó una mayor estabilidad en la emulsión, debido a que las gotículas presentaron un menor tamaño, debido a que estas quedaron atrapadas en una película más densa de gránulos de almidón, actuando estos como una barrera estérica para inhibir las fuerzas de atracción entre las gotículas, mediante la formación de una película por los gránulos de almidón (monocapa) absorbidos en la interfase, en donde las interacciones gránulo-gránulo fueron gobernadas por fuerzas electrostáticas y de Van Der Waals, responsables de la estabilidad de la emulsión (Tcholakova y col. 2008; Hunter y col. 2008; Li y col. 2013), evitando de este modo la coalescencia. Un comportamiento similar ha sido reportado por diferentes autores, cuando emplearon otros almidones como arroz, plátano, quinoa, entre

otros (Marku y col. 2012; Li y col. 2013; Timgren y col. 2013; Bello-Pérez y col. 2015; Simsek y col. 2015).



**Figura 19.** Micrografías de luz de las emulsiones con almidones modificados de yuca cerosa a 20X (a) y 40X (b).

De acuerdo a lo observado en microscopia de luz, el almidón succinatado, presentó una mejor absorción en la interfase aceite/agua, formando una barrera

alrededor de las gotículas de aceite, donde las gotículas adyacentes, están estrechamente empaquetadas unas con otras, para formar la estructura de red. La combinación del mecanismo de Pickering y la red basada en gotículas contribuyó a la estabilización de las emulsiones (Hu y col., 2016).

#### **4.3 Microscopía electrónica de barrido del gránulo de almidón de yuca cerosa hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA**

Adicionalmente, en la Figura 12, se mostraron las micrografías del gránulo de almidón de yuca cerosa, hidrolizado bajo as condiciones óptimas, a 500 y 1500 aumentos, se observó una ligera modificación en la forma truncada, lo cual significa que las condiciones del tratamiento de hidrólisis ácida, modificó ligeramente la superficie del gránulo, sin cambios aparentes en el tamaño y forma de los mismos con respecto al almidón nativo.

Con respecto al gránulo de almidón, con modificación dual (hidrolizado óptimo/OSA), en la Figura 12, se muestran las micrografías a 500 y 1500 aumentos, observándose que los gránulos del almidón presentaron una forma poliédrica, variando con respecto al almidón nativo e al hidrolizado bajo las condiciones óptimas. El tamaño promedio de los gránulos disminuyo ligeramente, con un promedio de 10.2  $\mu\text{m}$ . Debido a las características morfológicas del gránulo, no se logró determinar los valores mínimos y máximos del diámetro y altura del gránulo, confirmando así, que la incorporación de grupos OSA modificó la forma y superficie del gránulo de almidón.

#### **4.4 Índice de emulsificación del almidón de yuca cerosa nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA**

En la Tabla 9, se muestran los valores calculados del índice de emulsión de los almidones de yuca cerosa nativo y modificados (hidrolizado óptimo e hidrolizado

óptimo/OSA), evaluados a 1, 7 y 14 días después de la elaboración de las emulsiones, a fin de evaluar su estabilidad durante un periodo de tiempo.

Se observó que el almidón nativo, formó una emulsión estable, obteniendo una emulsión con un IE de 0.59 al día 1, sin embargo, la estabilidad de la emulsión se vio influenciada, con respecto al tiempo, ya que su valor de IE, disminuyó significativamente, obteniendo un valor de IE de 0.35 y 0.30 a los 7 y 14 días, respectivamente.

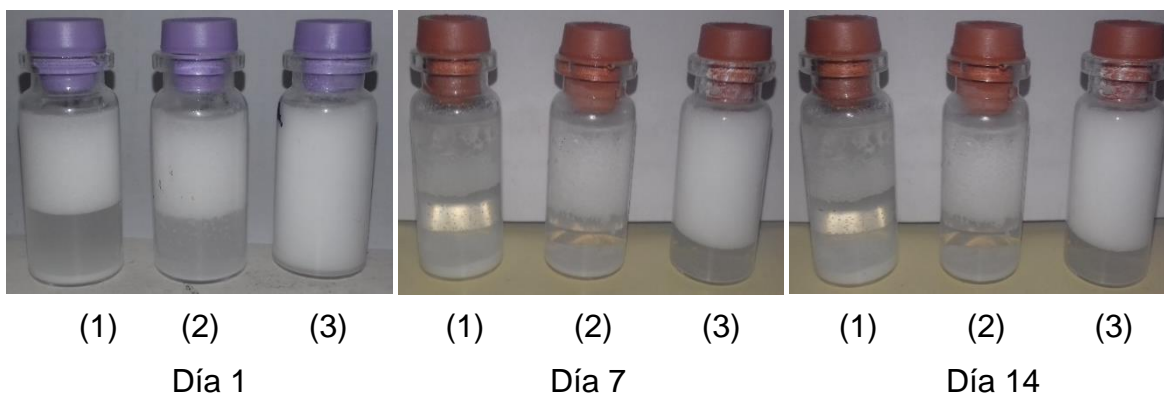
Este comportamiento presentado por el almidón nativo, se debe al desplazamiento de las gotículas de aceite a la superficie, causando la formación del “creaming”, en donde se observó que los gránulos nativos, por efecto de la gravedad, sedimentaron, reduciendo la altura de la emulsión, lo cual guarda relación con lo observado en la Figura 13, donde en los días 7 y 14, se presentaron tres zonas en los viales; la parte superior, la fase dispersa (aceite), la segunda parte, la fase continua (buffer) y la tercera parte, que correspondió a los gránulos de almidón sedimentados. Lo anterior, también ha sido reportado por otros autores (Li y col., 2013) en almidones nativos de maíz, de papa y de trigo, donde encontraron que estos almidones, debido al tamaño y forma de sus gránulos, no lograban estabilizar las emulsiones, mientras que el almidón de arroz, presentó estabilidad en las emulsiones, favorecido por el tamaño de sus gránulos.

Con respecto al almidón hidrolizado óptimo, este presentó un comportamiento satisfactorio en la estabilidad de la emulsión, ya que obtuvo un valor de IE de 0.62 al día 1, sin embargo, este parámetro disminuyó ligeramente al día 7, a un valor de 0.57 y se mantuvo con este mismo valor hasta el día 14, lo cual corresponde con el valor obtenido en la optimización de la hidrólisis ácida al día 1 (Figura 18). Los valores de IE encontrados en el almidón hidrolizado bajo las condiciones óptimas, pueden ser debidos a una mayor interacción en la interfase, entre los gránulos de almidón y la fase dispersa, provocando que las gotículas quedaran atrapadas entre los gránulos de almidón (Hoover, 2000), lo cual puede ser corroborado en

las imágenes presentadas en la Figura 20, donde se observó que la zona de emulsión formada presento un menor tamaño de gota.

**Tabla 9.** Resultados de índice de emulsificación de las emulsiones con almidón nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA de yuca cerosa a diferentes días

Emulsión	Día 1	Día 7	Día 14
<b>Nativo</b>	0.59	0.35	0.30
<b>Hidrolizado óptimo</b>	0.62	0.57	0.57
<b>Hidrolizado óptimo/OSA</b>	1.00	0.84	0.78



**Figura 20.** Índice de emulsificación de las emulsiones con almidón nativo (1), hidrolizado óptimo (2) e hidrolizado óptimo/OSA (3) de yuca cerosa evaluados a 1, 7 y 14 días.

Un comportamiento similar se observó con respecto el almidón con modificación dual (hidrolizado óptimo/OSA), obteniéndose un valor de IE de 1.0 al día 1 (máximo valor de IE que se puede obtener), mostrando una mayor estabilidad con el transcurso del tiempo, en comparación con el almidón nativo e hidrolizado bajo las condiciones óptimas. Los valores de IE, disminuyeron hasta un valor de 0.84 y 0.78 a los 7 y 14 días, respectivamente.

Aunque el valor de IE del almidón OSA, disminuyó de una manera más drástica en función del tiempo, en comparación a los almidones nativo e hidrolizado bajo las condiciones óptimas, las emulsiones obtenidas fueron más estables y no se presentó almidón sedimentado durante los 14 días. El comportamiento presentando por este almidón puede deberse a que los gránulos interactúan en mayor manera con la fase dispersa, debido al carácter hidrofóbico de los grupos OSA, incorporados al almidón, que hace que estos permanezcan más fuertemente unidos a las gotículas de aceite, resaltándose que se presentó una separación de la fase continua de la emulsión, por lo que los valores de IE disminuyeron, sin presentar coalescencia ni cambio aparente en el tamaño de las gotículas de aceite durante los días evaluados.

De acuerdo a los resultados obtenidos, los valores superiores de IE para este almidón, se atribuyen al grupo OSA, ya que permite una mayor interacción entre la fase dispersa y los gránulos de almidón en la interfase de la emulsión, como consecuencia del carácter anfifílico inducido en los gránulos (Song y col. 2015; Ettelaie y col. 2016). Bello-Pérez y col. (2015), reportaron que el grupo OSA, tiene un efecto significativo sobre la estabilidad de las emulsiones, donde esta se incrementa conforme se incrementa el grado de sustitución de grupos OSA en el almidón.

#### **4.5 Potencial Z de las emulsiones con almidón de yuca cerosa nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA**

En la Tabla 10, se muestran los valores obtenidos del potencial Z de las emulsiones con almidón nativo, hidrolizado bajo las condiciones óptimas e hidrolizado óptimo/OSA de yuca cerosa a 1 día de ser elaboradas. En la emulsión preparada con el almidón nativo se obtuvo un valor de -16.8 mV, mostrando que este almidón presenta un valor elevado en su carga superficial, lo que influyó en la estabilidad de la emulsión, ya que esta disminuyó con respecto al tiempo, provocando que el almidón fácilmente sedimentara y no lograra formar una

monocapa suficientemente densa que permitiera mantener atrapadas las gotículas de la fase oleosa, esto debido a las diferentes interacciones y fuerzas antes mencionadas, lo cual concuerda con lo anteriormente discutido.

Sin embargo, se observó que en la emulsión elaborada con el almidón hidrolizado bajo las condiciones óptimas, disminuyó el valor de su potencial Z, debido a que el proceso de hidrólisis ácida modificó por completo la distribución de carga superficial del almidón nativo, obteniéndose un valor de -6.85 mV, lo que mejoró la estabilidad inicial de la emulsión. De igual manera, se observó que en la emulsión preparada con el almidón con modificación dual (hidrolizado óptimo/OSA), cuando se introduce el grupo OSA, que proporciona el carácter hidrofóbico, aumentó el potencial Z de la emulsión, obteniéndose un valor de -11.5 mV, brindando así, una mayor estabilidad a la emulsión con respecto al tiempo, debido a una mejor distribución de las cargas superficiales con respecto a los grupos no polares incluidos en la superficie del gránulo de almidón.

**Tabla 10.** Resultados de potencial Z (PZ) de las emulsiones con almidón nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA de yuca cerosa al día 1

Emulsión	PZ (mV)
Nativo	-16.8
Hidrolizado óptimo	-6.85
Hidrolizado óptimo/OSA	-11.5

#### 4.6 Tamaño de partícula de las emulsiones con almidón de yuca cerosa nativo, hidrolizado óptimo e hidrolizado óptimo/OSA

En la Figura 21, se muestra la distribución de tamaño partícula de las emulsiones después de 1 día de su elaboración, donde se observó que, la emulsión obtenida con almidón nativo (1), mostró en la zona 2 un valor promedio de 11  $\mu\text{m}$  en la distribución de tamaño de partícula, lo cual concuerda con lo reportado en el tamaño promedio (10.7  $\mu\text{m}$ ) del gránulo de almidón (Figura 12), de igual manera, las gotículas emulsionadas presentaron un tamaño similar al gránulo de almidón,



sin embargo, presentaron en la zona 3, un incremento del tamaño de gota  $>100 \mu\text{m}$ , en donde la estabilidad de la emulsión disminuyó con el transcurso del tiempo, ya que después de 14 días, el tamaño de partícula estuvo en función de la agregación de las gotículas de aceite, lo cual provocó la formación del “creaming”, lo cual guarda relación con lo obtenido en el IE (Tabla 9) y la Figura 20.

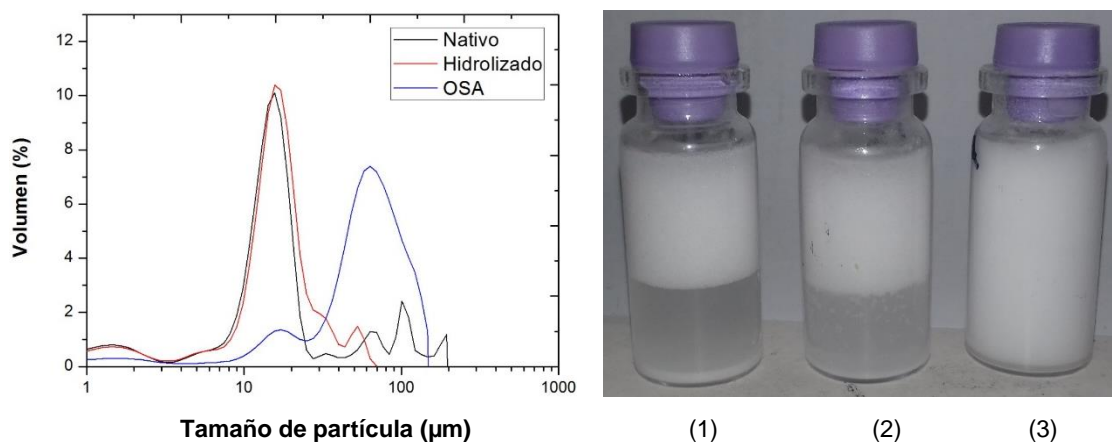
Por otro lado, la emulsión con almidón hidrolizado bajo las condiciones óptimas (2), también presentó en la zona 2, un valor promedio de  $11 \mu\text{m}$ , en la distribución de tamaño de partícula, lo cual, también concuerda con lo reportado en el tamaño promedio ( $10.9 \mu\text{m}$ ) del gránulo de almidón modificado por hidrólisis ácida (Figura 12). Sin embargo, en la zona 3, mostró un decremento en el tamaño de gota  $<100 \mu\text{m}$ , en contraste con su contraparte nativa, indicando que se mantuvieron gotículas de menor tamaño, de acuerdo a lo observado en la Figura 20 y en los valores de IE, por lo que, no presentó coalescencia.

En el caso del almidón hidrolizado óptimo/OSA (3), se observó que la zona 2, presentó un valor promedio de  $11 \mu\text{m}$ , en la distribución de tamaño, lo cual concuerda con lo reportado en el tamaño promedio ( $10.2 \mu\text{m}$ ) del gránulo de almidón con modificación dual (Figura 12). Sin embargo, a diferencia de los otros dos almidones, mostró que en la zona 3, hubo un aumento significativo en la amplitud de la distribución de tamaño de partícula, con respecto a la gotícula emulsionada, lo cual, es consistente con su valor de IE (Tabla 9), ya que las interacciones de los gránulos con la interfase se incrementaron, logrando cubrir las gotículas de aceite con los gránulos de almidón. De acuerdo a lo anterior, en la zona 3 de las gráficas de distribución de tamaño de partícula, se observa la formación de una emulsión de tamaño de gota uniforme y estable, por lo que se confirmó que el almidón OSA presentó un mejor poder de emulsificación.

De acuerdo a los resultados obtenidos, en sistemas dispersos como las emulsiones, se entiende la estabilidad, como la permanencia en el tiempo de sus parámetros básicos, tales como la dispersión y la distribución uniforme de la fase

dispersa en el medio (Tcholakova y col. 2008). En donde, en el caso del almidón OSA, se hizo evidente la formación de una barrera que impidió el acercamiento de las gotículas, y por lo tanto, evito la coalescencia, pudiéndose describir como una emulsión “cinéticamente estable” (Timgren y col. 2013; Song y col. 2015).

En el caso de los almidones, nativo e hidrolizado bajo condiciones óptimas, la inestabilidad presentada en las emulsiones, podría deberse a un incremento en el tamaño de gotícula, causado por cualquiera de estos tres fenómenos: coalescencia, floculación o maduración de Ostwald, donde estos mecanismos se ven favorecidos por el paso del tiempo, debido a la distribución no uniforme de las fuerzas de repulsión o atracción en la interface aceite/agua y al efecto de la gravedad, esta última provocando la sedimentación de las partículas o formación de creaming por las gotículas de aceite, donde, en el caso del almidón nativo, fue más notorio este efecto (Simsek y col. 2015).



**Figura 21.** Tamaño de partícula de las emulsiones con almidón nativo (1), hidrolizado óptimo (2) e hidrolizado óptimo/OSA (3) de yuca cerosa día 1.

#### 4.7 Reología

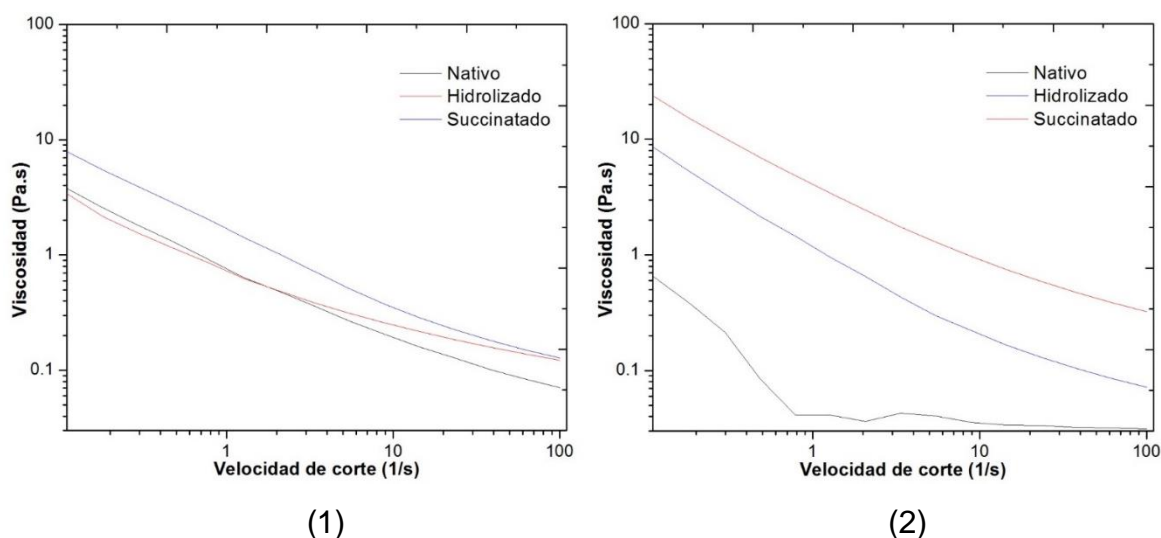
En la Figura 22, se muestran las curvas de flujo obtenidas de las emulsiones elaboradas a partir de los almidones nativo, hidrolizado bajo condiciones óptimas e hidrolizado/OSA. Las evaluaciones reológicas fueron realizadas a los 0 y 14 días.

En la figura de viscosidad vs. velocidad de corte, todas las muestras mostraron un comportamiento pseudoplástico, debido a que la viscosidad disminuyó al incrementarse la velocidad de corte (Steffe, 1996). Al día 14, las emulsiones elaboradas con almidón hidrolizado bajo condiciones óptimas e hidrolizado/OSA, presentaron valores de viscosidad mayores con respecto al día 0, y en el caso del almidón nativo, este presentó una caída en la viscosidad.

Se sabe que las curvas de flujo de las emulsiones, se relacionan directamente con la estabilidad de las mismas, en las emulsiones elaboradas con los almidones hidrolizado bajo condiciones óptimas e hidrolizado/OSA, presentaron un comportamiento de flujo que permite elucidar que, después de 14 días de preparadas las emulsiones, hubo una mayor interacción gránulo-gránulo en las emulsiones, lo cual ocasionó una mayor absorción en la interfase aceite/agua, mejorando la estabilidad de las mismas, evitando la coalescencia de las gotículas de aceite, lo cual está relacionado con la matriz formada en la interfase aceite/agua de la emulsión, la cual fue observada con más detalle en microscopia de luz (Figura 19), sin embargo, las emulsiones con hidrolizado/OSA mostraron una mejor estabilidad que las otras emulsiones. Por el contrario, las emulsiones elaboradas con almidón nativo, presentaron una caída en la viscosidad, debido a la sedimentación del almidón por efecto de una baja interacción con la interfase aceite/agua y por el tamaño de los gránulos, lo que no le permitió mantenerse en la suspensión en la emulsión, por lo que las gotículas de aceite presentaron coalescencia, reflejándose en la caída de la viscosidad.

En las Tablas 11 y 12, se muestran los parámetros calculados de la ley de la potencia de las curvas de flujo de las emulsiones, para los dos días evaluados. El parámetro de índice de flujo ( $n$ ), en todas las muestras, fue  $<1$ , confirmando el comportamiento pseudoplástico de las emulsiones (Steffe, 1996). En el parámetro de consistencia ( $k$ ), los valores fueron decreciendo en el siguiente orden: hidrolizado/OSA > hidrolizado > nativo. Este parámetro permite relacionar la viscosidad de las emulsiones, con la interacción entre los gránulos de almidón y la

interfase aceite/agua, por lo que, en el caso del almidón hidrolizado/OSA, un mayor valor de k, fue encontrado, como consecuencia de una mejor estabilización de la emulsión por parte de este almidón. Al día 14, mayores valores de k fueron calculados para los almidones hidrolizado bajo condiciones óptimas e hidrolizado/OSA, pues con el transcurrir del tiempo, hay una disminución en la energía libre y por ende de la tensión superficial (Torres y col., 2007), lo que se traduce en una mejor estabilización de las emulsiones. En el caso del almidón hidrolizado/OSA, la emulsión presentó el mayor valor de índice de consistencia, favorecido por una mejor estabilización de la misma, lo cual fue observado también en las Figuras 6 y 8, debido a los grupos OSA, incorporados en los gránulos de almidón, que permiten una mejor interacción entre estos y la fase dispersa (aceite).



**Figura 22.** Curvas de flujo al día 0 (1) y 14 (2) de las emulsiones con almidón de yuca cerosa.

**Tabla 11.** Parámetros del modelo de Ostwald-de Waele (ley de la potencia) día 0 de las emulsiones con almidón de yuca cerosa

Emulsión	R <sup>2</sup>	n (-)	k (Pa.s <sup>n</sup> )
Nativo	0.9948	0.3507	0.95
Hidrolizado	0.9829	0.4141	1.04
Succinatado	0.9953	0.3165	1.94

**Tabla 12.** Parámetros del modelo de Ostwald-de Waele (ley de la potencia) día 14 de las emulsiones con almidón de yuca cerosa.

Emulsión	R <sup>2</sup>	n (-)	k (Pa.s <sup>n</sup> )
<b>Nativo</b>	0.9135	0.3507	0.16
<b>Hidrolizado</b>	0.9935	0.4141	1.52
<b>Succinatado</b>	0.9916	0.3165	5.39

Torres y col., (2007), reportaron que las mediciones reológicas oscilatorias de los módulos de almacenamiento y de pérdida, pueden indicar si un sistema de emulsión, está fuerte o débilmente asociado, por lo que se llevaron a cabo los barridos de frecuencia de las emulsiones elaboradas con almidón nativo, hidrolizado bajo condiciones óptimas e hidrolizado/OSA. En la Figura 23, se muestran los barridos de frecuencia de las emulsiones a una deformación del 3%. Al día 0, todas las emulsiones mostraron valores de  $G'$  mayores a  $G''$ , siendo predominante el carácter elástico, sin embargo, las emulsiones con hidrolizado/OSA, mostraron mayores valores, seguidos por las emulsiones preparadas con almidones hidrolizados bajo condiciones óptimas y por último, la emulsiones elaboradas con almidones nativo. A una frecuencia mayor a 5 Hz, todas las emulsiones, al día 0, presentaron un entrecruzamiento de los módulos de  $G'$  y  $G''$ , por lo que a frecuencias altas las emulsiones perdieron su estabilidad.

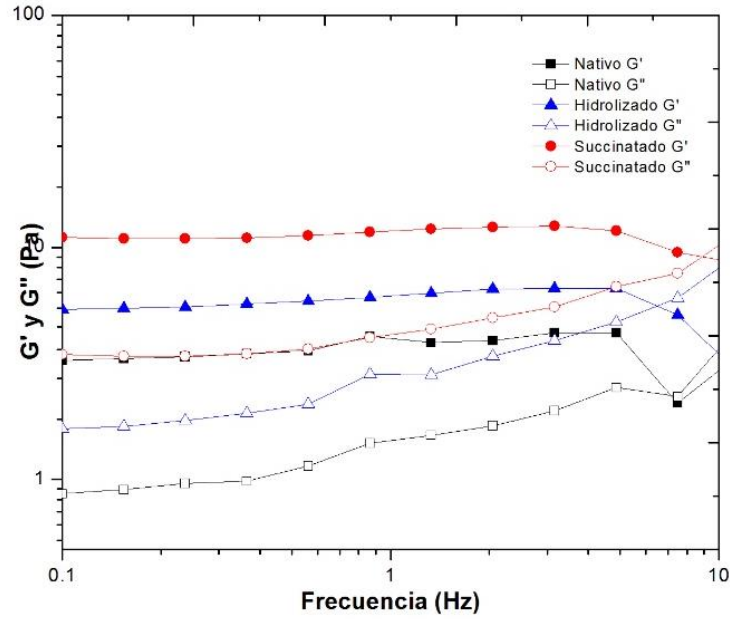
Al día 14, los valores de  $G'$  para las emulsiones con hidrolizado/OSA, se incrementaron como consecuencia de una disminución en la tensión superficial, favorecida por la presencia de grupos OSA, que interactúan entre sí, ayudando a mejorar la interacción granular y la interacción con la interfase aceite/agua, formando una película más densa de gránulos, actuando como barrera para la coalescencia de las gotículas de aceite, pues la energía cinética de estas no es la suficiente para desplazar a los gránulos de almidón (Torres y col., 2007). Para la emulsión elaborada con el almidón hidrolizado/OSA, los valores fueron  $G' > G''$ , lo cual es favorecido por la matriz formada por las gotículas de aceite, rodeadas por los gránulos de almidón (Figura 19). En el espectro de frecuencia evaluado, los módulos  $G'$  y  $G''$  no mostraron entrecruzamiento, reflejando la estabilidad en la

emulsión, por la incorporación de los gránulos de almidón de yuca cerosa con modificación dual.

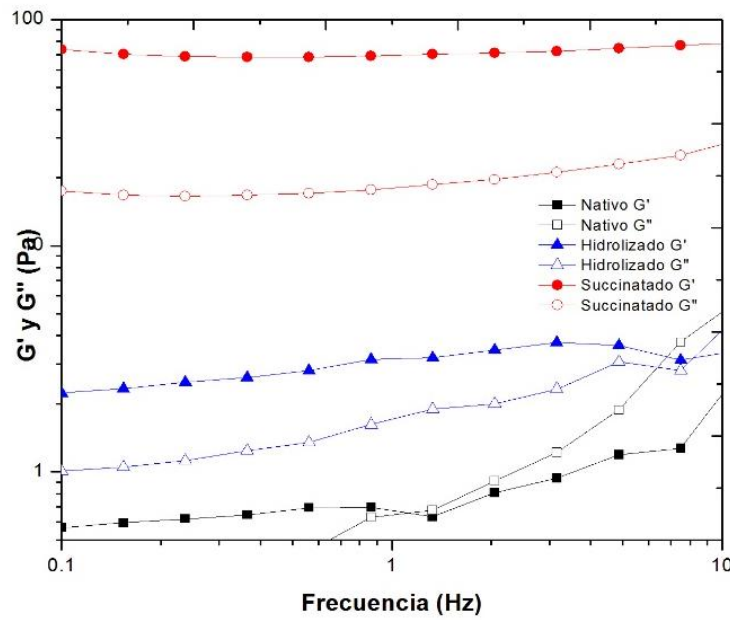
En el caso del almidón hidrolizado bajo condiciones óptimas, los valores de  $G'$  y  $G''$  disminuyeron en función del tiempo (día 0 y 14), reflejado por la sedimentación de algunos gránulos de almidón. A una frecuencia mayor de 5 Hz, los módulos presentaron entrecruzamiento, por lo que el carácter viscoso ( $G''$ ) fue mayor al carácter elástico ( $G'$ ), debido a la coalescencia de las gotículas de aceite y el desplazamiento de los gránulos de almidón de la interfase, favorecido por el incremento de la frecuencia.

Para el caso del almidón nativo, este presentó el entrecruzamiento de los módulos a frecuencias menores a 1 Hz, evidenciando menor estabilidad de las emulsiones tipo pickering con el uso de este almidón. Los valores menores de  $G'$  y  $G''$  y el entrecruzamiento previo de los módulos en el almidón nativo, en el día 14 con respecto al día 0, se evidenció la pérdida de estabilidad con el tiempo de la emulsión elaborada con este almidón, debido a que este no permanece en la interfase aceite/agua, por la falta de una modificación en la superficie del gránulo que le permitiera interactuar en la interfase.

De acuerdo a los resultados obtenidos y lo reportado por otros autores (Torres y Col., 2007; Bello-Pérez y Col., 2015), las emulsiones elaboradas con almidones modificados con grupos OSA, son físicamente estables, debido a su respuesta reológica, que en el caso de las emulsiones elaboradas con almidón de yuca cerosa hidrolizado/OSA,  $G'$  y  $G''$  fueron independientes de la frecuencia en el intervalo evaluado, presentando mejores propiedades emulsificantes. Estos resultados están en acuerdo con los resultados obtenidos durante la caracterización visual, el índice de emulsificación y la distribución del tamaño de partícula.



(1)



(2)

**Figura 23.** Barrido de frecuencia a 0 (1) y 14 (2) días de las emulsiones con almidón de yuca cerosa.

## VII. CONCLUSIONES

Durante los 14 días de evaluación de las emulsiones con almidón hidrolizado de yuca cerosa, se observó que los 16 tratamientos mantuvieron una zona de emulsión en este periodo de tiempo. Sin embargo, los tratamientos 4-V (5h/ HCl 5%) y 9-V (3.5h/ HCl 3.5%), mostraron un valor de IE de 0.59 constante, siendo las emulsiones que presentaron los valores más altos, ya que estos gránulos de almidón presentaron mejor capacidad emulsificante que los otros tratamientos.

De acuerdo a la optimización del proceso de hidrólisis ácida del almidón de yuca cerosa, las condiciones para mejorar las propiedades emulsificantes del almidón para su uso en emulsiones tipo Pickering fueron 5.20 h y una concentración de HCl al 3.92%. El almidón hidrolizado bajo las condiciones óptimas, mostro propiedades emulsificantes, que permitieron mantener la estabilidad de la emulsión, debido a la modificación en el grado de polimerización, solubilidad y carga superficial del gránulo.

La incorporación de grupos OSA, al almidón hidrolizado bajo condiciones óptimas, mejoró las propiedades emulsificantes de los gránulos de almidón de yuca cerosa, como consecuencia de proporcionar el carácter hidrófobo al gránulo, permitiendo una mayor estabilidad de la emulsión, lo que mejoró las interacciones gránulo-gránulo lo que favoreció que el almidón fuese absorbido en la interface aceite-agua, limitando la coalescencia de las gotículas, debido a la disminución de la energía libre y de la tensión superficial.

Las emulsiones elaboradas a partir de almidón de yuca cerosa modificado mediante hidrólisis ácida y succinatación, fueron físicamente estables, debido a su respuesta reológica, ya que el índice de consistencia (k) incremento con respecto al tiempo y en el espectro mecánico,  $G'$  y  $G''$ , fueron independientes en el intervalo de frecuencia estudiado durante los 14 días, como consecuencia de la formación de una matriz de gotículas emulsificadas por los gránulos de almidón modificados.



## VIII. REFERENCIAS

- Agustiniano, J. C. (2004). Obtención de almidón resistente mediante extrusión a partir de almidón de mango *Mangifera indica* L. (Var. Tommy Atkins). Yautepec, Morelos. Instituto Politécnico Nacional Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias en desarrollo de productos bióticos. 5-15.
- Aranberri, B. P., Binks, J. H., Clint, P. D. (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensioactivos. Revista Iberoamericana de Polímeros. Surfactant and Colloid Group, The University of Hull, Hull, HU6 7RX, Reino Unido.
- Aveyard, R., Binks, B. P., and Clint, J. H. (2003). Emulsions stabilised solely by colloidal particles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 100, 503-546.
- Baker, A. A., Miles, M. J. y Helbert, W. 2001. Internal structure of the starch granule revealed by AFM. *Carbohydrate Research*. 330 (2): 249-256.
- Bello-Pérez, L. A., Méndez-Montealvo, G., y Solorza-Feria, J. (2002). Estructura molecular de almidones. Memorias de Investigación. CeProBi-IPN, México.
- Bello-Pérez, L. A., Bello-Flores, C. A., Del Carmen Nuñez-Santiago, M., Coronel-Aguilera, C. P., and Alvarez-Ramirez, J. (2015). Effect of the degree of substitution of octenyl succinic anhydride-banana starch on emulsion stability. *Carbohydrate polymers*, 132, 17-24.
- Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., Sayago-Ayerdi, S., Moreno-Damian, E., and Figueroa, J. (2000). Some structural, physicochemical and functional studies of banana starches isolated from two varieties growing in Guerrero, México. *Starch/Starke*.
- BeMiller, J. (2003). *Starch/modified starches*. Elsevier Science Ltd. Pág. 5576-5579.
- BeMiller, J., and Whistler, R. (2009). *Starch: chemistry and technology*. (3<sup>rd</sup> ed). Oxford: Elsevier.

- Bergenstahl, B. A. and Claesson, P. M. (1997). Surface forces in emulsion. En: S. E. Friberg y K Larsson (Eds). Food emulsions. (3<sup>rd</sup> ed). Marcel Dekker, Inc. Nueva York. pp. 57-109.
- Bhosale, R. and Singhal, R., (2006). "Process optimization for the synthesis of octenyl succinyl derivative of waxy corn and amaranth starches", *Carbohydrate Polymers*, vol. 66, p. 521-527.
- Biliaderis, C. G. (1991). The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 69, 68-70.
- Binks, B. P. (2002). Particles as surfactants—similarities and differences. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 7(1), 21-41.
- Binks, B. P., and Rocher, A. (2009). Effects of temperature on water-in-oil emulsions stabilized, solely by wax microparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 335(1), 94-104.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., and Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International journal of biological macromolecules*, 23, 85-112.
- Capron, I., and Cathala, B. (2013). Surfactant-free high internal phase emulsions stabilized by cellulose nanocrystals. *Biomacromolecules*, 14(2), 291-296.
- Ceballos, H., Sanchez, T., Morante, N., Fregene, M., Dufour, D., Smith, A., Denyer, S., Peáñez, J., Calle, F. y Mestres C. (2007). Discovery of an amylose free starch mutant in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 7469-7476.
- Chen, J., Vogel, R., Werner, S., Heinrich, G., Clausse, D., and Dutschk, V. (2011). Influence of the particle type on the rheological behavior of Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 382(1-3), 238-245.
- Cui, S. (2005). Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications. Taylor and Francis group. USA.
- Clint, J. H. (1991). "Surfactant Aggregation", New York, Chapman and Hall.

- Davis, J. P., Supatcharee, N., Khandelwal, R. L. and Chibbar, R. N. (2003). Synthesis of novel starches in planta: opportunities and challenges. *Starch/Starke* 55, 107–120.
- Dickinson, E. (2011). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*.
- Eliasson, A. (2004). *Starch in food. Structure, function and applications*. CRC Press. Cambridge, England.
- Ellis, R. P., Cochrane, M. P., Dale, M. F. B., Duffus, C. M., Lynn, A., Morrison, I. M., Prentice, R. D. M., Swanston, J. S. and Tiller, S. A. (1998). Starch production and industrial uses. *J. Sci. Food Agric.* 77, 289–311.
- Ettelaie, R., Holmes, M., Chen, J., Farshchi, A. (2016). Steric stabilizing properties of hydrophobically modified starch: amylose vs amylopectin. *Food Hydrocolloids*. 58, 364-377.
- Fletcher P. D. I. and Horsup D. I. J. (1992). *Chem. Soc. Faraday Trans.* 88, 855.
- Fonseca, H., Hernández, J., Rodríguez, A., Castro, J., Acevedo, O., Chavarria, N., Gómez, C. (2016). Thermal, rheological and mechanical properties of normal corn and potato starch blends. *International Journal of Food Properties*, “in press”.
- Folter, J. W., van Ruijven, M. W. M. and Velikov, K. P. (2012). Oil-in-water pickering emulsions stabilized by colloidal particles from water-insoluble protein zein. *Soft Matter*, 8(25), 6807-6815.
- French, D. (1972). Fine structure of starch and its relationship to the organization of starch granules. *Denpun Kagaku*. 19: 8-25.
- Gao, Q. X., Wang, C. Y., Liu, H. X., Wang, C. H., Liu, X. X., and Tong, Z. (2009). Suspension polymerization based on inverse Pickering emulsion droplets for thermo-sensitive hybrid microcapsules with tunable supracolloidal structures. *Polymer*, 50(12), 2587-2594.
- Garti, N. and Lutz, R. (2004). Recent progress in double emulsions. En: Petsev, D.N. *Emulsions: Structure stability and interactions*. pp. 557-605.

- González, M. (2010). Fuerzas de Van Der Waals. Recuperado de: <http://quimica.laguia2000.com/conceptos-basicos/fuerzas-de-van-der-waals>.
- Guzmán, H. and Paredes, O. (1995). Amylolytic enzymes and products derived from starch: A review. *Critical in Food Science and Nutrition*. 35 (5): 373-403.
- Gross, R. A. (2000). Distribution of octenyl succinate groups in octenyl succinic anhydride modified waxy maize starch. *Starch/Stärke*, 52, 196-204.
- Hanashiro, I., Abe, J. I., and Hizukuri, S. (1996). A periodic distribution of the chain length of amylopectin as revealed by highperformance anion-exchange chromatography. *Carbohydrate research*, 283, 151-159.
- Hizukuri, S. (1985). Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. *Carbohydrate research*, 141, 295-306.
- Hoover, R. (2000). Acid-treated starches, *Food Reviews International*, 16:3, 369-392.
- Hoover, R. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydrate Polymers*. 45, 253- 267.
- Hosney, R. C. (1991). *Principios de ciencia y tecnología de los cereales*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Cock, H. J, (1989) *La yuca, Nuevo Potencial Para un Cultivo Tradicional: Centro Internacional de Agricultura Tropical*.
- Hizukuri, S. (1986). Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins, and its significance. *Carbohydrate research*, 147, 342-347.
- Hu, Y. Q., Yin, S. W., Zhu, J. H., Qi, J. R., Guo, J., Wu, L. Y., y Yang, X. Q. (2016). Fabrication and characterization of novel Pickering emulsions and Pickering high internal emulsions stabilized by gliadin colloidal particles. *Food Hydrocolloids*, 61, 300-310.
- 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(1), 81-86.

- Hunter, T. N., Pugh, R. J., Franks, G. V., Jameson, G. J. (2008). The role of particles in stabilizing foams and emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*. 137, 57-81.
- 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, 405-409.
- Kabalnov A. S. (1998). "Coalescence in Emulsions in Modern Aspects of Emulsions Science", B.P. Binks (Editor), Cambridge, RSC.
- Karam, L., Grossmann, M., Silva, R., Ferrero, C. y Zaritzky, N. E. (2005). Gel textural characteristics of corn, cassava and yam starch blends: A mixture surface response methodology approach. *Starch/Starke*. 57(2), 62-70.
- Kim, C. T., Kyonggu, D., Shih, F. F., Champagne, E. T., and Daigle, K. (1999). Effects of phosphorylating salts and temperatura on the preparation of rice starch phosphates by extrusión. *Starch/Starke*. 51 (8-9): 260-286.
- Kōzō, S., Hiroshi, S. (1969). The Stability of O/W type emulsions as functions of temperature and the HLB of emulsifiers: The emulsification by PIT-method. *Journal of Colloid and Interface Science*. 30: 258-263.
- Liang, H. N., and Tang, C. H. (2014). Pea protein exhibits a novel Pickering stabilization for oileinewater emulsions at pH 3.0. *LWTeFood Science and Technology*. 58(2), 463-469.
- Li, C., Li, Y., Sun, P., and Yang, C. (2013). Pickering emulsions stabilized by native starch granules. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 431, 142-149.
- Light, J. M. (1990). Modified Food starches: why, what, where and how. *Cereal Foods World*. 35. 1081-1092.
- Liu, Z., Li, Y., Cui, F., Ping, L., Song, J., Ravee, Y. (2008). Production of octenyl succinic anhydride-modified waxy corn starch and its characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 11499–11506.
- Luo, Z. J., Murray, B. S., Ross, A. L., Povey, M. J. W., Morgan, M. R. A., and Day, A. J. (2012). Effects of pH on the ability of flavonoids to act as Pickering emulsion stabilizers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 92,84-90.

- Marku, D., Wahlgren, M., Rayner, M., Sjö, M., and Timgren, A. (2012). Characterization of starch Pickering emulsions for potential applications in topical formulations. *International journal of pharmaceutics*. 428(1), 1-7.
- McClements, J. (1999) Food Emulsions. Principles, Practice and Techniques. New York: CRC Press.
- McClements, J. (2012) Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft matter*.
- Miao, M., Li, R., Jiang, B., Cui, S., Zhang, T, and Jin, Z. (2014). Structure and physicochemical properties of octenyl succinic esters of sugary maize soluble starch and waxy maize starch. *Food Chemistry*. 151, 154-160.
- Morikawa, K. y Nishinari, K. (2000). Rheological and DSC studies of chemically modified starch. *Hydrocolloids Part 1: Physical chemistry and industrial application of gels, polysaccharides, and proteins*. Pág. 319-324.
- Moorthy, S. N. (2004). Tropical sources of starch. In *Starch in Food*; Eliasson, A. C., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL.321-359.
- Munyikwa, T. R. I., Lageveld, S., Salehuzzaman, S. N. I. M., Jacobsen, E., Visser, R. G. F. (1997). Cassava starch biosynthesis: new avenues for modifying starch quantity and quality. *Euphytica*. 96, 65–75.
- Myers, D. (1996). *Surfaces, interfaces and colloids: principles and applications*. VCH Publishers. E.E.U.U. 433 P.
- Nilsson, L. and Bergenståhl, B. (2006). Adsorption of hydrophobically modified starch at oil/water interfaces during emulsification. *Langmuir*. 22(21), 8770-8776.
- Obanni, M., and BeMiller, J. (1997). Properties of some starch blends. *Cereal Chemistry*. 74, 431-436.
- Pan, D. D., and Jane, J. L. (2000). Internal structure of normal maize starch granules revealed by chemical surface gelatinization. *Biomacromolecules*. 1, 126-132.
- Paredes-Lopez, O., Bello-Perez, L. A., y López, M. G. (1994). Amylopectin: Structural, gelatinisation and retrogradation studies. *Food Chemistry*. 50, 411-417.

- Park, E., Kim, H., Kim, J. and Lim, S. (2009). Pasting properties of potato starch and waxy maize starch mixtures. *Starch/Starke*. 61, 352–357.
- Pérez, S. y Bertoft, E. (2010). The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. *Starch/Stärke*. 62, 389-420.
- Plate, S., Diekmann, S., Steinhäuser, U. and Drusch, S. (2012). Determination of the degree of substitution of hydrolysed octenylsuccinate-derivatised starch. *LWT-Food Science and Technology*. 46(2), 580-582.
- Sáyago-Ayerdi, S. (2004). Estudio de biodisponibilidad del almidón en una mezcla de tortilla de maíz y frijol. Tesis de maestría. Centro de desarrollo de productos bióticos, Departamento de desarrollo tecnológico. Instituto Politécnico Nacional. México.
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*. Freeman press.
- Rayner, M., Timgren, A., Sjöö, M., and Dejmek, P. (2012). Quinoa starch granules: a candidate for stabilising foodegrade Pickering emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92(9), 1841-1847.
- Rousseau, D. (2013). Trends in structuring edible emulsions with Pickering fat crystals. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. 18(4), 283-291.
- Sánchez, T., Mafla, G, Morante, N., Ceballos, H., Dufour, D., Calle, F., Moreno, X., Pérez, J. C., Debouck, D. (2009). Screening of starch quality traits in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Starch/Starke*. 61, 12–19.
- Simsek, S., Ovando-Martinez, M., Marefati, A., Sjöö, M., and Rayner, M. (2015). Chemical composition, digestibility and emulsification properties of octenyl succinic esters of various starches. *Food Research International*. 75, 41-49.
- Singh, N., Singh, J., Lovedeep, K., Singh, N. y Singh, B. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*. 81, 219-231.

- Song, X., Pei, Y., Qiao, M., Ma., F., Ren, H. (2015). Preparation and characterizations of pickering emulsions stabilized by hydrophobic starch properties. *Food Hydrocolloids*. 45, 256-263.
- Shogren, R. L., Vishwanathan, A., Felker, F. and Gross, R. A. (2000). Distribution of octenil succinate groups in octenil succinic anhydride modified waxy maize starch. *Starch/Starke*. 52: 196-204.
- Srichuwong, S., Sunarti, T., Mishima, T., Isono, N. y Hisamatsu, M. (2005). Starches from different botanical sources I: Contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. *Carbohydrate Polymers*. 60, 529-538.
- Srichuwong, S., and Jane, J. (2007). Physicochemical properties of starch affected by molecular composition and structures: a review. *Food science and biotechnology*. 16, 663-674.
- Sweedman, M., C., Schäfer, C., and Gilbert, R. G. (2014). Aggregate and emulsion properties of enzymatically-modified octenylsuccinylated waxy starches. *Carbohydrate polymers*. 111, 918-927.
- Swinkels, J. (1985). Composition and properties of commercial native starches. *Starch/stärke*. 37, 1-5.
- Tan, Y., Xu, K., Liu, C., Li, Y. L., Lu, C. G., and Wang, P. X. (2012). Fabrication of starchebased nanospheres to stabilize Pickering emulsion. *Carbohydrate Polymers*. 88(4), 1358-1363.
- Tcholakova, S., Denkov, N., D., Lips, A. (2008). Comparison of solid particles, globular proteins and surfactants as emulsifiers. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 10, 1608-1627.
- Tester. R., Karkalas, J. and Qi, X. (2004). Starch-composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*. 29, 151-165.
- Tesch, S., Gerhards, Ch. and Schubert, H. (2002). Stabilization of emulsions by OSA starches. *Journal of Food Engineering*. 54 (2): 167-174.
- Timgren, A., Rayner, M., Dejmek, P., Marku, D., y Sjöö, M. (2013). Emulsion stabilizing capacity of intact starch granules modified by heat treatment or octenyl succinic anhydride. *Food science and nutrition*. 1, 157-171.



- Timgren, A., Rayner, M., Sjöö, M., and Dejmek, P. (2011). Starch particles for food based Pickering emulsions. *Procedia Food Science*. 1,95-103.
- Torres, L. G., Iturbe, R., Snowden, M. J., Chowdhry, B. Z., and Leharne, S. A. (2007). Preparation of o/w emulsions stabilized by solid particles and their characterization by oscillatory rheology. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 302(1), 439-448.
- Tzoumaki, M. V., Moschakis, T., Kiosseoglou, V., and Biliaderis, C. G. (2011). Oileinewater emulsions stabilized by chitin nanocrystal particles. *Food Hydrocolloids*. 25(6), 1521-1529.
- Utrilla-Coello, R.G. Hernández-Jaimes, C., Carrillo-Navas, H., González, F., Rodríguez, E., Bello-Pérez, L.A. Vernon-Carter, E.J., Alvarez-Ramirez, J. (2014). Acid hydrolysis of native corn starch: Morphology, crystallinity, rheological and thermal properties. *Carbohydrate Polymers*, 103, 596-602.
- Wege, H. A., Kim, S., Paunov, V. N., Zhong, Q., and Velez, O. D. (2008). Longterm stabilization of foams and emulsions with in situ formed microparticles from hydrophobic cellulose. *Langmuir*. 24(17), 9245-9253.
- Yusoff, A., and Murray, B. S. (2011). Modified starch granules as particle stabilizers of oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*. 25(1), 42-55.
- Zobel, H. F. (1988). Molecules to granule: a comprehensive starch review. *Starch/starke*, 40, 44–50.