



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO



Instituto de Ciencias Agropecuarias

Maestría en Ciencia de los Alimentos

Propiedades fisicoquímicas y funcionales de mezclas de almidones de yuca (cerosa y normal), químicamente modificados y su posible aplicación como material pared.

T E S I S

Para obtener el grado de:

Maestra en Ciencia de los Alimentos

Presenta:

L. Q. A. María Montserrat Cruz Benitez

Director de Tesis:

Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa

Co-Director de Tesis:

M. C. A. Heidi Andrea Fonseca Florido

Tulancingo de Bravo, Hidalgo. Noviembre 2016



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

Coordinación de Investigación y Posgrado del ICAP



Acta de la reunión del comité de Tesis de Maestría en Ciencias de los Alimentos

Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis titulada como; **“Propiedades fisicoquímicas y funcionales de mezclas de almidones de yuca (cerosa y normal), químicamente modificados y su posible aplicación como material pared”**, que desarrollo el estudiante: Lic. Químico en Alimentos **Maria Montserrat Cruz Benitez**.

Asistentes:

Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa
M.C. Heidi Andrea Fonseca Florido
Dr. Javier Castro Rosas
Dra. Esmeralda Rangel Vargas

A. Revisión del trabajo de tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por el estudiante, comunicándole oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo de investigación y poder continuar con el proceso de titulación para obtener el grado de Maestro en Ciencia de los Alimentos. El estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que el estudiante imprima su trabajo final de tesis y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE

“AMOR, ORDEN Y PROGRESO”

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 28 de Octubre del 2016

Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa

M.C. Heidi Andrea Fonseca Florido

Dr. Javier Castro Rosas

Dra. Esmeralda Rangel Vargas



Av. Universidad km.1, Rancho Universitario
C.P. 43600. Tulancingo, Hidalgo, México
Tel. +52 771 7172000 Ext. 2421

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias y al comité de profesores, por darme la aceptación al programa de maestría en Ciencia de los Alimentos y el apoyo para permanecer hasta el final.

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca (621405) otorgada para estudios de Maestría PNPB.

Al Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa, por la oportunidad que me dio de realizar este proyecto a su cargo y por sus aportaciones a este trabajo.

A cada miembro del Comité de Tesis, M.C.A. Heidi Andrea Fonseca Florido, Dr. Javier Castro Rosas y Dra. Esmeralda Rangel Vargas, por su tiempo y aportaciones a este trabajo.

Al M.C.A. Erick Gómez por el apoyo financiado para la participación en el congreso AMIDIQ.

A todos los auxiliares de laboratorio: especialmente Dra. Nayeli Falfán Cortes, por su oportuno apoyo en el laboratorio.

A mis compañeros de generación y amigos: Lorena por su gran apoyo en tiempos difíciles y por las muchas horas de convivencia y experiencias compartidas. Ivonne, Zenia y Brenda por las experiencias compartidas durante nuestro paso por el posgrado y pláticas tan enriquecedoras que hicieron el tiempo mas ameno, además por el apoyo brindado en la realización de pruebas de una parte experimental de este trabajo.

DEDICATORIAS

Mi tesis esta dedicada a mi familia que sin dudarlo siempre ha estado a mi lado apoyándome y alentándome a ser mejor cada día.

Mis padres Felipe y Adelina quienes me dieron la vida y con su trabajo forjaron en mi el carácter necesario para crecer y superarme en todo, ustedes han hecho de mi la persona que soy, me han enseñado a siempre salir adelante a pesar de cualquier adversidad, a tener una mentalidad positiva, creativa y nunca darme por vencida. Gracias por todo su apoyo y amor incondicional que me regalan, ahora entiendo que por un hijo no hay condiciones para obsequiar esos valiosos “regalos”.

A ti Cristian, mi esposo, quien estuviste desde el inicio a mi lado, gracias por recorrer todo este camino juntos y apoyarme en cada paso que daba, gracias de corazón por todas tus palabras de aliento que me diste cuando las necesite, a tu lado los momentos difíciles se vuelven más fáciles y se que la felicidad abundará siempre en nuestro hogar, te amo, te valoro, te admiro y respeto.

Y sin dudar, a ustedes mis pequeños, Braulio Andrés y bebé, quienes sin saberlo se han convertido en mi motor principal para salir adelante, tratando de ser mejor persona. Tú Braulio, que con tu inocencia me demuestras todo el amor que un hijo podría tenerle a su madre con una dulce sonrisa, con una mirada o tal vez una caricia, y a ti mi pequeño bebé que aún vienes en camino pero que ya te has vuelto en un motor más de mi vida, créanme que por ustedes nunca me rendiré, pues ustedes representan mi vida entera.

Y sin poder faltar mis queridos hermanos, que a pesar de la distancia sabemos que siempre podremos contar el uno con el otro, Felipe, Paloma, Denis y el pequeño Angelote, gracias por su apoyo, confianza y cariño.

A ustedes les dedico este logro, que, sin dudarlo, no lo hubiera obtenido sin su completo apoyo. Los amo eternamente a todos!!!

M. C. A. Maria Montserrat Cruz Benitez.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN.....	1
2	MARCO TEÓRICO	2
2.1	Almidón	2
2.1.1	Composición química del almidón.....	2
2.1.2	Clasificación del almidón	5
2.1.3	Gránulos de almidón.....	5
2.1.4	Tratamientos hidrotérmicos del almidón.....	7
2.2	Modificaciones químicas del almidón	10
2.2.1	Reacciones de Conversión.....	11
2.2.2	Reacciones de Sustitución (Estabilización).....	15
2.2.3	Reacciones de Entrecruzamiento.....	18
2.3	Yuca.....	19
2.3.1	Almidón de yuca.....	19
2.4	Uso del almidón en la industria	21
2.5	Microencapsulación	22
2.5.1	Secado por aspersión	23
2.5.2	Características del material encapsulante	23
2.5.3	Morfología de las microcápsulas.....	24
3	JUSTIFICACIÓN.....	26
4	HIPÓTESIS	27
5	OBJETIVOS.....	28
5.1	Objetivo General.....	28
5.2	Objetivos Específicos.....	28
6	MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
6.1	Metodología General	29

6.2	Materia Prima.....	30
6.3	Diseño experimental y análisis estadístico	30
6.3.1	Hidrólisis ácida.....	30
6.3.2	Optimización del proceso de hidrólisis ácida	30
6.3.3	Caracterización del almidón químicamente modificado	31
6.4	Caracterización del almidón de yuca ceroso y normal	32
6.4.1	Contenido de humedad.....	32
6.4.2	Determinación del contenido proteico.....	32
6.4.3	Determinación del contenido de cenizas	33
6.4.4	Determinación de fósforo	33
6.4.5	Contenido de amilosa	36
6.4.6	Caracterización morfológica (SEM).....	36
6.5	Hidrólisis ácida del almidón	37
6.6	Propiedades térmicas (DSC).....	37
6.7	Índice de Solubilidad en Agua (ISA) e Índice de Absorción de Agua (IAA)	38
6.8	Poder de hinchamiento.....	38
6.9	Perfiles de viscosidad (RVA).....	39
6.10	Modificaciones químicas.....	39
6.10.1	Fosfatación. Método convencional.....	39
6.10.2	Grado de sustitución (GS) en almidón fosfatado.....	40
6.10.3	Succinación. Método convencional.....	40
6.11	Grado de sustitución (GS) en almidón succinatado	41
6.12	Espectroscopia de infrarojo (IR)	42
6.13	Difracción de Rayos X	42
6.14	Obtención de encapsulados de <i>Lactobacillus pentosus</i>	42

6.15	Sobreviviencia de <i>Lactobacillus pentosus</i> después del secado por aspersión. ..	43
7	RESULTADOS Y DISCUSIONES	45
7.1	Caracterización del almidón de yuca nativo ceroso y normal	45
7.1.1	Contenido de humedad, proteína y ceniza	45
7.1.2	Contenido de amilosa y amilopectina.....	45
7.1.3	Determinación del contenido de fósforo	46
7.1.4	Caracterización morfológica de los gránulos de almidón de yuca	47
7.2	Caracterización de los tratamientos hidrolizados del almidón de yuca ceroso y normal.....	48
7.2.1	Índice de solubilidad en agua (ISA), índice de absorción de agua (IAA) y poder de hinchamiento (PH) de los tratamientos hidrolizados de almidón de yuca ceroso y normal	49
7.2.2	Viscosidad máxima de los tratamientos hidrolizados de almidón de yuca ceroso y normal	59
7.2.3	Propiedades térmicas (DSC) de los tratamientos hidrolizados de almidón de yuca ceroso y normal	61
7.2.4	Caracterización morfológica de los gránulos de almidón de los tratamientos hidrolizados de almidón de yuca ceroso y normal	66
7.3	Optimización del proceso de hidrólisis.....	70
7.4	Modificación química del almidón. Succinatación y fosfatación.....	71
7.4.1	Grado de sustitución (GS) del almidón ceroso y normal succinatado y fosfatado	71
7.5	Caracterización del almidón de yuca ceroso y normal químicamente modificado	73
7.5.1	Espectroscopía de infrarrojo de almidón de yuca ceroso y normal químicamente modificado	73
7.5.2	Difracción de Rayos X del almidón de yuca ceroso y normal químicamente modificado	74

7.5.3	Propiedades térmicas (DSC) del almidón ceroso y normal, químicamente modificado	77
7.5.4	Índice de solubilidad en agua (ISA), índice de absorción de agua (IAA) y poder de hinchamiento (PH) del almidón de yuca ceroso y normal químicamente modificado	80
7.5.5	Caracterización morfológica de los gránulos del almidón ceroso y normal químicamente modificado	84
7.6	Obtención de encapsulados de <i>Lactobacillus pentosus</i>	88
7.6.1	Sobreviviencia de <i>Lactobacillus pentosus</i> después del secado por aspersión.	88
7.6.2	Caracterización morfológica de los encapsulados	89
8	CONCLUSIONES	93
9	BIBLIOGRAFÍA	95
10	ANEXOS	101
10.1	ANEXO 1. Termogramas de gelatinización de almidón ceroso y normal.....	101
10.2	ANEXO 2. Congresos	102

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la amilosa..	4
Figura 2. Estructura de la amilopectina.....	4
Figura 3. Representación esquemática de la estructura laminar de un gránulo de almidón. (A) Pilas de laminillas microcristalinas separadas por anillos de crecimiento amorfo. (B) Vista ampliada de las regiones amorfas y cristalinas. (C) Estructura de dobles hélices formadas por cadenas adyacentes de amilopectina, que dan lugar a laminillas cristalinas, los puntos de ramificación constituyen las regiones amorfas.	8
Figura 4. Reacciones de modificación química de almidón.....	12
Figura 5. Mecanismo de acción de la hidrólisis ácida.....	14
Figura 6. Representación del almidón fosfatado con TPS.	15
Figura 7. Reacción química para la sustitución de almidón con tripolifosfato de sodio. St = almidón.	16
Figura 8. Reacción química para la sustitución de almidón con anhídrido 1-octenilsuccinato St = almidón.....	17
Figura 9. Representación del almidón modificado OSA.....	17
Figura 10. Morfología de los diferentes tipos de microcápsulas.....	24
Figura 11. Esquema general de metodología. Etapa 1: Caracterización de materia prima. Etapa 2: Hidrólisis ácida. Etapa 3: Modificación química. Etapa 4: Obtención de mezclas.	29
Figura 12. Microscopio electrónico de barrido (modelo JEOL JSM-5600 Akishima, Tokyo. Japón).....	36
Figura 13. Calorímetro diferencial de barrido (Modelo 822E. Mettler Toledo, Griefensee, Zurich Sz).	37
Figura 14. Mini Spray Dryer, Modelo B-191. BÜCHI	43
Figura 15. Micrografías de almidón de yuca ceroso (a) y yuca normal (b) a 1500X.....	48
Figura 16. Efecto de la concentración de HCl (%) y el tiempo (h) sobre el índice de solubilidad en agua (25 -90 °C) de almidón de yuca ceroso (a - e) y normal (f - j).	55
Figura 17. Efecto de la concentración de HCl (%) y el tiempo (h) sobre el índice de absorción de agua (25 -90 °C) de almidón ceroso (a - e) y normal (f - j). de yuca.	58
Figura 18. Viscosidad máxima del almidón de yuca ceroso (a) y normal (b).	60

Figura 19. Efecto de la concentración de HCl (%) y el tiempo (h) sobre la temperatura inicio (T_0), pico (T_p), final (T_f) de gelatinización del almidón ceroso (a-c) y normal (d-f) de yuca.....	65
Figura 20. Efecto de la concentración de HCl (%) y el tiempo (h) sobre la energía de gelatinización (ΔH) del almidón ceroso (a) y normal (b) de yuca.	66
Figura 21. Micrografías de almidón ceroso de yuca tratamientos hidrolizados. Los números corresponden al tratamiento. Se muestra un punto central (tratamiento 9).....	67
Figura 22. Micrografías de almidón normal de yuca tratamientos hidrolizados. Los números corresponden al tratamiento. Se muestra un punto central (tratamiento 9).	68
Figura 23. Determinación de la región óptima para almidón de yuca ceroso (a) y normal (b), X1: concentración de HCl (%), X2: Tiempo (h).....	70
Figura 24. Espectro de infrarrojo del almidón de yuca ceroso (a) y normal (b) modificado químicamente mediante hidrólisis ácida, succinatación y fosfatación.	75
Figura 25. Difractograma de rayos X del almidón de yuca ceroso (a) y normal (b) nativo y modificado químicamente mediante hidrólisis ácida, succinatación y fosfatación.	76
Figura 26. Índice de solubilidad en agua del almidón de yuca ceroso (a) y normal (b) nativo, hidrolizado óptimo, succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2.	82
Figura 27. Índice de absorción de agua del almidón de yuca ceroso (a) y normal (b), nativo, hidrolizado óptimo, succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2.	85
Figura 28. Micrografías del almidón de yuca ceroso (a - e) y normal (f - j) hidrolizado óptimo, succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2 respectivamente.	86
Figura 29. Micrografías de las cápsulas de <i>Lactobacillus pentosus</i> utilizando almidón de yuca ceroso como material de pared. a) Almidón de yuca ceroso nativo, b) Almidón hidrolizado óptimo, c-f) Almidón químicamente modificado (succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2 respectivamente), g-j) Cápsulas obtenidas a partir del almidón químicamente modificado (succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2 respectivamente).	90
Figura 30. Micrografías de las cápsulas de <i>Lactobacillus pentosus</i> utilizando almidón de yuca normal como material de pared. a) Almidón de yuca normal nativo, b) Almidón hidrolizado óptimo, c-f) Almidón químicamente modificado (succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2 respectivamente), g-j) Cápsulas obtenidas a partir del almidón	

químicamente modificado (succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2 respectivamente).
..... 91

Figura 31. Termogramas de gelatinización de almidón de yuca ceroso (a) y normal (b) . 101

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de amilosa y amilopectina en almidones nativos	5
Tabla 2. Características de gránulos de almidón de distintas fuentes botánicas.	7
Tabla 3. Materiales encapsulantes empleados en diferentes técnicas de encapsulación.	25
Tabla 4. Diseño experimental central compuesto, rotatable, con dos variables independientes para la hidrólisis ácida del almidón de yuca cerosa y normal.	31
Tabla 5. Mezclas de almidón que se emplearon para encapsular con <i>Lactobacillus pentosus</i>	43
Tabla 6. Caracterización del almidón de yuca nativo ceroso y normal.	46
Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA para un modelo cuadrático de superficie respuesta,) para las respuestas de índice de solubilidad en agua a 25, 60, 70, 80 y 90 °C (ISA25, ISA60, ISA70, ISA80 y ISA90); índice de absorción de agua (IAA), poder de hinchamiento a 60, 70, 80 y 90 °C (PH60, PH70, PH80 y PH90) y viscosidad máxima ($V_{m\acute{a}x.}$); para los almidones de yuca ceroso y normal hidrolizados.	51
Tabla 8. Coeficientes estimados del modelo ajustado y nivel de significancia para las respuestas ISA a 25, 60, 70, 80 y 90 °C (ISA25, ISA60, ISA70, ISA80 y ISA90); IAA; PH a 60, 70, 80 y 90 °C (PH60, PH70, PH80 y PH90) y $V_{m\acute{a}x.}$; para el almidón de yuca ceroso hidrolizado.	52
Tabla 9. Coeficientes estimados del modelo ajustado y nivel de significancia para las respuestas ISA a 25, 60, 70, 80 y 90 °C (ISA25, ISA60, ISA70, ISA80 y ISA90); IAA; PH a 60, 70, 80 y 90 °C (PH60, PH70, PH80 y PH90) y $V_{m\acute{a}x.}$; para el almidón de yuca normal hidrolizado.	53
Tabla 10. Análisis de varianza (ANOVA para un modelo cuadrático de superficie respuesta) para las respuestas de temperatura inicial (T_o), temperatura pico (T_p), temperatura final (T_e) y energía de gelatinización (ΔH) para los almidones hidrolizados de yuca cerosa y normal.	61
Tabla 11. Coeficientes estimados del modelo ajustado y nivel de significancia para las respuestas de temperatura inicial (T_o), temperatura pico (T_p), temperatura final (T_e) y energía de gelatinización (ΔH) para los almidones de yuca hidrolizados ceroso y normal.	63
Tabla 12. Grado de sustitución (GS), del almidón de yuca ceroso y normal modificado con grupos fosfato y succinato.	71

Tabla 13. Formulación de las mezclas de almidón modificado de yuca ceroso y normal para ser evaluadas como posible material encapsulante..... 73

Tabla 14. Propiedades térmicas (DSC) del almidón de yuca ceroso y normal..... 78

Tabla 15. Porcentaje de inmovilización de *Lactobacillus pentosus* con diferentes materiales pared. 89

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar las propiedades fisicoquímicas y funcionales de mezclas de almidones de yuca (normal y cerosa), químicamente modificados con grupos succinato y fosfato y su aplicación como material encapsulante, para lo cual se establecieron cuatro etapas en el proceso, la primera de ellas, fue la caracterización de la materia prima, la cual se realizó mediante un análisis químico-proximal, incluyendo determinación de fósforo y contenido de amilosa. Además se determinaron: propiedades térmicas, utilizando calorimetría diferencial de barrido (DSC), morfología y tamaño de gránulo, por microscopía electrónica de barrido (SEM) y difracción de rayos X, en cuanto a propiedades funcionales, se evaluó el índice de solubilidad y de absorción en agua (ISA – IAA) y el poder de hinchamiento. La segunda etapa consistió en la optimización de la hidrólisis ácida, mediante la metodología de superposición de superficies, considerando dos respuestas, menor viscosidad y mayor índice de absorción de agua a temperatura ambiente. La tercera etapa fue la modificación química con grupos succinato y fosfato del almidón, para comprobar la presencia de los grupos químicos, se obtuvo el espectro de infrarojo (IR) y se determinó el grado de sustitución, de igual manera se realizó la caracterización de sus propiedades térmicas y funcionales. Finalmente, la cuarta etapa correspondió a la obtención de los encapsulados de *Lactobacillus pentosus*, utilizando los almidones modificados como material encapsulante, en esta etapa se evaluó el porcentaje de inhibición de la BAL y la morfología de las cápsulas. Las condiciones de hidrólisis ácida obtenidas a partir de la optimización, fueron una concentración de HCl de 7.97 % para ambos almidones y un tiempo de 4.56 h para almidón ceroso y de 2.44 h para almidón normal, a partir de los almidones hidrolizados se realizó la modificación química con grupos succinato y fosfato, presentando un grado de sustitución (GS) de 0.019 y 0.035 para el almidón ceroso y un GS de 0.016 y 0.035 para el almidón normal, respectivamente, finalmente se evaluó la capacidad como material encapsulante de los almidones con *Lactobacillus pentosus*, siendo el almidón de yuca ceroso fosfatado el que presentó mejor porcentaje de inhibición (99.22 %) y la mezcla 1 del almidón de yuca normal (93.72 %), por lo tanto, se propone que los almidones químicamente modificados, representan una excelente alternativa para emplearse como agentes inmovilizadores por encapsulación, de este microorganismo.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the physicochemical and functional properties of starch blends of manioc (normal and waxy), chemically modified with succinate and phosphate groups and its application as encapsulating material, for which four stages were established in the process, first, it was the characterization of the raw material, which was performed by a chemical-proximal analysis, including determination of phosphorus and amylose. Furthermore were determined: thermal properties, using differential scanning calorimetry (DSC), morphology and granule size by scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction, concerning functional properties, solubility index and evaluated water absorption (ISA - IAA) and swelling power. The second stage consisted of optimizing acid hydrolysis, using the methodology of overlapping surfaces, considering two responses, lower viscosity and higher water absorption rate at room temperature. The third stage was the chemical modification succinate and phosphate groups of the starch, for the presence of chemical groups, the spectrum of infrared was obtained (IR) and the degree of substitution was determined, similarly characterization was performed their thermal and functional properties. Finally, the fourth stage corresponded to obtaining *Lactobacillus pentosus* encapsulated using the modified starches as encapsulating material, at this stage the percentage of inhibition of BAL and morphology of the capsules was evaluated. The acid hydrolysis conditions obtained from optimization were an HCl concentration of 7.97% for both starch and a time of 4.56 h for waxy starch and 2.44 h for regular starch, from hydrolyzed starches modification is performed chemical succinate and phosphate groups, having a degree of substitution (DS) of 0.019 and 0.035 for the waxy starch and a DS of 0.016 and 0.035 for normal, respectively starch finally capacity as encapsulating material of the starches was assessed with *Lactobacillus pentosus*, being the waxy cassava phosphated which provided better inhibition percentage (99.22%) and the mixture 1 starch normal cassava (93.72%), therefore it is proposed that chemically modified starches represent an excellent alternative for use as immobilizing agents by encapsulation, of this microorganism.

1 INTRODUCCIÓN

El almidón está presente en una gran variedad de productos agrícolas, como cereales (maíz, trigo, arroz), leguminosas (frijol, chícharo, haba) y tubérculos (papa), además de semillas, raíces, tallos y hojas. Es el mayor polisacárido de almacenamiento de las plantas (Singh y col., 2003).

El almidón está compuesto por dos tipos de alfa-glucanos: amilosa y amilopectina, que representan aproximadamente el 98 – 99 % en peso seco del almidón. La relación de los dos polisacáridos, varía de acuerdo a la fuente botánica. Los almidones puros contienen < 0.6 % de proteína, presentan cantidades pequeñas de minerales (<0.4 %) como calcio, magnesio, fósforo, potasio y sodio. Estos dos polímeros y su organización dentro de la estructura granular, confieren propiedades fisicoquímicas y funcionales únicas al almidón (Tester y col., 2004).

El almidón presenta propiedades como agente espesante, estabilizador coloidal, agente gelificante, agente retenedor de agua y adhesividad, entre otras, por lo que es un aditivo ampliamente utilizado en muchos productos alimenticios, para modificar textura, apariencia y consistencia (BeMiller y Whistler, 2009). Los almidones nativos de diferentes fuentes botánicas, como maíz, papa, trigo y arroz, han sido ampliamente estudiados en relación a su estructura y propiedades fisicoquímicas. Sin embargo, presentan algunas limitaciones como baja resistencia térmica, descomposición térmica y alta tendencia a retrogradar, por lo que no son adecuados para el uso en alimentos. Por tal razón, las modificaciones estructurales, por métodos físicos, químicos y/o enzimáticos, son muy utilizados para obtener las propiedades deseadas para su utilización (Singh y col., 2007).

El estudio de propiedades físicas y funcionales de almidones poco convencionales, es un área que presenta grandes oportunidades de estudio, debido a la creciente demanda de estos aditivos. Dentro de estos almidones, encontramos el almidón ceroso y normal de yuca. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo, fue estudiar las propiedades fisicoquímicas y funcionales, de mezclas de almidones de yuca (ceroso y normal), químicamente modificados con grupos fosfato y succinato, para evaluarlos como material encapsulante.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Almidón

Desde tiempos remotos, el almidón ha formado parte de la dieta del hombre, debido a que es el principal carbohidrato de almacenamiento energético. Es producido por las plantas para almacenar energía y sintetizado en forma de gránulos. La biosíntesis de los gránulos del almidón, toma lugar principalmente en los amiloplastos, iniciando en el hilum. Los gránulos de almidón pueden ser convertidos por enzimas (amilasas) a glucosa, la cual es utilizada para generar energía durante la germinación o cuando esta sea requerida (Tester y col., 2004).

El almidón representa una fracción importante en gran número de productos agrícolas como cereales (maíz, trigo, arroz), cuyo contenido se encuentra entre 30 y 80 %, leguminosas (fríjol, chícharo, haba) de 25 – 50 %, tubérculos (papa, yuca), en los que el almidón representa entre un 60 o 90 % de la materia seca (García, 2014), se encuentra en diferentes órganos de las plantas, incluyendo semillas, frutos, muchas raíces y tubérculos (Rolland-Sabaté y col., 2012).

2.1.1 *Composición química del almidón*

El almidón está compuesto por dos tipos de alfa-glucanos: amilosa y amilopectina, que representan aproximadamente el 98 – 99 % en peso seco del almidón. La relación de los dos polisacáridos, varía de acuerdo a la fuente botánica del almidón. Los almidones puros contienen < 0.6 % de proteína, también contienen cantidades pequeñas de minerales (<0.4 %) como calcio, magnesio, fósforo, potasio y sodio. El fósforo se encuentra en su mayoría, en forma de monoéster de fosfato (selectivo para amilopectina), fosfolípidos y fosfato inorgánico (Tester y col., 2004).

2.1.1.1 *Amilosa*

El almidón contiene un 15-30% de amilosa, la cual está compuesta de cadenas largas, en forma de hélices, constituidas por unidades de glucosa, unidas en aproximadamente 99%, por enlaces α -(1,4) y alrededor del 1%, por enlaces α -(1,6),

conteniendo 200 – 700 residuos de glucosa, dependiendo de la fuente botánica (Figura 1). La amilosa tiene un peso molecular aproximado de 1×10^5 – 1×10^6 Da y un grado de polimerización por número (DPn) de 324 – 4,920 (Tester y col., 2004. Srichuwong y col., 2005).

Las moléculas de amilosa, presentan abundantes grupos hidroxilo, a lo largo de la molécula, impartiendo propiedades hidrofílicas al polímero. Debido a su naturaleza lineal, su movilidad y la presencia de numerosos grupos hidroxilo a lo largo de las cadenas del polímero, las moléculas de amilosa tienden a orientarse de forma paralela y acercarse, lo suficiente como para permitir la formación de enlaces de hidrógeno entre cadenas adyacentes. Como resultado, la afinidad de los polímeros por el agua se reduce y la solución que forman se vuelve opaca (García, 2014).

2.1.1.2 *Amilopectina*

Un 70-85% del almidón, se encuentra compuesto por amilopectina (Figura 2), la cual es un polímero altamente ramificado con un peso molecular de 1×10^7 – 1×10^9 Da, se encuentra formada por aproximadamente un 95% de enlaces α -(1,4) y alrededor del 5% de enlaces α -(1,6). El DPn se encuentra en un rango de 13,400 – 26,500 (Tester y col., 2004. Srichuwong y col., 2005).

El gran tamaño y la naturaleza ramificada de la amilopectina, reduce su movilidad en solución y elimina la posibilidad de formar niveles significativos de enlaces de hidrogeno entre cadenas adyacentes. En promedio, la amilopectina tiene un punto de ramificación no aleatorizado cada 20 o 25 residuos de glucosa (García, 2014).

La relación de amilosa y amilopectina, es el factor que tiene mayor importancia en el comportamiento del almidón, cuyo contenido depende de la fuente botánica, estas proporciones pueden variar significativamente (Tabla 1).

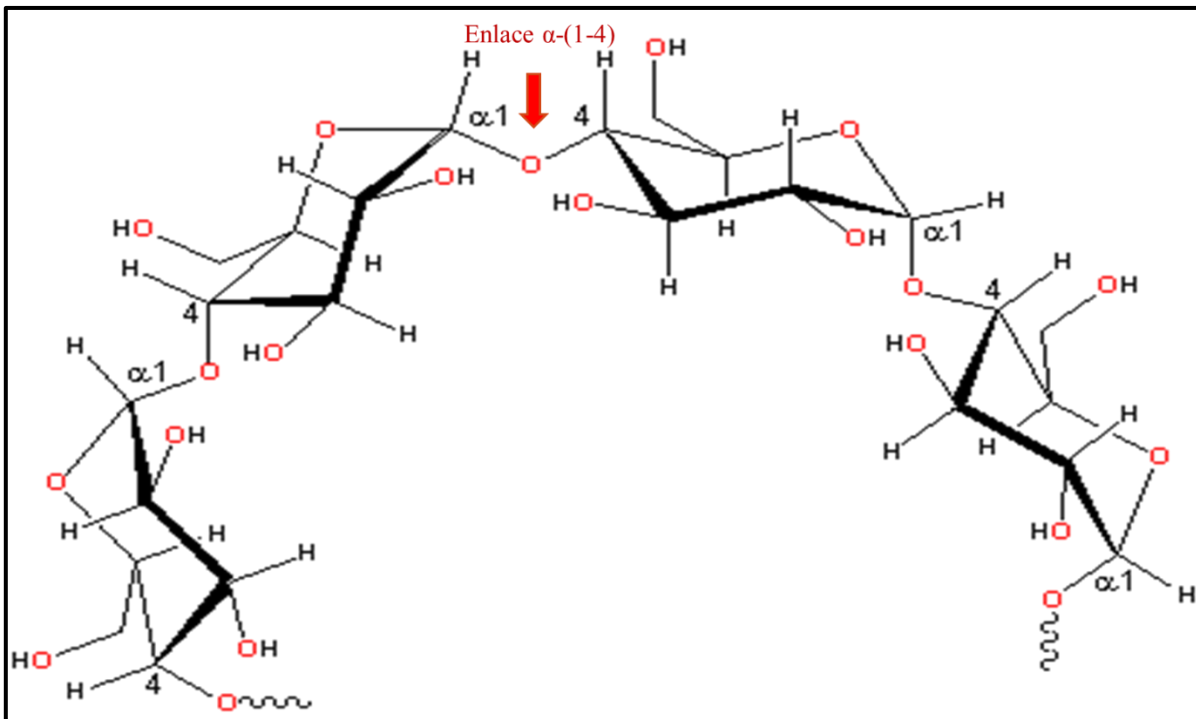


Figura 1. Estructura de la amilosa. Fuente: Tester y col. (2004).

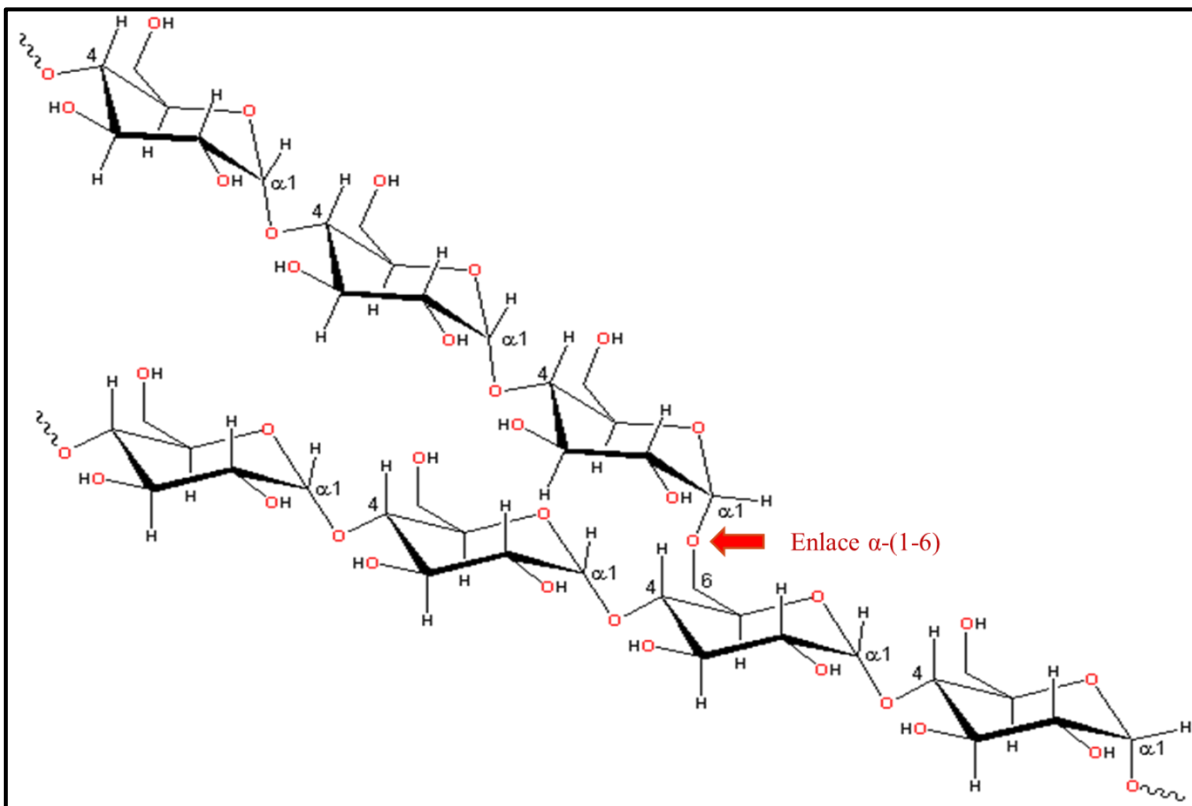


Figura 2. Estructura de la amilopectina. Fuente: Tester y col., (2004).

Tabla 1. Contenido de amilosa y amilopectina en almidones nativos

Fuente botánica	Amilosa (%)	Amilopectina (%)*
Maíz	22.4 – 32.5	67.5
Maíz ceroso	1.4 – 2.7	97.3
Papa	20.1 – 31.0	69
Arroz	5.0 – 28.4	71.6
Arroz ceroso	0 – 2.0	98
Trigo	28	72.0
Yuca	17.0	83.0

*Valores obtenidos por diferencia (100 - % amilosa). Fuente: Singh y col. (2003); Rolland-Sabaté y col. (2012).

2.1.2 Clasificación del almidón

De acuerdo al contenido de amilosa, el almidón se puede clasificar en tres categorías, normal, el cual se encuentra constituido en un 15 a 30 % de amilosa, ceroso, es aquel que contiene de 0 a 5 % de amilosa y alto en amilosa, que llega a contener del 35 al 70 % de amilosa (Hoover y col., 2010).

La proporción de amilosa-amilopectina, presente en el gránulo de almidón, depende principalmente de la fuente botánica, otros autores reportan como almidón normal, a aquel que contiene del 20 al 35 % de amilosa, almidón ceroso con contenidos por debajo del 15 % de amilosa y almidones altos en amilosa con cerca del 40 % de este α -glucano (Tester y col., 2004).

2.1.3 Gránulos de almidón

Desde el punto de vista químico, el almidón es un polisacárido que está presente en partículas organizadas, conocidas como gránulos, estos varían de tamaño y morfología, dependiendo de su fuente botánica.

Las formas que adoptan los gránulos de almidón, pueden ser redondas, elípticas, ovales, lenticulares, poliédricas o poligonales e incluso de forma irregular (Copeland y col.,

2009). En general, el tamaño de los gránulos se encuentra entre 1 a más de 100 μm de diámetro y éste es usualmente expresado como un rango o como promedio de la longitud de los ejes más largos (Lindeboom y col., 2004).

No existe una categorización específica con respecto al tamaño del gránulo, sin embargo, Lindeboom y col., (2004) definen las siguientes clases: grande ($>25 \mu\text{m}$), medio (10-25 μm), pequeño (5- 10 μm) y muy pequeño ($<5 \mu\text{m}$). En la Tabla 2, se enlistan algunas características de los gránulos de almidón, correspondientes a diferentes fuentes botánicas.

Dentro de la morfología granular, se pueden encontrar gránulos con distribución de tamaño unimodal o bimodal. El termino bimodal, hace referencia a la presencia de dos poblaciones de gránulos con tamaños diferentes, dentro de un mismo tipo de almidón. Gránulos A ($>10 \mu\text{m}$) y gránulos B ($<10 \mu\text{m}$) (Lindeboom y col., 2004).

Cuando los gránulos, son observados en un microscopio 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 (García, 2014). La estructura granular del almidón, está determinada, esencialmente por los factores genéticos que gobiernan la biosíntesis del almidón (Tester y col., 2004).

El agua, es un componente integral de la estructura del gránulo y participa en el proceso de hidratación, que toma lugar durante la gelatinización y el subsecuente hinchamiento y disolución del mismo. La estructura del gránulo de almidón, también depende, de la forma en que los polímeros de amilosa y amilopectina, se asocian a través de enlaces de puente de hidrógeno intermoleculares (García, 2014).

La Figura 3, muestra una perspectiva general de la estructura del gránulo de almidón. Los gránulos consisten de regiones amorfas y regiones cristalinas. Las macromoléculas de almidón, presentan una organización radial, en la que el hilum, representa la región menos ordenada (BeMiller y Whistler, 2009). En el nivel más externo de organización, se muestran las cubiertas cristalina (dura) y semicristalina (suave), alternadas. Las cubiertas son delgadas hacia el exterior del gránulo y el hilum se muestra en

el centro. Las estructuras de dobles hélices, formadas por cadenas adyacentes de amilopectina, dan lugar a la capa cristalina, mientras que los puntos de ramificación constituyen las regiones amorfas (Wang y Copeland, 2013). Se ha sugerido que algunas moléculas de amilosa puedan estar localizadas en las regiones amorfas, interaccionando con las cadenas ramificadas de la amilopectina. Estas regiones amorfas del gránulo de almidón, son susceptibles a reacciones químicas, por tanto, éstas pueden ser modificadas por acción de ácidos o con grupos funcionales (García, 2014).

Tabla 2. Características de gránulos de almidón de distintas fuentes botánicas.

Almidón	Tipo	Tamaño (μm)	Forma	Distribución
Maíz (ceroso y normal)	Cereal	2-30	Esférica / poligonal	Unimodal
Papa	Tubérculo	5 - 100	Lenticular	Unimodal
Tapioca	Raíz	5 - 45	Esférica / lenticular	Unimodal
Trigo	Cereal	2 – 10	Lenticular (tipo A)	Bimodal
Arroz	Cereal	3 – 8	Poliédrica	Unimodal
Cebada	Cereal	2 – 5, 15 - 25	Redonda, elíptica	Bimodal
Triticale	Cereal	1 – 30	Esférica	Unimodal
Sorgo	Cereal	5 - 20	Esférica	Unimodal

Fuente: Tester y col. (2004).

2.1.4 Tratamientos hidrotérmicos del almidón

2.1.4.1 Gelatinización

La gelatinización se refiere a la pérdida del orden molecular dentro del gránulo de almidón, lo que conduce a cambios irreversibles, tales como hinchamiento granular, fusión de cristales, pérdida de birrefringencia, desarrollo de viscosidad y solubilización. Cuando los gránulos de almidón son calentados en presencia de agua, ocurre una transición de fase. El punto de gelatinización inicial y el rango, en el cual ésta ocurre, dependen de la

concentración, método de medición, tipo de gránulo y la heterogeneidad dentro de la población granular bajo observación (Hoover, 2001; Wang y Copeland, 2013).

En general, la solubilización de las moléculas de almidón, el hinchamiento e hidratación y la pérdida de la estructura granular, son colectivamente definidos por el termino gelatinización (Singh y col., 2003).

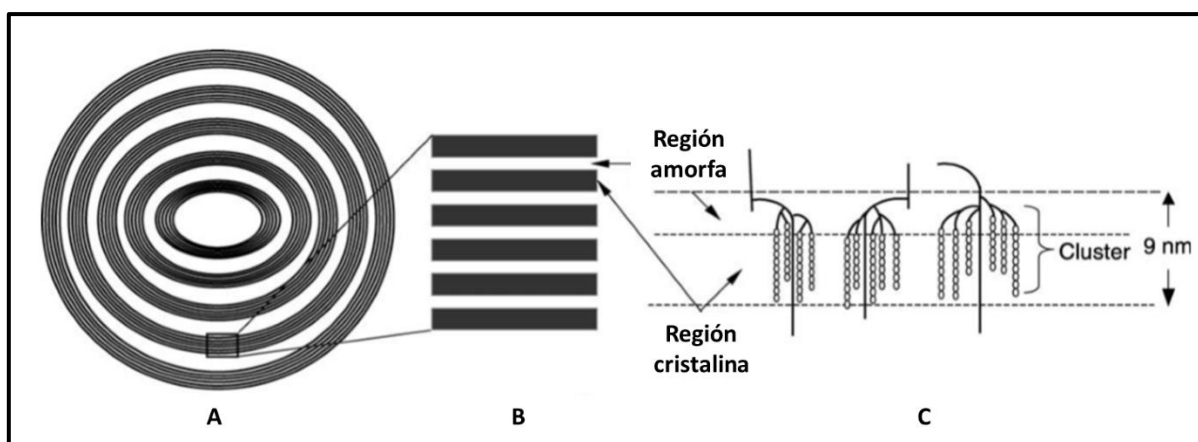


Figura 3. Representación esquemática de la estructura laminar de un gránulo de almidón. (A) Pilas de laminillas microcristalinas separadas por anillos de crecimiento amorfo. (B) Vista ampliada de las regiones amorfas y cristalinas. (C) Estructura de dobles hélices formadas por cadenas adyacentes de amilopectina, que dan lugar a laminillas cristalinas, los puntos de ramificación constituyen las regiones amorfas. Fuente: Tester y col. (2004).

Existen diferentes técnicas para la observación del fenómeno de gelatinización, la microscopía óptica y electrónica de barrido, permiten conocer el grado y duración del hinchamiento, así como la integridad y tamaño de los gránulos hinchados. Mientras que la calorimetría diferencial de barrido (DSC), mide la temperatura y la entalpia de gelatinización, esta técnica, consiste en detectar los cambios de flujo de calor, asociados con transiciones de primer y segundo orden de los polímeros de almidón. La técnica de difracción de rayos X, ha sido utilizada para estudiar el cambio en la cristalinidad y para caracterizar la transición de la estructura cristalina, durante la gelatinización del almidón. Las técnicas de espectroscopia de infrarrojo (FTIR) y resonancia magnética nuclear (RMN), proveen información sobre la estructura del almidón durante la gelatinización. La técnica de FTIR, detecta la absorción de diferentes vibraciones correspondientes a enlaces

presentes en las moléculas de almidón, durante la gelatinización y es sensible a cambios en la estructura molecular, tales como conformación de cadenas de almidón, presencia de hélices, cristalinidad y contenido de humedad. La técnica de RMN provee información de la pérdida de orden estructural, dentro de los gránulos, durante la gelatinización (Thomas y Atwell, 1999; Hoover, 2001) .

2.1.4.2 Gelación

La gelación, se define como el estado inmediato que sigue a la gelatinización del almidón. Cuando el almidón es calentado, el comportamiento de la suspensión de gránulos de almidón, cambia a medida que la suspensión se convierte en una dispersión de gránulos hinchados, gránulos parcialmente desintegrados y gránulos molecularmente dispersos. El producto gelatinizado es llamado pasta de almidón (BeMiller y Whistler, 2009).

En general, la pasta de almidón puede describirse como un sistema de dos fases, compuesto de una fase dispersa de gránulos hinchados y una fase continua de amilosa, que ha sido lixiviada del gránulo. Cuando ocurre la agregación entre las moléculas de amilosa y con algunos segmentos lineales de la amilopectina, resulta la formación de un gel fuerte.

El grado de hinchamiento y desintegración del gránulo, al igual que la lixiviación de la amilosa, dependen del tipo y concentración del almidón, la temperatura, la presencia de otros solutos y la cizalla o agitación aplicada durante el calentamiento (García, 2014).

La gelación de la amilosa, se lleva a cabo más rápido, que el proceso de retrogradación de la amilopectina, debido a que la gelación de la amilosa, implica una tendencia a re asociarse a través de la formación de enlaces de hidrógeno, con moléculas adyacentes, formando redes por la asociación de la misma (BeMiller y Whistler, 2009).

En algunos almidones, la textura y la viscosidad de la pasta resultante, cambia al momento de enfriarse. La pasta o el gel se forman en función del contenido de amilosa, a mayor contenido de amilosa, mayor firmeza de gel. La amilopectina es la responsable de la absorción de agua y por lo tanto, del hinchamiento del gránulo (García, 2014).

2.1.4.3 Retrogradación

La retrogradación del almidón se define como el proceso que ocurre cuando las moléculas del almidón, se re-asocian y forman una estructura ordenada, durante el

almacenamiento. Este fenómeno ha sido utilizado para describir los cambios en el comportamiento físico seguido de la gelatinización (Hoover, 2001).

La retrogradación del almidón, es de gran importancia industrial; puede ser un fenómeno deseable en algunas aplicaciones y por otro lado, causar la inestabilidad de pastas del almidón. Las modificaciones en la estructura del almidón, han sido empleadas para alterar el proceso de retrogradación.

La retrogradación del almidón, está influenciada por la fuente botánica, la estructura fina de la amilopeptina y sobre todo, por la proporción de amilosa/amilopeptina del gránulo. La amilosa, es responsable de los cambios reológicos y estructurales de geles de almidón en un corto plazo (<1 día), mientras que la amilopeptina es responsable de cambios estructurales reológicos de geles de almidón a largo plazo (García, 2014).

2.2 Modificaciones químicas del almidón

El almidón contribuye, en gran medida, a las propiedades de textura de muchos alimentos y tiene grandes aplicaciones industriales como espesante, estabilizador coloidal, agente gelificante y retenedor de agua. Sin embargo, el almidón nativo tiene algunas limitaciones en las aplicaciones industriales, debido a la alta tendencia a retrogradar, baja resistencia térmica y a la cizalla; por lo que es necesaria su modificación (Olayinka y col., 2015).

La modificación del almidón, involucra la alteración de las características físicas y químicas del almidón nativo, con el fin de desarrollar características deseables para aplicaciones específicas. Se consigue, generalmente mediante modificaciones químicas, a través de reacciones de derivatización, tales como eterificación, esterificación, reticulación, descomposición (hidrólisis ácida o enzimática y oxidación del almidón) o tratamientos físicos, utilizando calor o humedad (Singh y col., 2007).

La modificación química del almidón más común, consiste en la introducción de grupos funcionales en las moléculas del almidón, resultando en la alteración de las propiedades fisicoquímicas. Las modificaciones cambian las propiedades de gelatinización, de pasta y de retrogradación (Olayinka y col., 2015).

El grado de modificación química, es generalmente expresado como grado de sustitución (GS) (Bhosale y Singhal, 2006), el cual representa, el número medio de grupos hidroxilo en cada unidad de anhidroglucosa. Como cada unidad de anhidroglucosa tiene tres grupos hidroxilo disponibles para la sustitución, el GS máximo es de 3 (Singh y col., 2007).

La Figura 4, muestra las reacciones de los distintos tipos de modificación química de almidón.

2.2.1 Reacciones de Conversión

La conversión es acompañada por la interrupción de la estructura cristalina de los polímeros del almidón y de su reducción a moléculas más pequeñas. Los métodos más comunes de conversión en la industria del almidón incluyen: hidrólisis ácida, oxidación, piroconversión y conversión enzimática (Hoover, 2001).

Las propiedades químicas y funcionales que presentan los almidones modificados pueden variar, lo cual depende, entre otras cosas, de la fuente de almidón, de las condiciones de reacción (concentración de reactivos, tiempo de reacción, del pH y de la presencia de catalizador). Las reacciones por conversión, se ven influenciadas por la fuente botánica de almidón y el tipo de conversión (ácido, oxidante, enzima, calor o la combinación de éstos), así como, de las condiciones del proceso (tiempo, concentración, etc.) (Torres, 2007).

a) Conversión por hidrólisis ácida

La hidrólisis ácida, interrumpe la estructura del almidón, resultando en cambios a las propiedades funcionales, como las de pasta y de gelatinización (Wang y Copeland, 2012). Inicialmente, el grado de cristalinidad se incrementa, gradualmente con el tiempo de hidrólisis ácida; para tiempos relativamente cortos (menos de 72 h), el tratamiento ácido no causa disrupción de la estructura cristalina, la parte cristalina es más resistente a la hidrólisis, que la parte amorfa (Utrilla-Coello y col., 2014).

Este tipo de modificación, se realiza con suspensiones de almidón (normalmente entre 36 y 40% de sólidos), manejando temperaturas inferiores a la de gelatinización, con

agitación, en tiempos superiores a una hora y adicionando ácido mineral (clorhídrico, sulfúrico, etc.) (Robles, 2014).

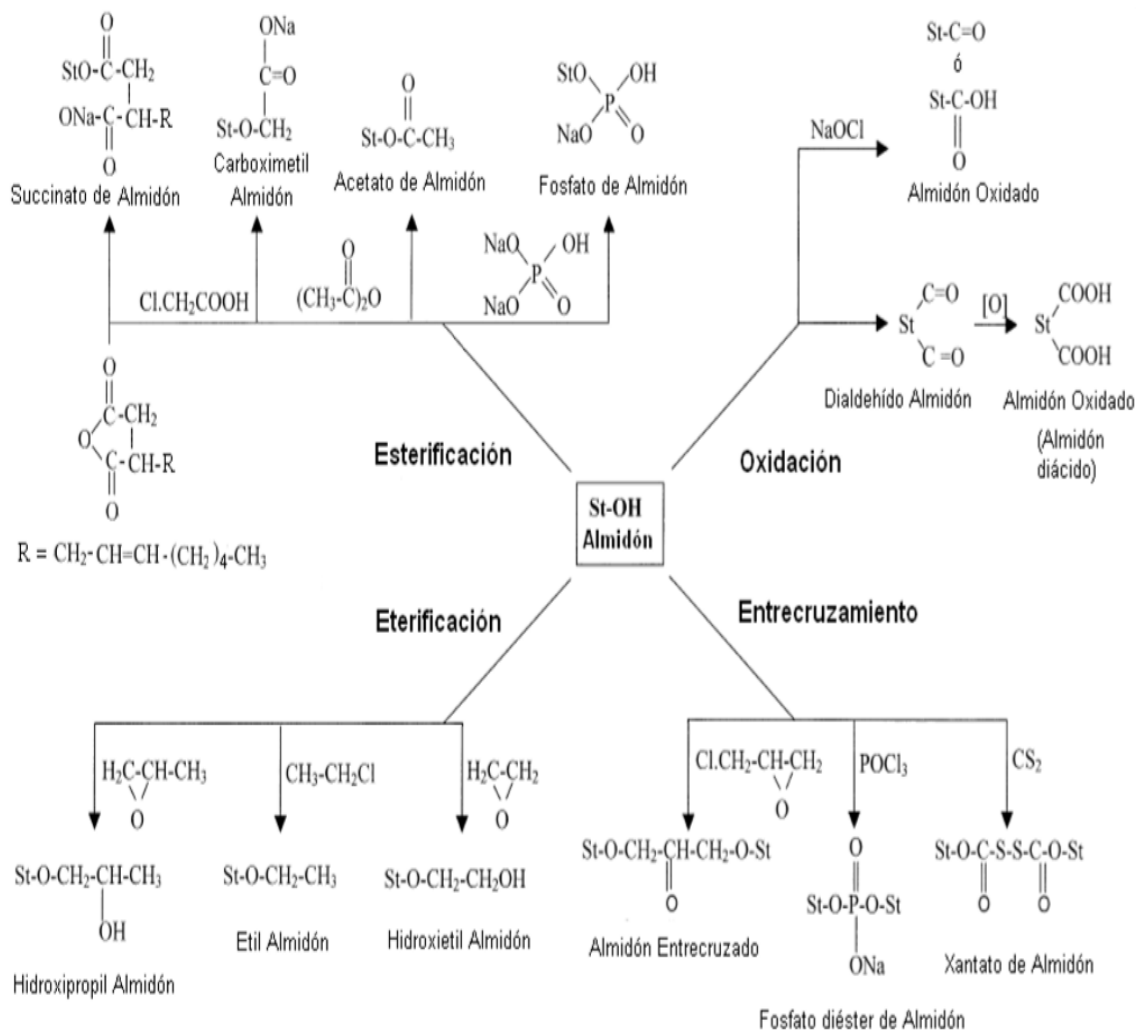


Figura 4. Reacciones de modificación química de almidón. Fuente: Adaptada de Tharanathan (2005).

Durante este proceso, el ácido hidroliza los enlaces glucosídicos, acortando las cadenas que componen la estructura del almidón. Las regiones amorfas, son las más accesibles, para que el ácido penetre e hidrolice las cadenas más accesibles de la amilopectina. El proceso de conversión por hidrólisis, produce un almidón con polímeros

de peso molecular reducido y menor viscosidad, aumentando el índice de solubilidad en agua del almidón (Robles, 2014).

En la hidrólisis ácida, el ion hidronio (H_3O^+), lleva a cabo un ataque electrofílico sobre el átomo de oxígeno del enlace glicosídico α -(1, 4) (Figura 5A). En el siguiente paso, los electrones, en uno de los enlaces carbono-oxígeno, se mueven sobre el átomo de oxígeno (Figura 5b), para generar un carbocatión intermedio, de alta energía inestable (Figura 5c). El carbocatión intermedio, es un ácido de Lewis, por lo que posteriormente reacciona con el agua (Figura 5d), formando una base de Lewis, lo que lleva a la regeneración de un grupo hidroxilo (Figura 5e) (Hoover, 2000).

En base, al valor de dextrosa equivalente (DE), que presenten los hidrolizados del almidón, se encuentra la siguiente clasificación: productos de conversión bajos ($\text{DE} < 40$), productos de conversión regulares o intermedios ($\text{DE} = 40 - 60$) y productos de conversión altos ($\text{DE} > 60$) (Gao y col., 2012).

b) Conversión por oxidación

La oxidación, involucra la mezcla de hipoclorito de sodio u otro agente oxidante, en una suspensión de almidón. El nivel de reactivo utilizado, determina si el almidón es oxidado o blanqueado. Un almidón blanqueado, se obtiene a concentraciones menores al 0.82% de cloro activo, en relación al almidón en base seca. Mayores niveles de hipoclorito de sodio, dan como resultado, almidones oxidados (Thomas y Atwell, 1999).

El reactivo, rompe los enlaces glucosídicos, dentro de la molécula polimérica; así como, los enlaces carbono-carbono en la molécula de dextrosa, para producir grupos carbonilos y carboxilos. Las cadenas de almidón, después de la reacción, son más cortas y la presencia de los nuevos grupos funcionales formados, reduce la tendencia del almidón a retrogradar y limitan la habilidad del almidón de absorber agua, de manera que éste puede ser calentado a concentraciones altas de sólidos, mientras su viscosidad permanece relativamente baja (Robles, 2014).

Los grupos carboxilos y carbonilos, confieren a los almidones, características de adhesividad y proporcionan mayor estabilidad, que los almidones hidrolizados por ácido. Estos almidones, se caracterizan por un color más blanco, con respecto al almidón nativo,

presentan baja viscosidad, y tienen buena estabilidad a bajas temperaturas (Singh y col., 2007).

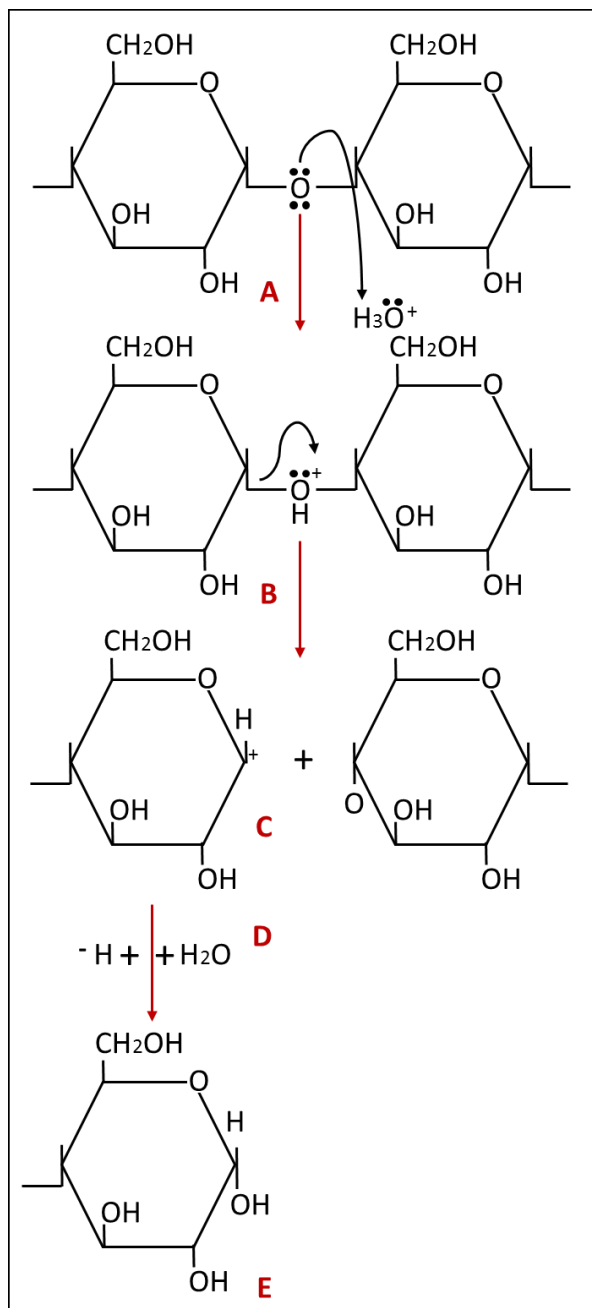


Figura 5. Mecanismo de acción de la hidrólisis ácida. Fuente: Adaptado de Hoover (2000).

2.2.2 Reacciones de Sustitución (Estabilización)

Con el objetivo de prevenir la retrogradación del almidón, éste es sustituido o estabilizado, mediante la introducción de grupos químicos mono-funcionales, tales como acetilo o hidroxipropilo, a lo largo de las cadenas poliméricas, con la formación de enlaces éster o éter. La sustitución, disminuye la temperatura de gelatinización y estabiliza el almidón, previniendo la re-asociación de las cadenas, que causan la retrogradación de los polímeros, después de tratamientos hidrotérmicos (Robles, 2014).

a) Almidones Fosfatados

Los almidones fosfatados, se obtienen a través de la esterificación de los grupos hidroxilos con agentes fosforilantes, tales como el tripolifosfato de sodio (TPS), meta fosfato de sodio y el oxiclорuro de fósforo (Thomas y Atwell, 1999). En la Figura 6, se muestra la estructura química de un almidón fosfatado con TPS.

De acuerdo con la FDA (Food and Drugs Administration), el fósforo residual en el almidón para uso alimenticio, está regulado en base al agente fosfatante empleado. Para el almidón modificado por TPS, el límite en el grado de sustitución está establecido en 0.04 (Code of Federal Regulation, 1991).

El TPS, es un anhídrido parcial del ácido ortofosfórico y es utilizado para formar ortofosfatos de almidón monoéster con GS bajos (0.02), puede usarse a temperaturas moderadas (100 a 120 °C) (García, 2014). La reacción del TPS con el almidón, se muestra en la Figura 7. El pH de la reacción inicia en estado alcalino 8.5 – 9.0 y termina cerca de 7.0.

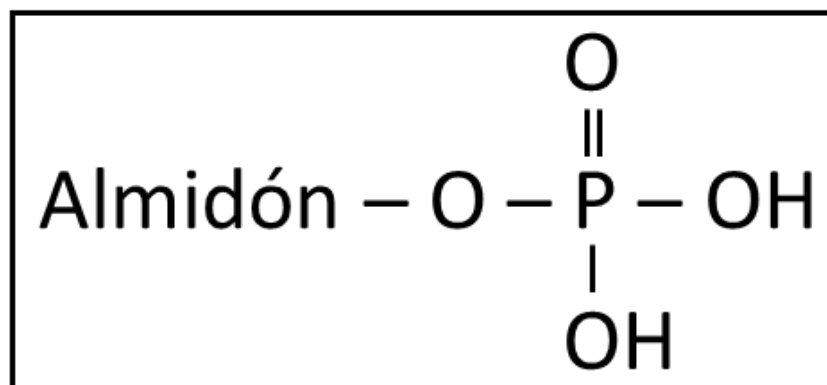


Figura 6. Representación del almidón fosfatado con TPS. Fuente: García (2014).

Los almidones fosfatados, producen una pasta clara, con altas viscosidades, mayor solubilidad y son más estables a ciclos de congelamiento – descongelamiento (Torres, 2007). Durante la fosfatación del almidón, la introducción de los grupos negativamente cargados del fosfato, reduce asociaciones de intercambio y facilita la hidratación del almidón (Thomas y Atwell, 1999).

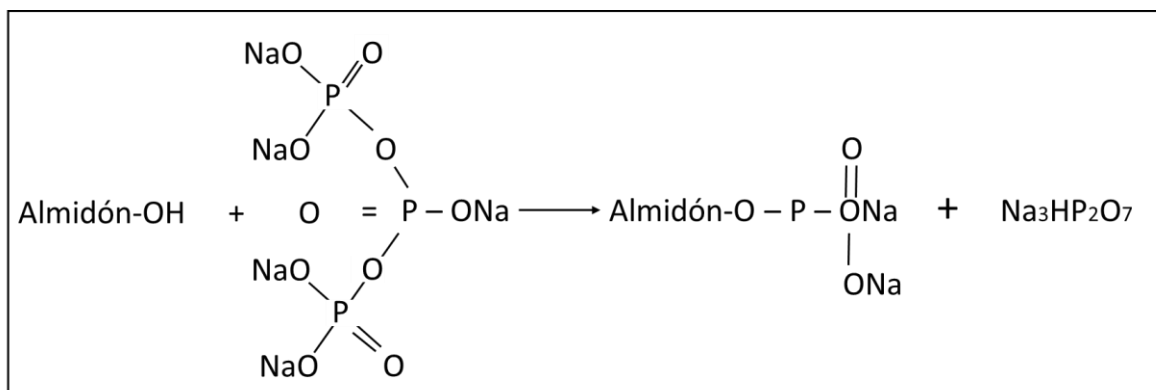


Figura 7. Reacción química para la sustitución de almidón con tripolifosfato de sodio. St = almidón. Fuente: Adaptado de Thomas y Atwell (1999).

b) Almidones Succinatados

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

La síntesis de almidones succinatados más utilizada, es mediante una reacción de esterificación (Figura 8) entre los grupos hidroxilo y el OSA, en medio acuoso, bajo condiciones alcalinas y el almidón en forma granular, el medio alcalino ayuda a reducir los enlaces de hidrógeno entre las cadenas de almidón, por la formación de alcóxidos con los grupos -OH de almidón, lo que favorece el hinchamiento de los gránulos de almidón y la difusión de las moléculas de OSA, dentro de los mismos (Sweedman y col., 2013). En la Figura 9 se muestra la estructura química de un almidón succinatado.

La modificación química del almidón empleando OSA, le confiere a este almidón propiedades emulsificantes, debido a la adición de una dualidad funcional de grupos hidrofóbicos e hidrofílicos (García, 2014). Con la incorporación de grupos hidrofóbicos, en una molécula de almidón, normalmente hidrofílica, el almidón modificado, adquiere propiedades de superficie activa, las cuales son útiles para estabilizar emulsiones de aceite/agua.

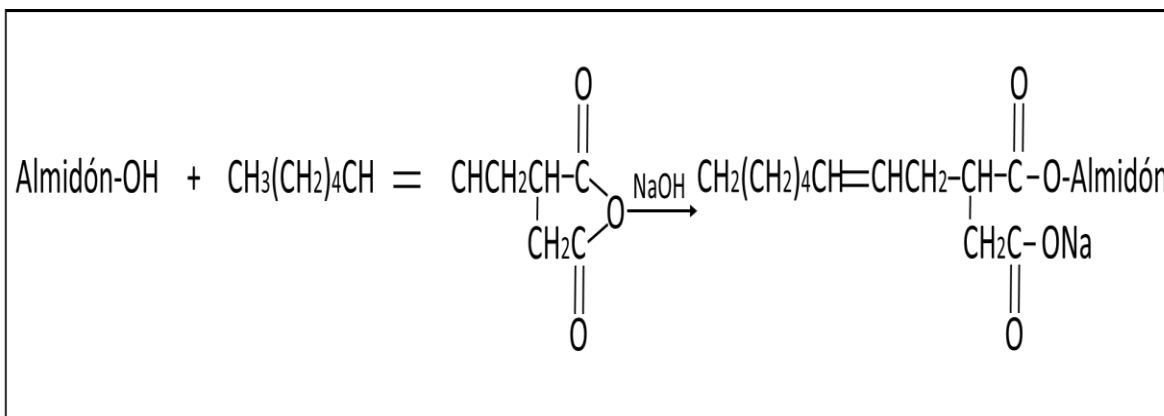


Figura 8. Reacción química para la sustitución de almidón con anhídrido 1-octenilsuccinato St = almidón. Fuente: Adaptado de Thomas y Atwell (1999).

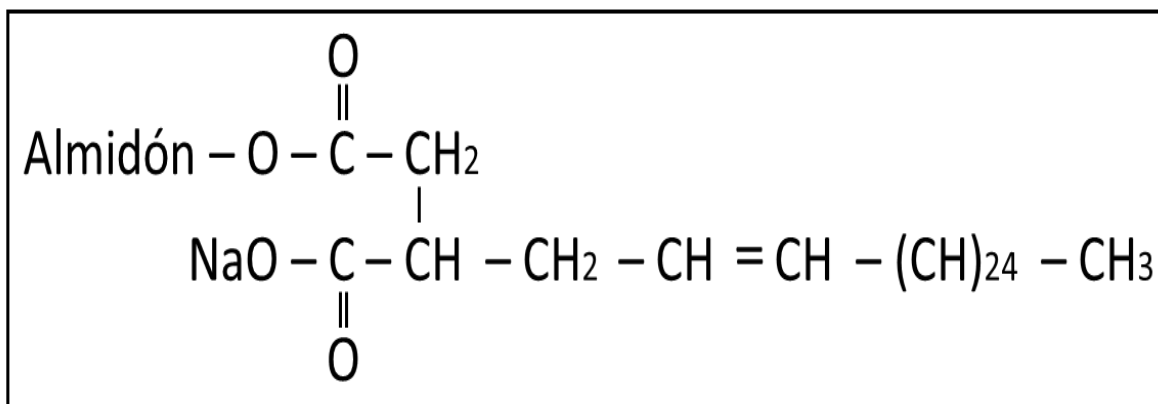


Figura 9. Representación del almidón modificado OSA. Fuente: Bhosale y Singhal (2006).

Los ésteres de almidón succinatado, forman películas fuertes en la interface aceite/agua, proporcionando a la emulsión, resistencia a la reaglomeración (Bhosale y Singhal, 2006).

La FDA, ha aprobado el tratamiento del almidón, con un máximo de anhídrido n-octenil-succínico del 3%. Esto corresponde a un grado de sustitución de 0.02 (Code of Federal Regulation, 1991).

Los almidones succinatados, presentan las siguientes propiedades: baja temperatura de gelatinización, habilidad para hinchar en agua fría, viscosidad estable, pastas claras, estabilidad a ciclos de congelamiento-descongelamiento, disminuye la tendencia a retrogradar y es estable en medios que contienen sales y ácidos (Bhadari y col., 2002).

Los almidones OSA, se utilizan en muchos alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos como emulsionantes y estabilizantes, debido a su función como estabilizadores electrostéricos, aunque, debido al tamaño de las moléculas en relación con el número de grupos cargados, su función es principalmente estérico (Sweedman y col., 2013).

c) Almidones Acetilados

Durante la modificación de almidón por acetilación, parte de los grupos hidroxilos del monómero de glucosa, son esterificados con un grupo etano. Su uso se basa en sus propiedades para formar películas, su adhesividad, su uso como estabilizante y texturizante. Existen varios métodos para la preparación convencional de almidones acetilados, que comprenden el tratamiento del almidón granular, con ácido acético o anhídrido acético, con o sin la presencia de un catalizador como ácido acético, piridina, ácido sulfúrico, o una solución acuosa alcalina (Thomas y Atwell, 1999).

2.2.3 Reacciones de Entrecruzamiento

El entrecruzamiento, también llamado derivatización, es el tipo más común de modificación química del almidón, se lleva a cabo mediante el uso de reactivos multifuncionales, que tienen la capacidad de formar enlaces éter o éster intermoleculares, entre grupos hidroxilo de las moléculas de almidón. Los enlaces covalentes formados por entrecruzamiento, actúan como refuerzo de la estructura granular, controlando el hinchamiento y produciendo almidones que pueden tolerar altas temperaturas, esfuerzos de corte y condiciones ácidas (García, 2014).

El entrecruzamiento, altera la gelatinización del gránulo de almidón; se requiere de una mayor energía para separar las moléculas, por lo que se incrementa la temperatura de gelatinización. La viscosidad máxima desarrollada, es mayor, debido a que el almidón retiene su estructura molecular; se presenta una retrogradación muy pequeña o nula. La estabilidad de la estructura molecular del almidón, también la hace más resistente a la degradación ácida y mecánica (Singh y col., 2007).

2.3 Yuca

La yuca (*Manihot esculenta Crantz*) pertenece a la familia *Euphorbiaceae*. Esta familia está constituida por unas 7,200 especies. Su centro de origen genético, se encuentra en la Cuenca Amazónica. El nombre científico de la yuca, fue dado originalmente por Crantz en 1766. Posteriormente, fue reclasificada por Pohl en 1827 y Pax en 1910 en dos especies diferentes: yuca amarga *Manihot utilissima* y yuca dulce *M. aipi*. Sin embargo, Ciferri (1938), reconoció prioridad al trabajo de Crantz, en el que se propone el nombre utilizado actualmente (Aristizábal y col., 2007). La FAO pronosticó una producción de 288.8 millones de toneladas de yuca para el año 2016. El comercio de la yuca, que sigue limitándose a Asia oriental y sudoriental, ha sido particularmente próspero en 2015, con una demanda regional de trocitos, harina y almidón de yuca, que ha alcanzado niveles sin precedentes. La demanda internacional, proviene principalmente de China, que sigue importando yuca como materia prima más barata para la elaboración de piensos para animales y el sector industrial (FAO, 2015).

2.3.1 Almidón de yuca

Si se extrae correctamente, el almidón de yuca, aporta un color blanco y presenta bajos niveles de grasa y proteínas. Cerca del 84.5% del peso seco de la raíz de yuca es almidón.

Existe una influencia genética clara sobre el contenido de amilosa en el almidón, y ni la edad de la planta, ni los factores ambientales parecen jugar un papel importante en el

contenido de la misma. El almidón de yuca contiene entre 16 a 17% de amilosa y 83-84% de amilopectina, cristalinidad de 40 %, buena claridad de pasta, baja temperatura de gelatinización y buena estabilidad del gel, siendo una importante fuente de almidón en algunas partes del mundo, como Brasil (Zhu, 2015).

Los gránulos de almidón de yuca, presentan un amplio rango de tamaño (5 a 40 μm), en cuanto a morfología, estos son generalmente redondos (ovalados), con superficie plana en un lado (truncado) (Ceballos y col., 2007). Es uno de los almidones menos resistentes a la descomposición enzimática. La difracción de rayos X del almidón de yuca, sigue un patrón tipo A y C (Rolland-Sabaté y col., 2012).

El almidón de yuca es la segunda fuente de almidón en el mundo, después del maíz, se usa normalmente sin modificar “nativo”, pero también es usado modificado con diferentes tratamientos para mejorar sus propiedades de consistencia, viscosidad, estabilidad a cambios de pH y de temperatura, gelificación, dispersión y de esta manera poder usarlo en diferentes aplicaciones industriales, que requieren ciertas propiedades particulares (Aristizábal y col., 2007).

Tiene una tendencia baja a la retrogradación y produce un gel de mayor claridad y estabilidad, en comparación con el de otros almidones nativos. Su temperatura de gelatinización (63 °C) es similar a la del almidón de papa. Aunque la viscosidad de la pasta es inicialmente alta, esta decae bruscamente, con agitación continua, por encima de 90 °C y con un subsecuente enfriamiento, no hay formación de gel. Este comportamiento del almidón de yuca, lo hace tecnológicamente conveniente, como sustrato para procesos hidrolíticos, pero inapropiado como sustituto para los almidones de cereales en procesos que requieren retrogradación (Sánchez y col., 2007).

Las pastas de almidón de yuca, son estables a medios ácidos, por debajo de pH 2.4, medio en el cual, hay destrucción del gránulo y del aspecto físico de la pasta, debido a una hidrólisis parcial o total. La pasta de almidón de yuca, es considerada resistente al proceso de congelación, ya que tiene la propiedad de disminuir el proceso de exudación o sinéresis de agua. (Hurtado y col., 1997).

Recientemente, se reportaron dos nuevos almidones de yuca, genéticamente modificados, con contenidos extremos de amilosa (0 y 30-31%). Estos almidones son drásticamente diferentes, en comparación con el almidón normal de yuca (Rolland-Sabaté y col., 2012).

2.4 Uso del almidón en la industria

El almidón y sus productos, tienen diferentes aplicaciones, tanto en la industria de alimentos, como en la no alimentaria. El consumo de almidón, se destina aproximadamente 75 % al sector industrial y el 25 % al sector de alimentos. La industria de fabricación de papel y cartón, usa cerca del 80 por ciento del almidón suministrado al sector industrial, seguido de textiles, adhesivos y otras industrias (Aristizábal y col., 2007).

En la industria de alimentos, el almidón, tanto nativo como modificado, tiene un papel importante en la textura de varios preparados, al aportar palatabilidad y aceptabilidad, presenta las siguientes funciones (Thomas y Atwell, 1999; Aristizábal y col., 2007):

- Es empleado como medio de moldeo, para caramelos de frutas, rodajas de naranja y gomas de mascar.
- Protector de humedad de diversos productos en polvo -como azúcares- pues los almidones absorben humedad sin apelmazarse.
- Espesante, provee cuerpo y textura al alimento preparado (sopas, alimentos para bebés, salsas, gelatinas).
- Agente coloidal, imparte textura, sabor y apariencia. La cocción del almidón produce una solución coloidal estable, compatible con otros ingredientes en productos alimenticios.
- Aglutinante, para el ligamento de componentes. Utilizado generalmente en la preparación de salchichas y embutidos cocidos.
- Emulsificante, produce una emulsión estable en la preparación de mayonesas y salsas similares.

- Estabilizador, por su elevada capacidad de retención de agua, es usado en productos helados.

Los almidones modificados presentan una gran aplicación industrial. El almidón pregelatinizado, es empleado en alimentos enlatados, para impartir viscosidad y tener una matriz homogénea del producto, evitando la separación de fases, es estable a altas temperaturas, lo cual, lo hace muy útil en el proceso de pasteurización (Torres, 2007).

Almidones estabilizados mediante hidroxipropilación combinada con diversas modificaciones, se utilizan para prevenir fermentaciones y para garantizar un producto estable en la línea de producción, durante el procesamiento de alimentos UHT (Torres, 2007).

Los almidones OSA, se utilizan en muchos alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos como emulsionantes y estabilizantes, debido a su función como estabilizadores electrostéricos, aunque debido al tamaño de las moléculas, en relación con el número de grupos cargados, su función es principalmente estérico (Sweedman y col., 2013).

Otra aplicación industrial del almidón, es como material encapsulante, este material debe estar diseñado para liberar gradual o repentinamente, el principio activo que contenga al comienzo o al final del ciclo del producto, a cierta temperatura o cuando se necesite alcanzar un nivel particular de pH (Castro, 2014).

2.5 Microencapsulación

La microencapsulación es un proceso mediante el cual, ciertas sustancias bioactivas (sabores, vitaminas, bacterias o aceites esenciales), son introducidas en una matriz o sistema de pared, con el objetivo de impedir su pérdida y para protegerlos. Las aplicaciones de las técnicas de encapsulación han ido incrementándose en la industria, debido a la protección de los materiales encapsulados de factores como calor y humedad, permitiendo mantener su estabilidad y viabilidad (García, 2014).

2.5.1 *Secado por aspersión*

El secado por aspersión, es el método de microencapsulación más usado por la industria de los alimentos, es una técnica económica y flexible. Una de las grandes ventajas de este proceso, además de su simplicidad, es que es apropiado para materiales sensibles al calor, ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto (5 a 30 s) (López, 2010).

Consiste en atomizar el material que se encuentra en estado líquido, ya sea como disolución o como dispersión, atomizándolo en forma de finas gotas sobre una corriente de aire caliente. Cuando las pequeñas gotas del líquido, se ponen en contacto con el aire a mayor temperatura, se produce una rápida evaporación del disolvente, formándose una fina película del material de recubrimiento que se encuentra disuelto en él (Martín y col., 2015).

2.5.2 *Características del material encapsulante*

La microencapsulación abarca diversos procesos, que se pueden utilizar para proteger un ingrediente, preservando su núcleo en cierto tipo de película o capa protectora. Una encapsulación eficiente, depende del desempeño del agente encapsulante, el cual debe presentar las siguientes funciones (Castro, 2014):

- Proteger el componente activo de la oxidación, la luz, la humedad y del contacto con otras sustancias en almacenamiento.
- Prolongar los tiempos de vida de anaquel.
- Prevenir la pérdida de los componentes volátiles encapsulados.
- Obtener un producto final con libre flujo, de fácil manejo y que se incorpore en los alimentos secos.

Es necesario que el agente encapsulante, tenga baja viscosidad, en altas concentraciones de sólidos, que presente baja higroscopicidad, económico y de fácil obtención (Castro, 2014). En la Tabla 3, se muestra un listado de los materiales encapsulantes que se han ocupado mediante diversas técnicas.

2.5.3 Morfología de las microcápsulas.

Las microcápsulas presentan una amplia variedad de estructuras, algunas son de geometría esférica, con una fase interna continua, rodeada por una pared, también continua (estructura de partícula simple), mientras, que otras, pueden presentar una geometría irregular y pueden tener la fase interna distribuida en una matriz de material de pared (estructuras agregadas). Generalmente, se pueden clasificar en: microcápsulas de sistema reservorio o capsular y microcápsulas en sistema matricial.

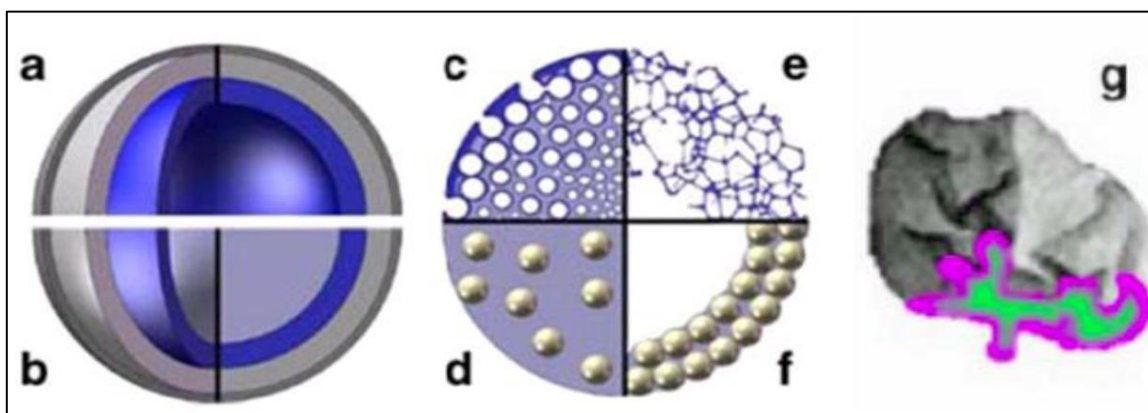


Figura 10. Morfología de los diferentes tipos de microcápsulas. Fuente: Vehring (2008).

a) Sistema reservorio o capsular: el material activo se encuentra incluido en una especie de reservorio, que puede ser de naturaleza líquida o sólida, el cual se haya envuelto por una fina película del material de recubrimiento. En la Figura 10a, se puede observar el caso de una microcápsula con el interior lleno; o bien con el interior parcialmente vacío, creando una microcápsula hueca (Figura 10b) (Lozano, 2009).

b) Sistema matricial: el material activo se encuentra altamente disperso en la matriz polimérica. Se puede tener una estructura en forma de espuma, en donde el material activo, se encuentra repartido en toda la microcápsula y la cubierta o bien permanece intacta (Figura 10c) o bien en una estructura abierta en forma de red (Figura 10e). También se pueden encontrar microcápsulas, en las que el material activo, está disperso en la matriz que sirve como cubierta, tanto como esfera llena (Figura 10d), como en la periferia (Figura 10f). La forma de las microcápsulas podrá ser esférica o bien presentar una forma irregular (Figura 10g) (Lozano, 2009).

Tabla 3. Materiales encapsulantes empleados en diferentes técnicas de encapsulación.

Material encapsulante	Técnica de encapsulación	Compuesto activo
Maltodextrina, goma arábiga, aislados de proteínas, caseinato de sodio, goma de mezquite.	Secado por aspersión	Aceite de naranja, acetato de linalol, cardamomo, d-limoneno.
β -ciclodextrina	Inclusión molecular	Linalol, aceite de cáscara de naranja, d-limoneno, aceite de limón, sabor café natural y sintético.
Gelatina, polifosfato de sodio, goma arábiga.	Coacervación	Aceite de romero, aceite de menta, teobromina.
Maltodextrina, azúcar simple o almidón modificado.	Extrusión	Sabores, vitamina C, colorantes.
Aceites vegetales hidrogenados o aceites vegetales de bajo punto de fusión.	Secado por enfriamiento / congelamiento	Aditivos alimentarios sólidos, sabores sólidos.
Hidrocoloides, polímeros solubles en disolvente, carbohidratos simples.	Recubrimiento en lecho fluidizado	Sólidos (productos farmacéuticos).
Almidón ceroso de maíz modificado.	Secado por aspersión	<i>Bifidobacterium</i> PL1.

Fuente: Adaptada de García y López (2012).

3 JUSTIFICACIÓN

El almidón es un ingrediente de gran importancia para diversas industrias, como lo son la textil, la farmacéutica y sobre todo, la industria alimentaria, en las cuales, este aditivo, se emplea para optimizar rendimientos, gracias a su capacidad de absorción de agua, como mejorador de textura, para aumentar la vida de anaquel, como agente espesante, entre otras aplicaciones, lo que conlleva a obtener beneficios productivos y económicos. Sin embargo, las propiedades que muestran los almidones nativos, independientemente de su fuente botánica, no son suficientes para obtener productos con las características deseadas por los consumidores, por lo cual, es necesario someter a estos almidones a modificaciones físicas, enzimáticas y/o químicas, con el fin de mejorar y obtener almidones con propiedades deseadas para la industria de alimentos. Por medio de estas modificaciones, es posible mejorar las propiedades térmicas y reológicas de los almidones.

En la actualidad, existen diversos estudios, que dejan en claro, las propiedades que tienen los almidones normales y modificados de diferentes fuentes, como lo son los de papa, maíz, arroz, etc. Sin embargo, las propiedades físicas y funcionales de almidones no convencionales, es un área poco estudiada, por lo que presenta grandes oportunidades de estudio, debido a la creciente demanda del uso de este tipo de aditivos. Dentro de estos almidones, encontramos el almidón de yuca normal y ceroso. Este último almidón fue obtenido a partir de una modificación genética y no se tiene suficiente información científica sobre él.

Por lo anterior, la presente investigación tuvo como objetivo, caracterizar fisicoquímica y funcionalmente, el almidón ceroso de yuca, comparado con un almidón normal de la misma fuente, además, se realizaron modificaciones químicas con grupos fosfato y succinato en ambos almidones y finalmente la obtención de mezclas de los almidones de yuca, químicamente modificados, las cuales fueron propuestas como material encapsulante, utilizando el secado por aspersion.

4 HIPÓTESIS

Mediante la modificación química con grupos fosfato y succinato, será posible cambiar las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón de yuca ceroso y normal, y a partir de estos almidones modificados, obtener las mezclas correspondientes a cada fuente botánica, para proponerlas como material encapsulante.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Estudiar las propiedades fisicoquímicas y funcionales, de mezclas de almidones de yuca (cerosa y normal), químicamente modificados, para proponerlos como posible material encapsulante.

5.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar las propiedades fisicoquímicas (DSC, SEM, Rayos X) y funcionales (ISA, IAA, PH, Viscosidad) de los almidones nativos de yuca normal y cerosa.
- Optimizar el proceso de hidrólisis ácida en el almidón de yuca cerosa y normal.
- Llevar a cabo las modificaciones químicas, mediante fosfatación y succinación, de los almidones hidrolizados de yuca cerosa y normal.
- Determinar las propiedades fisicoquímicas (DSC, SEM, Rayos X, IR, GS) y funcionales (ISA, IAA, PH) de los almidones químicamente modificados.
- Caracterizar las propiedades fisicoquímicas (DSC, SEM, GS) y funcionales (ISA, IAA, PH) de las mezclas obtenidas.
- Evaluación de mezclas de almidones de yuca, químicamente modificados, como material encapsulante, utilizando secado por aspersión.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Metodología General

En la Figura 11, se muestra el esquema general de la metodología que se realizó en este proyecto.

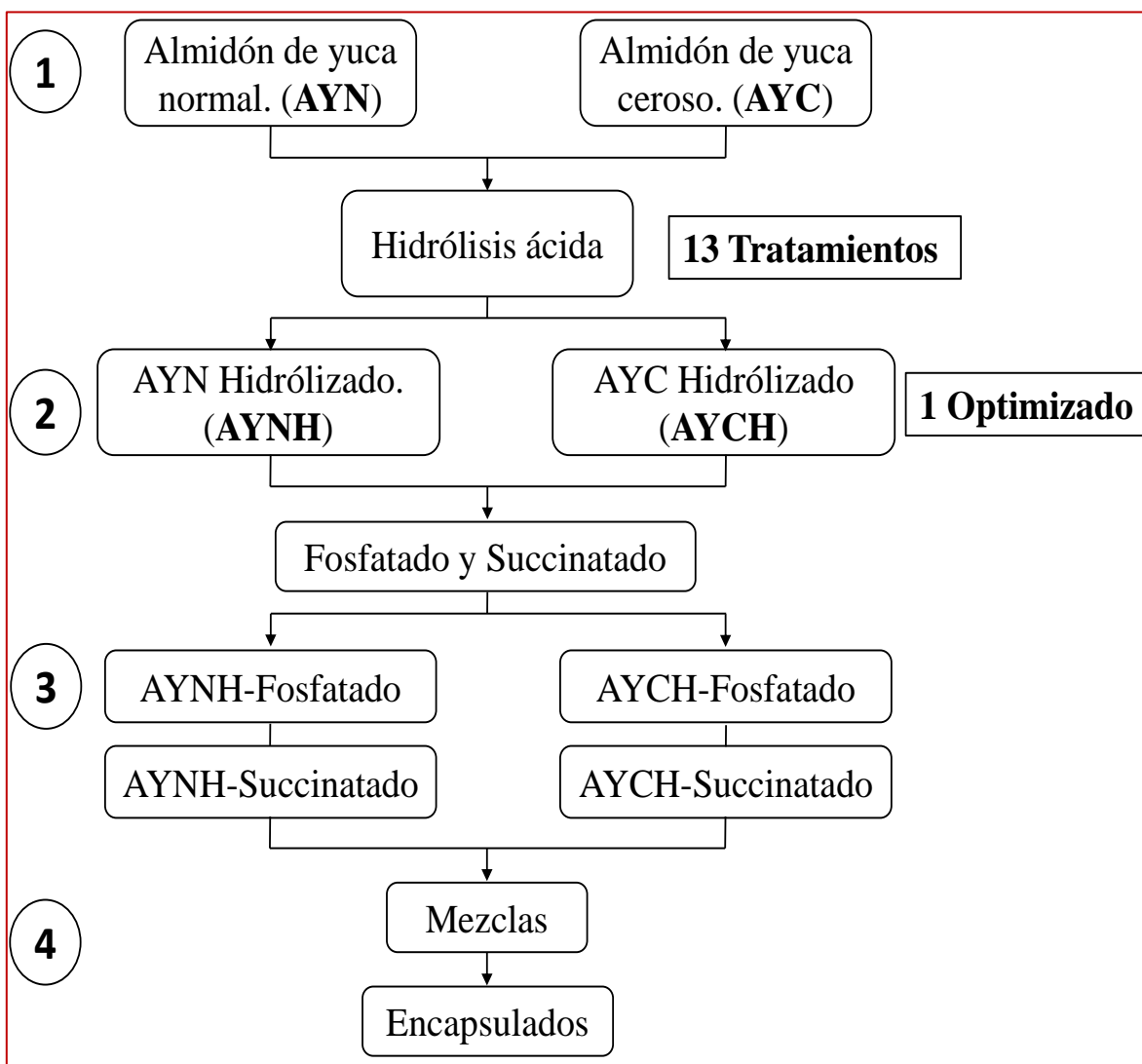


Figura 11. Esquema general de metodología. Etapa 1: Caracterización de materia prima. Etapa 2: Hidrólisis ácida. Etapa 3: Modificación química. Etapa 4: Obtención de mezclas.

6.2 Materia Prima

Los almidones de yuca cerosa (AM206-5) y normal, fueron donados por el CIAT (Centro de Investigación en Agricultura Tropical), de la ciudad de Cali, Colombia. Cepa de bacterias *Lactobacillus pentosus* donadas por el laboratorio de microbiología de alimentos de la UAEH, área académica de química.

6.3 Diseño experimental y análisis estadístico

6.3.1 Hidrólisis ácida

Para la etapa de hidrólisis ácida, se empleó un diseño de experimentos central compuesto, rotatable, con dos variables independientes: concentración de ácido clorhídrico (%) y tiempo de hidrólisis (h), el diseño constó de 13 tratamientos, con un $\alpha = 1.41421$ (Tabla 4). Los datos se analizaron estadísticamente, empleando un análisis de composición central (superficie de respuesta), utilizando el programa Design-Expert versión 7.0.

6.3.2 Optimización del proceso de hidrólisis ácida

La optimización del proceso de hidrólisis ácida, se realizó empleando la metodología de superposición de superficies, considerando dos respuestas, la primera, menor viscosidad y la segunda, mayor índice de absorción de agua a temperatura ambiente, los resultados obtenidos de los trece tratamientos de cada almidón, fueron analizados en el programa Design-Expert versión 7.0, ajustando los datos a un modelo cuadrático de segundo orden (Ecuación 1):

$$Y_i = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{1,2} X_1 X_2 + b_{1,1} X_1^2 + b_{2,2} X_2^2$$

Ecuación 1.

Donde:

Y_i = Variables respuestas

X_1 = Valor de % de HCl

X_2 = Tiempo (h)

$b_0, b_1, b_2, b_{1,1}, b_{2,2}$ y $b_{1,2}$ = Coeficientes de regresión

Los resultados del proceso de sobreposición de superficie, ayudaron a calcular las condiciones de procesamiento, para obtener almidones hidrolizados que cumplieran con las características deseadas.

Tabla 4. Diseño experimental central compuesto, rotatable, con dos variables independientes para la hidrólisis ácida del almidón de yuca cerosa y normal.

Variable independiente	Niveles				
	$0 - \alpha$	-1.00	0.00	1.00	$0 + \alpha$
% HCl	2.00	3.03	5.50	7.97	8.99
Tiempo (h)	2.00	2.43	3.50	4.55	4.99

Tratamiento	Variables independientes	
	% HCl	Tiempo (h)
1	-1.00	-1.00
2	-1.00	1.00
3	1.00	-1.00
4	1.00	1.00
5	$0 - \alpha$	0.00
6	$0 + \alpha$	0.00
7	0.00	$0 - \alpha$
8	0.00	$0 + \alpha$
9	0.00	0.00
10	0.00	0.00
11	0.00	0.00
12	0.00	0.00
13	0.00	0.00

6.3.3 Caracterización del almidón químicamente modificado

Las pruebas para la caracterización de los almidones de yuca cerosa y normal, químicamente modificados, se realizaron por triplicado y fueron analizados estadísticamente, mediante un análisis de varianza (ANOVA), con una prueba tukey ($p \leq 0.05$), utilizando el software Statistica 8.0 para Windows

6.4 Caracterización del almidón de yuca ceroso y normal

6.4.1 Contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó de acuerdo al método 925.09 descrito por la AOAC (1990). Se pesaron 2 g de almidón en los recipientes de aluminio (W_2), previamente tratados (W_1), las muestras se colocaron en estufa a 110 °C durante 24 h, se enfriaron en un desecador para luego ser pesados (W_3). Los cálculos se determinaron con la Ecuación 2:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \times 100$$

Ecuación 2.

Donde:

W_1 : masa del recipiente vacío (g).

W_2 : masa del recipiente con la muestra antes del secado (g).

W_3 : masa del recipiente con la muestra después del secado (g).

6.4.2 Determinación del contenido proteico

Se empleó el método 954.01 de la AOAC (1990), con ligeras modificaciones, en un tubo de digestión Kjeldhal, se colocaron 70 mg de muestra seca y desengrasada, 0.5 g de sulfato de potasio (para aumentar la ebullición) y 3 mL de mezcla digestiva. El tubo se colocó en el digestor durante 15 min a 370 °C. Posteriormente, se enfrió y se le adicionó 1.5 mL de H_2O_2 al 30 %, nuevamente se colocó en el digestor a 370 °C y se mantuvo así, hasta el final de la digestión (hasta que su contenido se observó completamente translúcido, sin partículas negras en suspensión que indican materia orgánica no digerida), la solución se torna de color azul-verdoso. Al mismo tiempo, se corrió un blanco, sustituyendo la muestra por sacarosa. La muestra digerida se sometió a destilación. El destilador automático (Gerhardt Vapodest), se programó, para adicionar al contenido del tubo, 60 mL de NaOH, al 32 %, con un tiempo de destilación de 6 min, al 60% de potencia de vapor. Posteriormente, en el mismo equipo, el destilado fue titulado con HCl 0.11 M, este equipo, reporta en automático, el porcentaje de nitrógeno contenido en cada muestra (AOAC, 1990; Novelo-Cen y Betancur-Ancona, 2005).

Para calcular el porcentaje de proteína se utilizó la Ecuación 3.

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times \text{Factor de conversión}$$

Ecuación 3.

Donde:

% Nitrógeno= Valor obtenido en el destilador automático

Factor de conversión: Factor de conversión universal (6.25)

6.4.3 *Determinación del contenido de cenizas*

Esta técnica se realizó de acuerdo a lo descrito por el método 923.03 de la AOAC (1990). Se pesaron 2 g de muestra (m) en un crisol de porcelana previamente tarado (X_1), el cual se colocó a fuego directo para quemar el material, hasta que ya no desprendió humo. El crisol fue colocado en una mufla, para efectuar la calcinación completa por 5 h a 550 °C. Posteriormente, se dejó enfriar 8 h dentro de la mufla, para luego transferir el crisol a un desecador y una vez que éste llegó a temperatura ambiente fue pesado (X_2) (AOAC, 1990; Novelo-Cen y Betancur-Ancona, 2005). Para la determinación del porcentaje total de cenizas se utilizó la siguiente relación (Ecuación 4):

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{X_2 - X_1}{m} \times 100$$

Ecuación 4.

Donde:

X_1 : masa del crisol vacío (g).

X_2 : masa del crisol con las cenizas (g).

m: masa de la muestra (g).

6.4.4 *Determinación de fósforo*

Para la determinación de fósforo, se utilizó el método 995.11 de la AOAC (1990), el principio es la formación de un complejo azul $[(\text{MoO}_2 \cdot 4\text{MoO}_3)_2 \text{H}_3\text{PO}_4]$, entre el fosfato y el molibdato de sodio, en presencia de ácido ascórbico, como agente reductor. La

intensidad del color azul fue medida por espectrofotometría, a una longitud de onda de 823 nm.

Preparación de reactivos:

- Ácido clorhídrico: Concentrado
- Óxido de zinc: Concentrado
- KOH: 50 % (p/p). Se disolvió 50 g de KOH en 50 mL de H₂O destilada.
- Ácido sulfúrico: Concentrado
- Molibdato de sodio (Na₂MoO₄ 2H₂O): Se mezcló cuidadosamente 140 mL de ácido sulfúrico, con 300 mL de H₂O en un matraz de 500 mL. Enfriar a temperatura ambiente y se añadió 12.5 g de molibdato de sodio. Diluir el volumen con H₂O.
- Ácido ascórbico: Se disolvieron 5 g de ácido ascórbico en H₂O en un matraz volumétrico de 100 mL. Posteriormente se aforó con H₂O. Se mezcló bien. Nota: Debido a que la solución no es estable, está fue preparada al momento de utilizarla.
- Ácido ascórbico - molibdato: La solución fue preparada al momento de ser utilizada, se añadieron 25 mL de solución de Molibdato de sodio a 10 mL de solución de ácido ascórbico y se aforó a 100 mL.
- Solución estándar de fósforo (1 mg P/mL): Se secó dihidrogenofosfato de potasio (KH₂PO₄) 2 h a 101 °C. Se disolvieron 1.0967 g de KH₂PO₄ seco, en un matraz y se aforó con agua a 250 mL.
- Solución estándar de trabajo de fósforo (0.01 mg P / mL): Se transfirieron 5 mL de la solución estándar de fósforo, dentro de un matraz de 500 y se aforó con agua.
- Solución de fósforo para la curva estándar: Con una pipeta, se transfirió exactamente 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 mL de la solución estándar de trabajo de fósforo en matraces volumétricos separados y se diluyeron a 15 mL con agua

Procedimiento

Se pesó 0.5 – 1.5 g (± 1 mg) (W) de la muestra en un crisol. Para controlar toda posible contaminación, se preparó un blanco y se añadieron 0.5 g de óxido de zinc dentro de la muestra, se mezcló usando una varilla de vidrio, después se secó la muestra 1-2 h a

110 °C. Posteriormente, la muestra fue incinerada en una parrilla de calentamiento, hasta que no desprendió humo, se colocó el crisol en una mufla a 525 °C durante 4 h. Una vez frío el crisol, se agregaron 5 mL de agua y 5 mL de HCl.

Se cubrió el crisol con un vidrio de reloj y cuidadosamente se hirvió su contenido 5 min, se filtró el contenido del crisol dentro de un matraz aforado de 100 mL, enseguida se enjuagó el interior del crisol y el vidrio de reloj con 5 mL de agua caliente, se repitió el lavado hasta completar un volumen de 20 mL de agua. Se esperó a que se enfriará el matraz, y se agregaron unas gotas de KOH al 50 %, para neutralizar la solución, hasta que se observó ligeramente opaca, enseguida se añadieron unas gotas de HCl para desaparecer dicha opalescencia. Se adicionaron 2 gotas extras de HCl, y se aforó a 100 mL con agua destilada.

Dependiendo del contenido esperado de fósforo, se pipeteó precisamente 1 – 10 mL, de la solución anterior, en un matraz aforado de 50 mL (en este caso se tomaron 10 mL, ya que el almidón de yuca presenta muy bajo contenido de fósforo), se diluyó la solución con 15 mL de agua (V_1). Se añadieron 20 mL de solución de ácido ascórbico-molibdato, se cerró cada matraz con un tapón cubierto de papel filtro para evitar que se desprenda y se colocaron los matraces dentro de un crisol con agua hirviendo durante 15 min. Se enfriaron los matraces y se aforaron a 50 mL con agua destilada.

Se midió la absorbancia de cada solución a 823 nm. Esta solución solo es estable durante 2 h. Previamente, se construyó la curva de calibración, con soluciones estándar de fósforo (0, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 y 0.06 mg P).

El contenido de fósforo fue reportado en (g/100 g) de acuerdo a la Ecuación 5.

$$\text{Fósforo} \left(\frac{\text{g}}{100\text{g}} \right) = 100 * \frac{\left[\left(\frac{V_2}{V_1} \right) * P \right]}{W}$$

Ecuación 5.

Donde:

V_1 = Volumen de la solución usada para la reacción de color, mL.

V_2 = Volumen del matraz volumétrico conteniendo la muestra incinerada, 100 mL.

P= Cantidad de fósforo correspondiente a la absorbancia de la muestra, mg.

W=Cantidad de muestra pesada, mg.

6.4.5 *Contenido de amilosa*

Para la cuantificación del contenido de amilosa y de amilopectina, en las muestras de almidón, se empleó el kit enzimático Megazyme. Se utilizó la separación de estos polímeros, mediante la precipitación de la amilopectina con la concanavalina A, dejando en el sobrenadante la amilosa que se hidrolizó a glucosa (Yun y Matheson, 1990; Li y Yeh, 2001).

6.4.6 *Caracterización morfológica (SEM)*

Se analizaron las muestras de almidón nativo, hidrolizados, modificados y los encapsulados obtenidos, en un microscopio electrónico de barrido (modelo JEOL JSM-5600 Akishima, Tokyo, Japón) (Figura 12). Las muestras completamente secas, se depositaron sobre un porta-muestras, cubierto con cinta electro-conductiva de carbón de doble cara, fueron recubiertas con oro-paladio durante 240 s en una ionizadora (Denton Vacuum). Las condiciones bajo las cuales se estudiaron las muestras fueron: 15 A y 8 kV, observándose a diferentes ampliaciones (3000X, 2000X, 1500X y 500X), para evitar sobrecarga de electrones secundarios sobre la muestra (Utrilla-Coello y col., 2014).



Figura 12. Microscopio electrónico de barrido (modelo JEOL JSM-5600 Akishima, Tokyo, Japón).

6.5 Hidrólisis ácida del almidón

La hidrólisis ácida del almidón, se llevó a cabo mediante la metodología descrita por Zambrano (1998). La hidrólisis del almidón fue realizada en baño María, a temperatura ambiente y con agitación, manejando los tiempos y concentración de ácido clorhídrico establecidos por el diseño experimental. Transcurrido ese tiempo, el pH fue neutralizado (pH=7) con NaOH al 20 %, después de neutralizar cada tratamiento, se procedió a lavar el almidón dos veces con agua destilada, mediante centrifugación (6000 rpm/10 min). El sedimento fue secado en una estufa a 40 °C durante 24 h o hasta obtener una muestra totalmente seca, una vez seca, fue pulverizada con ayuda de un mortero y pistilo (Torres, 2007).

6.6 Propiedades térmicas (DSC)

Para la determinación de las propiedades térmicas de los almidones, se empleó un calorímetro diferencial de barrido (DSC) (Modelo 822E. Mettler Toledo, Griefensee, Zurich Sz) (Figura 13). La calibración del DSC, se realizó de acuerdo a los manuales de operación del equipo, utilizando como estándar para la temperatura y el flujo de calor, indio (In) ($T_o = 156.6\text{ °C}$, $\Delta H = 28.4\text{ J/g}$). Para colocar la muestra de estudio, se emplearon crisoles de aluminio estándar de 40 μL , se pesaron 4.5 – 5.0 mg de muestra y se adicionó agua destilada hasta alcanzar una relación 1:4 (almidón/agua). Se evaluó en el intervalo de 25 a 100 °C, empleando una velocidad de calentamiento de 5 °C/min. Se determinaron las temperaturas características de gelatinización: temperatura de inicio “onset” (T_o), temperatura de pico “peak” (T_p), temperatura final o “end” (T_e) y la entalpia de gelatinización “ ΔH_g ” (J/g).



Figura 13. Calorímetro diferencial de barrido (Modelo 822E. Mettler Toledo, Griefensee, Zurich Sz).

6.7 Índice de Solubilidad en Agua (ISA) e Índice de Absorción de Agua (IAA)

Estos análisis se realizaron a los almidones en estado nativo y a los modificados, de acuerdo al método descrito por Schoch (1964), modificado por Sathe y Salunkhe (1981). Se colocó 1 g (base seca) de almidón (M), en un tubo de centrifuga de 50 mL; se adicionaron 10 mL de agua destilada a temperatura ambiente, se cubrió y agitó el tubo por 1 min en un vortex. A continuación, las muestras fueron centrifugadas en un equipo Hermle Labortechnik (Germany modelo Z513K), a 6000 rpm durante 30 min. Se registró el peso del tubo con el sedimento (R_{cent}) y el sobrenadante se vació en un crisol de aluminio a peso contante, el líquido decantado se secó en una estufa a 110 °C durante 12 h. Se registró el peso del residuo de evaporación ($Revap$), para emplearse en las siguientes relaciones (Ecuaciones 6 y 7) (Novelo-Cen y Betancur-Ancona, 2005):

$$ISA = \frac{Revap}{M} \times 100$$

Ecuación 6.

$$IAA = \frac{R_{cent}}{M * (100 - ISA)} * 100$$

Ecuación 7.

Donde:

ISA: índice de solubilidad en agua (%).

IAA: índice de absorción en agua (g de gel/g de muestra seca).

R_{cent} : peso del residuo de centrifugación.

$Revap$: peso del residuo de evaporación.

M: peso en base seca de la muestra.

6.8 Poder de hinchamiento

Se pesó 1 g de muestra, se le añadieron 10 mL de agua destilada, en tubos de centrifuga, se agitó en un vortex por 1 min, las mezclas se calentaron a 60, 70, 80 y 90 °C, respectivamente, por 30 min y se centrifugó a 10,000 rpm por 30 min (HERMLE Labortechnik GmbH Germany modelo Z326). El sobrenadante, se colocó en charolas de aluminio, llevadas previamente a peso constante, para la posterior determinación del índice

de solubilidad (ecuación 5) y el sedimento fue pesado. Los cálculos fueron realizados usando la siguiente ecuación y expresados en peso (g/g) (Ecuación 8) (Novelo-Cen y Betancur-Ancona, 2005):

$$\text{Poder de hinchamiento (SP)} = \frac{R_{cent}}{M * (100 - ISA)} * 100$$

Ecuación 8.

Donde:

ISA: índice de solubilidad en agua (%).

Rcent: peso del residuo de centrifugación.

M: peso en base seca de la muestra.

6.9 Perfiles de viscosidad (RVA)

Estos análisis se realizaron a los almidones nativos e hidrolizados, fueron medidos en un reómetro (Discovery HR-2, hybrid rheometer), se implementó la técnica para almidones, utilizando una celda starch cell aluminum. Una suspensión de almidón al 8 % (base seca), con la cantidad de agua destilada necesaria, para alcanzar un peso total de 45 g de suspensión, en un recipiente de aluminio. La muestra se colocó en la celda del reómetro, se utilizaron 4 rampas de temperatura, la primera fue de 25 a 60 °C, con una velocidad de calentamiento de 12.2 °C/min, a una velocidad de agitación de 78.53 rad/s, posteriormente, la temperatura se elevó de 60 a 90 °C y disminuyó la agitación a 16.75 rad/s. Una vez alcanzada la temperatura indicada, ésta se mantuvo constante durante 5 min, la tercer rampa fue de 90 a 50 °C, manteniendo las mismas condiciones de velocidad de enfriamiento y de agitación, y finalmente una rampa de enfriamiento de 50 a 25 °C con una agitación de 10 rad/s. El tiempo total de la prueba fue de 23 min (AACC, 1999).

6.10 Modificaciones químicas

6.10.1 Fosfatación. Método convencional

La fosfatación por el método convencional, se llevó a cabo en una suspensión de almidón, de acuerdo al método propuesto por Paschall (1964), con ligeras modificaciones.

A una suspensión de almidón, sometido previamente a hidrólisis ácida (100 g bs/167 mL de agua destilada con agitación durante 10 min para homogenizar), se le adicionaron 12.6 g de sal de tripolifosfato de sodio (TPS), se agitó 10 min, y se centrifugó a 6000 rpm/10 min, se retiró el sobrenadante y el sedimento se colocó en una charola para secarlo 40-45 °C /24 h, posteriormente, el almidón se pulverizó y nuevamente se colocó a 65 °C/90 min, finalmente se calentó a 155 °C/20 min. El polvo fue lavado dos veces con agua destilada, se separó el residuo sólido, mediante centrifugación a 6000 rpm/10 min y posteriormente fue secado en una estufa a 40-45 °C, pulverizado y cribado en un tamiz de 250 µm para su posterior caracterización (Paschall, 1964; Aguilar, 2007).

6.10.2 Grado de sustitución (GS) en almidón fosfatado

El grado de sustitución en el almidón fosfatado, se determinó de acuerdo al método descrito por Smith y Caruso (1964), fue calculado mediante la Ecuación 9.

$$GS_{Fósforo} = \frac{162 \times \%P}{3100 - (124 \times \%P)}$$

Ecuación 9.

Donde:

GS Fósforo: grado de sustitución de fósforo

% P: porcentaje de fósforo del almidón fosfatado.

6.10.3 Succinación. Método convencional

Se preparó una suspensión en agua al 30-35% de sólidos del almidón (base seca), sometido previamente a hidrólisis ácida, se mantuvo en agitación constante y se le adicionó por goteo, anhídrido n-octenil succínico, en una proporción de 2 mL/100 g de almidón, en base seca, durante 2 h, ajustando continuamente el pH entre 8 y 8.5 con una solución de NaOH al 3%. Esta suspensión se mantuvo en agitación por 4 h más. Posteriormente, se ajustó el pH a 7.0 y la suspensión fue centrifugada a 6000 rpm, durante 10 min. Se realizaron dos lavados del sedimento con agua destilada, para eliminar residuos del

reactivo. El almidón succinatado, fue secado a 40 °C por 24 h, finalmente fue pulverizado y cribado en un tamiz de 250 µm. (Bhosale y Singhal, 2006; Cortés y col., 2014).

6.11 Grado de sustitución (GS) en almidón succinatado

El grado de succinación se determinó, de acuerdo al método de titulación descrito por Smith y col. (1967). Una muestra de almidón de 5 g en base seca (modificado y sin modificar), fueron disueltos en 50 mL de agua destilada, adicionando 25 mL de una solución acuosa de NaOH 0.5 N y se dejaron 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 usadas como blancos. El porcentaje de succinato fue calculado de la siguiente manera (Ecuaciones 10 y 11) (Smith y col., 1967; Cortés y col., 2014).

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

Ecuación 10.

$$GS_{\text{succinato}} = \frac{162 \times \% S}{21000 - (209 \times \% S)}$$

Ecuación 11.

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 HCl.

W: peso 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 por peso molecular del grupo octenil succinil

209: peso molecular de grupo octenil succinil.

6.12 Espectroscopia de infrarrojo (IR)

El cambio en la estructura química de los almidones modificados fue analizado cualitativamente usando espectroscopia de infrarrojo (Equipo Perkin Elmer System 200 FT-IR), equipado con un sistema de transmitancia a una temperatura de 25 ± 2 °C. El espectro fue registrado en un intervalo de número de onda entre 400 y 4000 cm^{-1} . Las muestras de almidón fueron deshidratadas antes del análisis, para evitar interferencias por la humedad presente. Para cada muestra, se colectaron 48 barridos, con una resolución de 4 cm^{-1} y de estos se obtuvo el valor promedio. Se trabajó en la región de 400 a 4.000 cm^{-1} . El análisis se realizó por triplicado.

6.13 Difracción de Rayos X

Los patrones de difracción rayos X se obtuvieron usando un Difractómetro XRD (marca Siemens D 5000 Wittelsbacherplatz, Munich Alemania), con una diferencia de potencia de 35 kV y una densidad de corriente de 15 mA, con una línea de radiación monocromática de cobre $\text{CuK}\alpha$ con $\lambda=1.5406$. Los datos, se recolectaron en el intervalo del ángulo 2θ de 4 a 80°, a una velocidad de 0.1 s^{-1} y un tiempo de conteo por paso angular de 5 s.

6.14 Obtención de encapsulados de *Lactobacillus pentosus*

Activación de la cepa de *Lactobacillus pentosus*. Las células de la bacteria se obtuvieron después de la activación por doble transferencia en caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe, creadores del ágar) a 37 °C por 24 h. Células en fase estacionaria fueron obtenidas por centrifugación a 3500 rpm por 20 min; el precipitado celular se lavó con 20 mL de agua peptonada y se centrifugo nuevamente. Después se re-suspendió el paquete celular en 10 mL de agua destilada y se homogenizo. Se agregó a la mezcla de almidón (la cual fue homogenizada con ayuda de un ultra turrax a 3,000 rpm por 20 s) y se homogenizo toda la mezcla junto con la bacteria a 3,000 rpm durante 5 s.

Los micoencapsulados, se obtuvieron mediante la metodología de secado por aspersión, utilizando un Mini Spray Dryer, Modelo B-191. BÜCHI (Figura 14). Una mezcla de almidón (30 % de sólidos base seca), con un concentrado celular de *Lactobacillus pentosus*, fueron sometidos a secado, se utilizó una temperatura de entrada de

100 °C y de salida de 50 ± 5 °C, y una velocidad de alimentación de la muestra de 3.5 mL/min. Las diferentes mezclas de almidón que se emplearon para encapsular se muestran en la Tabla 5. Los polvos obtenidos fueron colectados en envases herméticos y almacenados para su posterior caracterización.



Figura 14. Mini Spray Dryer, Modelo B-191. BÜCHI

Tabla 5. Mezclas de almidón que se emplearon para encapsular con *Lactobacillus pentosus*.

MUESTRA		Almidón succinatado (%)	Almidón fosfatado (%)
Almidón succinatado		100	0
Mezcla	1	75	25
	2	25	75
Almidón fosfatado		0	100

6.15 Supervivencia de *Lactobacillus pentosus* después del secado por aspersión.

El recuento bacteriano, se realizó antes y después del secado por aspersión, se trabajó por triplicado con el método de vaciado en placa. Para el recuento antes de secar, se tomó una alícuota de 1 mL de la suspensión almidón-bacteria y se colocó en 9 mL de diluyente

de peptona. Después de secar, se tomó 1 g de microcápsulas y se colocó en 9 mL de diluyente citrato de sodio al 2%, posteriormente con la ayuda de un equipo vortex se rompieron las microcápsulas, se tomó 1 mL de la solución y se colocó en 9 mL de diluyente de peptona.

Para ambos casos, se realizaron 8 diluciones más. Se tomó una alícuota de 1 mL de la 1^{ra} a la 8^{va} dilución, de cada dilución, se realizó un conteo, utilizando la técnica de vaciado en placa en agar MRS.

El rendimiento de la microencapsulación, es decir, el porcentaje de inmovilización de los microorganismos, fue calculado de acuerdo al método reportado por Rajam y Anandharamakrishnan (2015) de acuerdo a la Ecuación 12.

$$\% \text{ Inmovilización} = \frac{N}{(N_0)} \times 100$$

Ecuación 12.

Donde:

N: Número de células viables después de la encapsulación (UFC/mL)

N₀: Número de células viables antes de la encapsulación (UFC/mL)

7 RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1 Caracterización del almidón de yuca nativo ceroso y normal

7.1.1 *Contenido de humedad, proteína y ceniza*

En la Tabla 6 se muestra el contenido de humedad, proteína y ceniza de los almidones nativos de yuca ceroso y normal.

El contenido de humedad en las dos variedades de almidón de yuca nativo fue de 6.97 % y 9.02 %, para ceroso y normal, respectivamente, estos resultados coinciden con los valores reportados, los cuales varían entre 5.00 a 13.74 % (Hoover, 2001).

El almidón de yuca ceroso, presentó un contenido de 0.57 % de proteína y de 0.07 %, en el caso del almidón de yuca normal. Se han reportado contenidos de proteína de 0.06 a 0.07 % para diferentes variedades de yuca (Zhu, 2015). Tester y col. (2004), mencionaron que para considerar a los almidones como puros, estos deben presentar un contenido no mayor a 0.60 % de proteínas. Al igual que los lípidos presentes en el almidón, las proteínas se producen en la superficie (e incluyen proteínas no derivadas del almidón) y sin importar su origen, se encuentran al interior de los gránulos. Tanto los lípidos y como las proteínas presentes en el almidón afectan las propiedades funcionales de este.

En cuanto al contenido de cenizas, este fue de 0.12 % para el almidón ceroso y de 0.19 %, para el almidón normal, estos resultados son similares a los reportados por Alvis y col. (2008), para tres diferentes variedades de yuca normal, reportandose contenidos entre 0.11 a 0.16 %. Zhu (2015), reportó un intervalo de 0.03 - 0.29 % para diferentes variedades de yuca.

7.1.2 *Contenido de amilosa y amilopectina*

El contenido de amilosa/amilopectina se determinó por medio del kit de ensayo Megazyme, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6.

En estudios previos, Rolland-Sabaté y col. (2012), realizaron la caracterización estructural de almidones de yuca, con alto y bajo contenido de amilosa, donde determinaron

el contenido de amilosa mediante dos técnicas, calorimetría diferencial de barrido (DSC) y capacidad de unión con yodo (IBC), encontrando para el almidón ceroso un contenido del 0 %, mientras que las variedades de almidón normal de yuca, estaban en el rango de 16.80 a 21.50 %, en el presente estudio, se encontró presencia de amilosa en el almidón ceroso, debido a que la técnica empleada para la determinación de la misma, es mediante un ensayo enzimático, lo que la hace más sensible que las técnicas de DSC o IBC, en cuanto al contenido de amilosa en almidón normal, coincide con lo reportado.

Tabla 6. Caracterización del almidón de yuca nativo ceroso y normal.

	Yuca ceroso	Yuca normal
Humedad (%)	6.97 ± 0.17	9.02 ± 0.21
Proteína_{bs} (%)	0.57 ± 0.32	0.07 ± 0.12
Cenizas_{bs} (%)	0.12 ± 0.08	0.19 ± 0.03
Amilosa_{bs} (%)	1.69 ± 0.34	18.10 ± 0.40
Amilopectina_{bs} (%)	98.31*	81.90*
Fósforo_{bs} (%)	ND	ND

* Valor obtenido por diferencia (100 - % amilosa). **bs**=Base seca

Por su parte, Ceballos y col. (2007), cuantificaron el contenido de amilosa mediante la técnica colorimétrica con yodo, encontrando un contenido del 3.4 %, mientras que con DSC, no fue posible detectar presencia de amilosa. La detección de una pequeña cantidad de amilosa por medio del método colorimétrico, se puede deber a que algunas cadenas largas de amilopectina se unen al yodo, formando el complejo azul.

7.1.3 Determinación del contenido de fósforo

El contenido de fósforo, se determinó mediante la técnica descrita por la AOAC (1990), usando el método 995.11, sin embargo en las dos variedades de almidón, no se detectó la presencia de dicho mineral.

En el almidón, el fósforo puede estar presente en forma de fosfolípidos o monoéster de fosfato. Los fosfolípidos, disminuyen la claridad de las pasta de almidón, mientras que con monoéster de fosfato, se incrementa la claridad y la viscosidad de las pastas (Pérez y Bertoft, 2010). El contenido de fosfolípidos en el almidón, es proporcional al contenido de amilosa, además pueden formar complejos con amilosa y con cadenas largas de amilopectina, lo que resulta en un limitado hinchamiento del gránulo (Singh y col., 2003). El contenido de fósforo, en la mayoría de los almidones es mínimo, en el almidón de maíz ceroso es de 0.007 %, mientras que en el almidón de camote, no hay presencia de dicho mineral, coincidiendo con el tipo de fuente botánica de la yuca (raíz) (Miranda y col., 2008). Para el almidón de yuca, se han reportado contenidos de fósforo de 0.0029 – 0.0095 %, correspondiendo la mayoría a grupos monoéster de fosfato (0.0065 %), los cuales han sido detectados mediante espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) (Zhu, 2015). Debido al mínimo contenido de fósforo reportado, se requiere de técnicas muy sensibles para lograr cuantificar este mineral, como lo es RMN, sin embargo, la sensibilidad del método 995.11 descrito por la AOAC (1990), no fue lo suficiente para identificar fósforo en el presente trabajo.

7.1.4 Caracterización morfológica de los gránulos de almidón de yuca

En la Figura 15, se muestran las micrografías de los almidones de yuca ceroso (a) y normal (b) a 1500X magnificaciones.

La morfología, forma y tamaño, de los gránulos de almidón de yuca, ceroso y normal, no presentó diferencia entre los mismos. La superficie de los gránulos fue lisa con ligeras depresiones o poros. El diámetro promedio de los gránulos fue de 10 y 20 μm , con forma ovalada y superficie plana. Dentro de la morfología granular, el almidón de yuca presentó un tamaño bimodal, es decir existe la presencia de dos poblaciones de gránulos, con tamaños diferentes dentro de un mismo tipo de almidón.

En trabajos anteriores, se reportó que el tamaño de partícula de los gránulos de almidón de yuca, oscila en un amplio intervalo de 5 a 40 μm , siendo el tamaño más frecuente de 7-20 micras (Rolland-Sabaté y col., 2012). En cuanto a la forma, se ha observado mediante diferentes técnicas microscópicas, microscopía electrónica de barrido y

microscopía de luz, que los gránulos de almidón de yuca, son generalmente redondos (ovalados), con superficie plana en un lado (truncado) (Ceballos y col., 2007; Zhu, 2015).

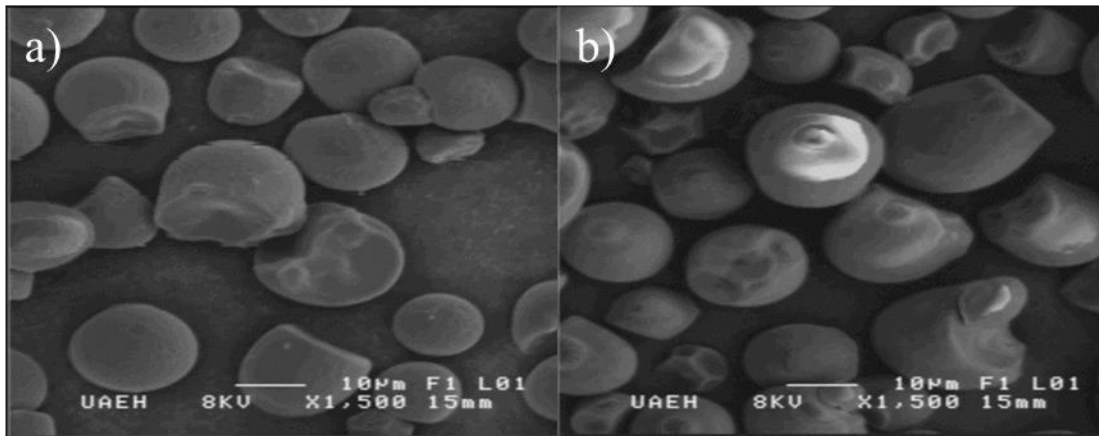


Figura 15. Micrografías de almidón de yuca ceroso (a) y yuca normal (b) a 1500X.

7.2 Caracterización de los tratamientos hidrolizados del almidón de yuca ceroso y normal

El proceso hidrólisis del almidón de yuca, ceroso y normal, se realizó de acuerdo a los trece tratamientos obtenidos a partir del diseño central compuesto rotatable (Tabla 4).

El propósito del proceso de hidrólisis ácida, fue la modificación estructural de los almidones de yuca, cerosa y normal, buscando mejorar de esta manera, sus propiedades fisicoquímicas y funcionales, para ser empleado como material encapsulante, mediante el secado por aspersión, para lo cual, se realizó la optimización del proceso de hidrólisis, tomando como variables respuesta: el índice de absorción de agua y la viscosidad, como parámetros para dicho proceso.

Adicional a estas variables respuesta, se evaluaron las propiedades térmicas, mediante DSC y las características morfológicas con SEM, de los trece tratamientos, así como las que corresponden a las muestras obtenidas en las condiciones óptimas encontradas para los almidones de yuca, ceroso y normal.

7.2.1 *Índice de solubilidad en agua (ISA), índice de absorción de agua (IAA) y poder de hinchamiento (PH) de los tratamientos hidrolizados de almidón de yuca ceroso y normal*

En la Tabla 7, se presenta el análisis de varianza (ANOVA), para un modelo cuadrático de superficie respuesta, correspondiente al almidón hidrolizado de yuca ceroso y normal, para las respuestas de ISA, IAA y PH.

Se observó que para el índice de solubilidad en agua, en todas las temperaturas evaluadas, el modelo de regresión cuadrático utilizado fue significativo, con valores de R^2 ajustada >0.6527 y >0.7629 , con coeficientes de variación $<29.91\%$ y $<25.92\%$, y valores de p de F del modelo <0.0003 y <0.0001 , para el almidón de yuca ceroso y normal, respectivamente, para el almidón ceroso, únicamente la respuesta ISA80 presentó falta de ajuste y para el almidón normal, la respuestas ISA60 presentó falta de ajuste.

El índice de absorción de agua y el poder de hinchamiento, en todas las temperaturas evaluadas, presentaron una de R^2 ajustada >0.6043 y >0.6373 , con coeficientes de variación $<8.95\%$ y $<9.48\%$, un p de F del modelo <0.0008 y <0.0003 , para el almidón de yuca ceroso y normal, respectivamente, las respuestas IAA y PH80 de almidón ceroso y IAA, PH80 y PH90 de almidón normal, presentaron falta de ajuste.

Los coeficientes estimados, del modelo cuadrático ajustado, para los valores de ISA, IAA y PH, se muestran en la Tabla 8, para el almidón de yuca ceroso y en la Tabla 9, para el almidón de yuca normal.

La concentración de ácido clorhídrico en el almidón ceroso, presentó efecto significativo, sobre todas las respuestas en su término lineal (b_1) $p<0.05$, mientras que el tiempo en su término lineal (b_2), solo presentó efecto significativo sobre ISA25, ISA70, ISA80, PH60 y PH70 ($p<0.05$). En su término cuadrático, la concentración y el tiempo (b_{11} y b_{22}), presentaron efecto significativo sobre las respuestas ISA70, PH80 y PH90 ($p<0.05$). La interacción de estas variables (b_{12}) mostró diferencia significativa sobre las respuestas de ISA25, ISA60, ISA70, ISA80 e IAA ($p<0.05$).

Mientras que para el almidón normal (Tabla 9) en su término lineal, la concentración de HCl (b_1), presentó efecto significativo, sobre todas las respuestas, excepto para ISA70

($p < 0.05$). Para el tiempo (b_2), no hubo efecto significativo sobre ISA70, ISA90, PH60 y PH90 ($p < 0.05$). En el término cuadrático, para el porcentaje de ácido clorhídrico (b_{11}), existieron efectos significativos sobre todas las respuestas. En el caso del tiempo (b_{22}), no hubo efecto significativo sobre ISA25, ISA90, IAA25 y PH70 ($p < 0.05$). La interacción del %HCl y el tiempo (b_{12}), presentó efectos significativos en todas las respuestas, excepto ISA80 ($p < 0.05$).

En la Figura 16, se muestra el efecto que tuvo la concentración del ácido clorhídrico y el tiempo de hidrólisis, sobre el índice de solubilidad en agua del almidón ceroso y normal, a diferentes temperaturas (25, 60, 70, 80 y 90 °C). Se observó que para el índice de solubilidad a temperatura ambiente (25 °C), el máximo porcentaje (5.02 %) se alcanzó a mayor porcentaje de HCl y tiempo para el almidón ceroso (Figura 16a), mientras que para el almidón normal (Figura 16f), el mayor porcentaje de solubilidad fue de 2.41 %, obteniéndose a mayor concentración de ácido, pero a tiempos cortos. Ceballos y col. (2007), reportaron un 6.0 % de solubilidad para el almidón ceroso, mientras que Alvis y col. (2008), reportaron, para tres variedades diferentes de almidón de yuca normal, un índice de solubilidad de 2.6-3.7 $\text{g}_{\text{soluble}}/\text{g}_{\text{muestra}}$.

Algunos investigadores plantearon la posibilidad de que las ramificaciones de la amilopectina del almidón y un menor tamaño del gránulo, facilitan la entrada del agua a los espacios intermoleculares, aumentando la solubilidad de los polímeros, siendo la amilopectina la de mayor proporción de disolución. Lo cual incide en el aumento de solubilidad de las moléculas en el agua y en la estabilidad de la viscosidad (Alvis y col., 2008).

A 60 °C, el almidón está cerca de alcanzar la temperatura de gelatinización, por lo que el índice de solubilidad aumenta, ya que las moléculas al interior del gránulo comienzan a migrar al exterior. El almidón ceroso (Figura 16b), alcanzó un valor de ISA de 11.11 % y el almidón normal (Figura 16g), de 19.51 %, obteniéndose estos resultados para el almidón ceroso a altas concentraciones de ácido y máximo tiempo, mientras que para el almidón normal, fueron obtenidos a concentraciones bajas de ácido clorhídrico y tiempo mínimo.

Tabla 7. Análisis de varianza (ANOVA para un modelo cuadrático de superficie respuesta,) para las respuestas de índice de solubilidad en agua a 25, 60, 70, 80 y 90 °C (ISA25, ISA60, ISA70, ISA80 y ISA90); índice de absorción de agua (IAA), poder de hinchamiento a 60, 70, 80 y 90 °C (PH60, PH70, PH80 y PH90) y viscosidad máxima ($V_{m\acute{a}x.}$); para los almidones de yuca ceroso y normal hidrolizados.

Muestra	Respuesta	R ² ajustada	C.V. (%)	Valor F	p de F (modelo)	Falta de ajuste
Almidón ceroso	ISA25	0.6759	25.47	11.43	<0.0001	<0.0001
	ISA60	0.7306	23.35	17.27	<0.0001	<0.0001
	ISA70	0.8046	29.91	24.89	<0.0001	<0.0001
	ISA80	0.8653	24.71	44.69	<0.0001	0.6200
	ISA90	0.6527	21.63	8.89	0.0003	<0.0001
	IAA	0.6860	0.65	8.87	0.0008	0.8970
	PH60	0.6043	8.10	10.47	<0.0001	0.0107
	PH70	0.8107	6.04	29.27	<0.0001	<0.0001
	PH80	0.8530	3.33	35.82	<0.0001	0.3125
	PH90	0.7393	8.95	19.71	<0.0001	<0.0001
	$V_{m\acute{a}x.}$	0.9430	24.00	83.77	<0.0001	0.0030
Almidón normal	ISA25	0.8117	15.23	26.86	<0.0001	0.0448
	ISA60	0.9268	13.63	71.88	<0.0001	0.1143
	ISA70	0.8049	25.69	24.10	<0.0001	<0.0001
	ISA80	0.8130	25.78	19.26	<0.0001	<0.0001
	ISA90	0.7629	25.92	15.80	<0.0001	0.0268
	IAA	0.6373	1.07	8.73	0.0003	0.8609
	PH60	0.8701	9.48	37.18	<0.0001	<0.0001
	PH70	0.7630	3.44	20.31	<0.0001	0.0245
	PH80	0.8403	5.20	30.47	<0.0001	0.6248
	PH90	0.8742	3.63	32.98	<0.0001	0.1458
	$V_{m\acute{a}x.}$	0.8394	22.21	27.13	<0.0001	0.0260

C. V.= Coeficiente de variación. $V_{m\acute{a}x.}$ = Viscosidad máxima.

Tabla 8. Coeficientes estimados del modelo ajustado y nivel de significancia para las respuestas ISA a 25, 60, 70, 80 y 90 °C (ISA25, ISA60, ISA70, ISA80 y ISA90); IAA; PH a 60, 70, 80 y 90 °C (PH60, PH70, PH80 y PH90) y $V_{m\acute{a}x.}$; para el almidón de yuca ceroso hidrolizado.

Muestra	Respuesta	Intercepto	Lineal		Interacción	Cuadrático	
		β_0	β_1	β_2	β_{12}	β_{11}	β_{22}
Almidón ceroso	ISA25	-0.51	0.19	1.06	0.34	-0.10	-0.33
	ISA60	25.10	-4.39	-6.67	0.64	0.27	0.51
	ISA70	65.16	-8.27	-25.64	1.65	0.39	2.56
	ISA80	17.78	-4.59	-6.73	1.48	0.26	0.62
	ISA90	-8.09	3.42	4.50	-0.63	0.14	0.1
	IAA	2.17	-0.02	0.13	7.05×10^{-3}	-8.97×10^{-5}	-0.02
	PH60	2.88	0.22	0.30	-0.6	-0.01	-0.02
	PH70	7.33	-0.39	-0.73	7.80×10^{-3}	0.01	0.05
	PH80	7.08	-0.37	-1.05	0.02	0.01	0.12
	PH90	1.35	-0.76	2.53	-0.1	0.09	-0.26
	V_{máx.}	3930.43	-884.68	-231.80	-24.74	65.24	46.39

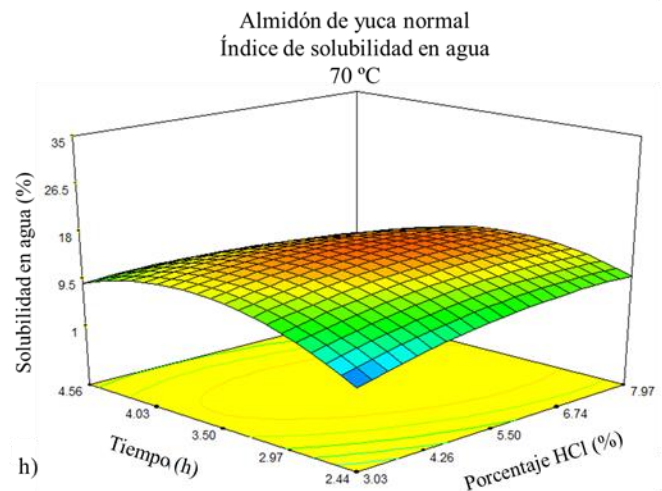
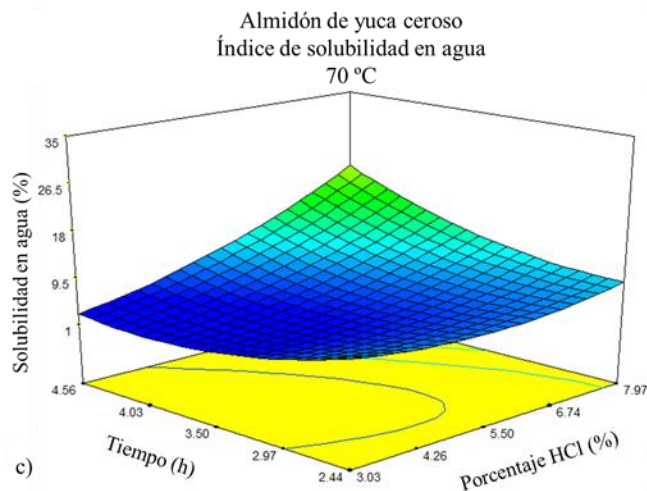
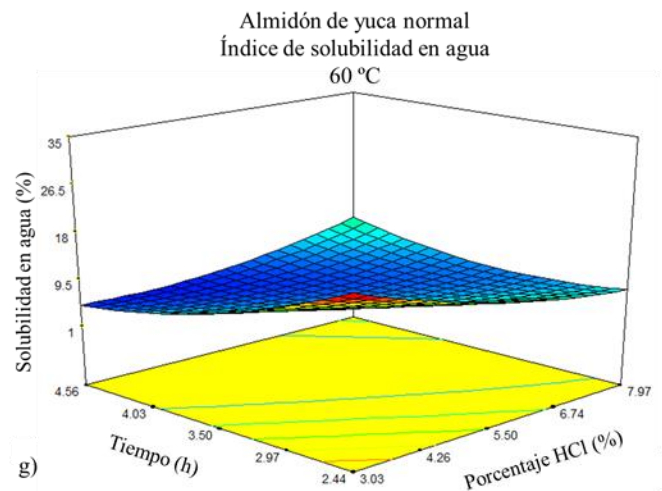
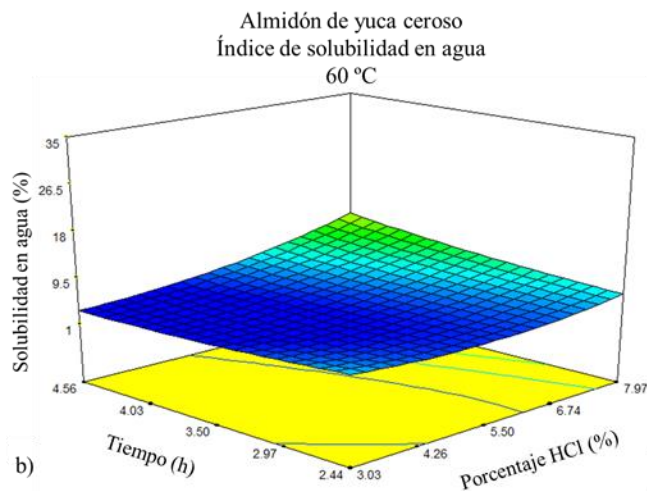
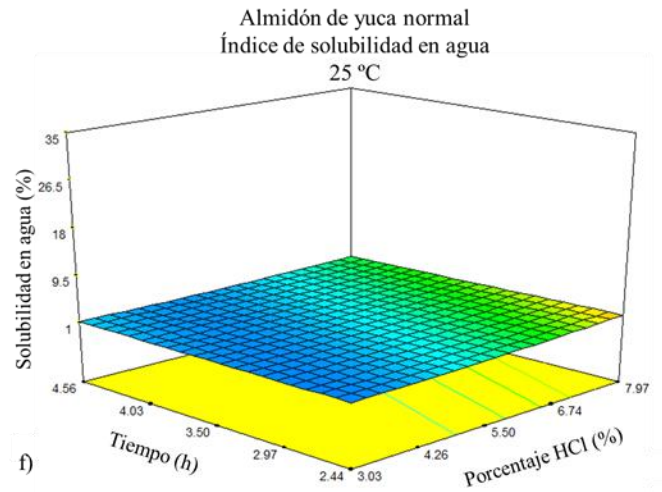
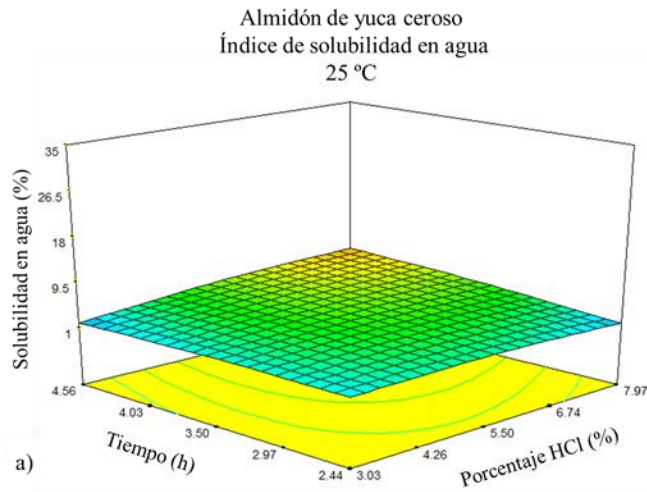
Modelo en el cual b_1 = Concentración de ácido clorhídrico (%) y b_2 = Tiempo de hidrólisis (h) para la ecuación:

$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2$. Números con negrita presentan efecto significativo $p < 0.05$.

Tabla 9. Coeficientes estimados del modelo ajustado y nivel de significancia para las respuestas ISA a 25, 60, 70, 80 y 90 °C (ISA25, ISA60, ISA70, ISA80 y ISA90); IAA; PH a 60, 70, 80 y 90 °C (PH60, PH70, PH80 y PH90) y $V_{m\acute{a}x.}$; para el almidón de yuca normal hidrolizado.

Muestra	Respuesta	Intercepto	Lineal		Interacción	Cuadrático	
		β_0	β_1	β_2	β_{12}	β_{11}	β_{22}
Almidón normal	ISA25	1.02	-0.04	0.05	-0.08	0.04	0.03
	ISA60	88.50	-10.0	-27.55	1.65	0.32	2.24
	ISA70	-78.56	7.17	41.80	-0.95	-0.32	-5.23
	ISA80	66.87	-3.92	-27.0	0.55	0.26	2.94
	ISA90	-1.87	0.29	1.18	-1.10	0.50	0.84
	IAA	2.02	0.01.	0.14	9.83 x 10⁻³	-4.1	-0.03
	PH60	-5.98	2.01	3.9	-0.11	-0.17	-0.46
	PH70	5.44	-0.12	0.31	0.05	-0.01	-0.05
	PH80	-0.30	1.25	2.38	-0.13	-0.09	-0.29
	PH90	2.77	1.33	0.13	-0.18	-0.07	0.14
	V_{máx.}	4326.36	-525.69	-239.23	73.58	-0.61	-63.51

Modelo en el cual b_1 = Concentración de ácido Clorhídrico y b_2 = Tiempo para la ecuación: $Y_i = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2$. Números con negrita presentan efecto significativo $p < 0.05$.



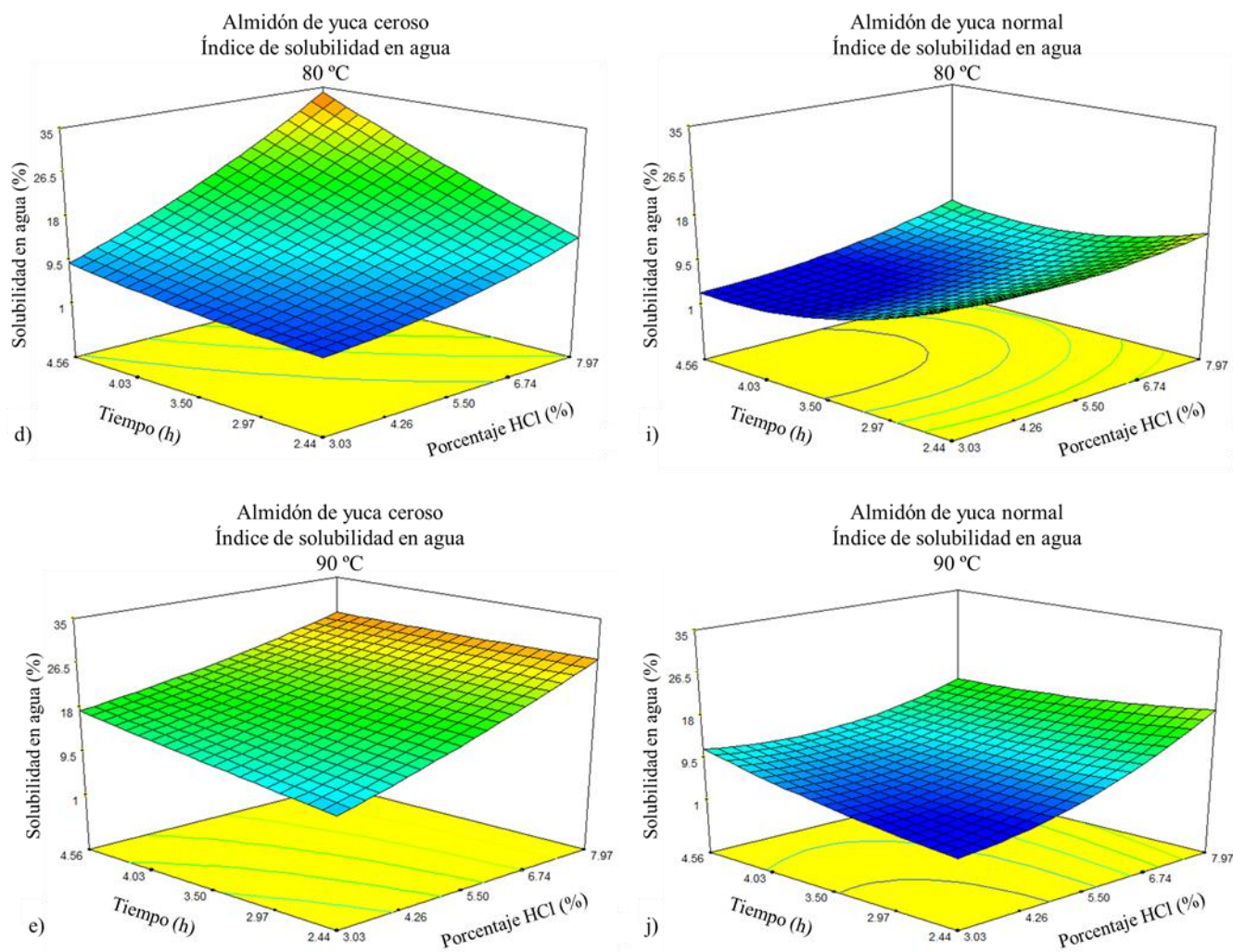


Figura 16. Efecto de la concentración de HCl (%) y el tiempo (h) sobre el índice de solubilidad en agua (25 -90 °C) de almidón de yuca ceroso (a - e) y normal (f - j).

El almidón ceroso continuó presentando el mismo efecto a 70 y 80 °C (Figura 16 c,d), alcanzando porcentajes de solubilidad de 20.77 y 34 %, respectivamente, bajo las mismas condiciones. Sin embargo, el almidón normal presentó un comportamiento diferente, ya que el porcentaje de solubilidad se obtuvo a concentraciones de ácido y tiempos intermedios, presentado un 14.9 % a 70 °C (Figura 16h) y 80 °C (Figura 16i). Al llegar a los 90 °C se esperaba que el almidón este gelatinizado por completo, el almidón ceroso (Figura 16e) alcanzó un valor de ISA de 27.77 % a mayor concentración de ácido,

independientemente del tiempo de hidrólisis, mientras que el almidón normal (Figura 16j) alcanzó un 19.37 % bajo las mismas condiciones.

Existe una gran variación en el índice de solubilidad del almidón de diferentes genotipos de yuca, el cual va desde 0.2 hasta 16.6 % ISA a 75 °C, debido al efecto de algunas modificaciones genéticas (Zhu, 2015). A esto se le atribuye la diferencia en el porcentaje de solubilidad de agua entre estos dos tipos de almidón (ceroso y normal), recordando que el almidón ceroso, se obtuvo a partir de una modificación genética realizada a la raíz de la yuca, con la que se obtuvo un almidón con mayor contenido de amilopectina, que el que presenta el almidón normal, por lo tanto, esto contribuye a que el almidón ceroso presente mayor índice de solubilidad en agua que el almidón normal.

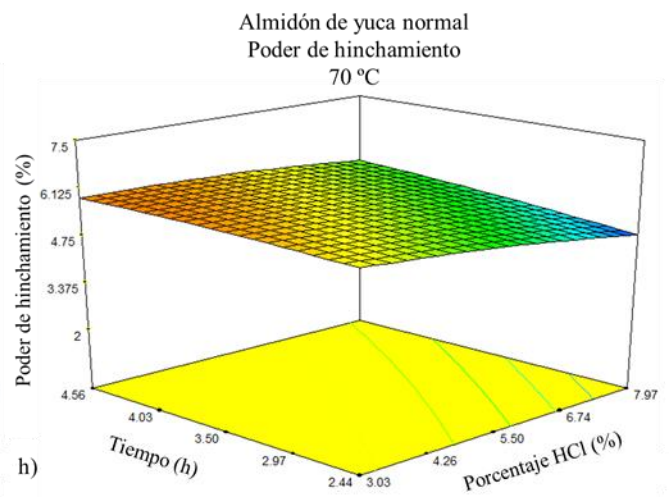
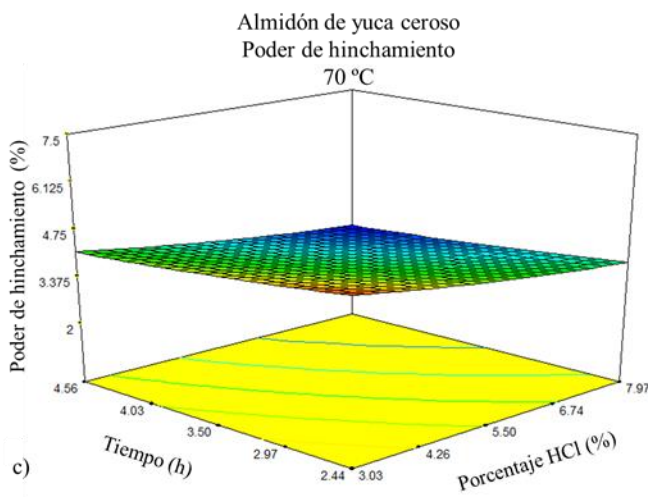
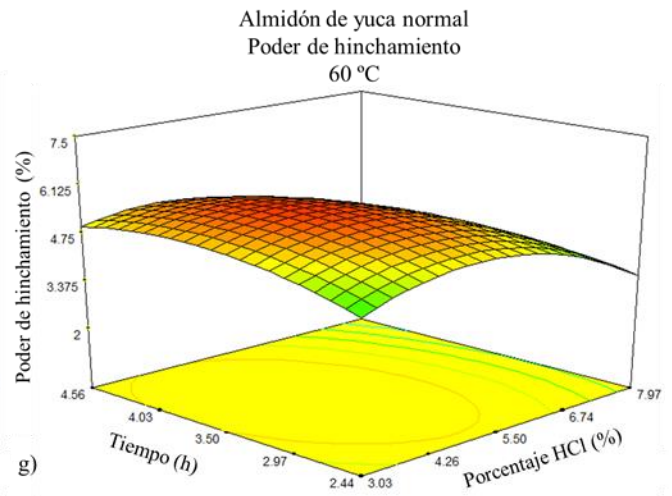
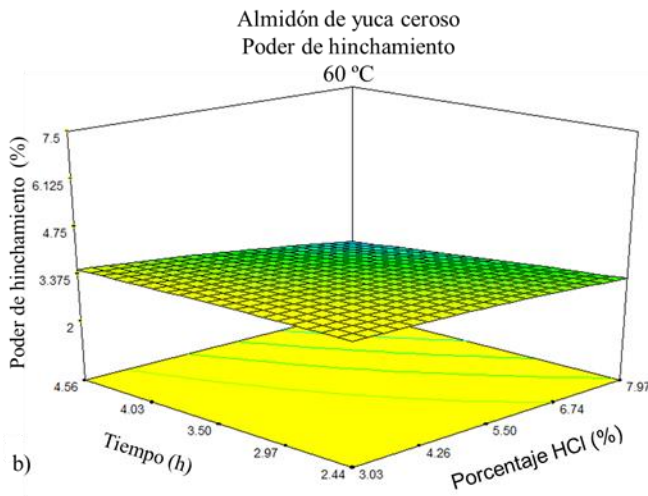
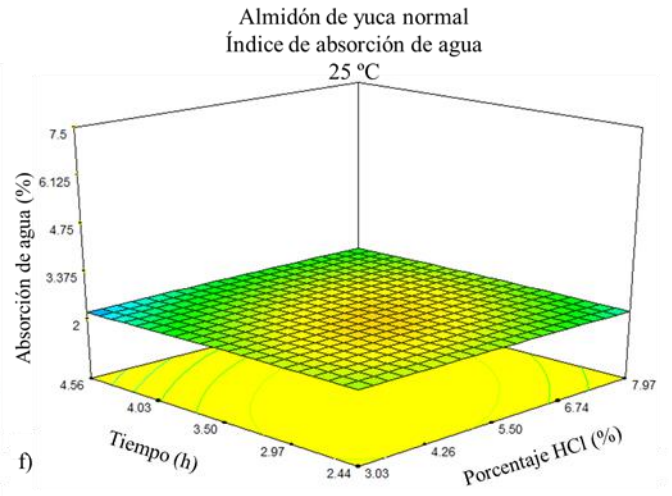
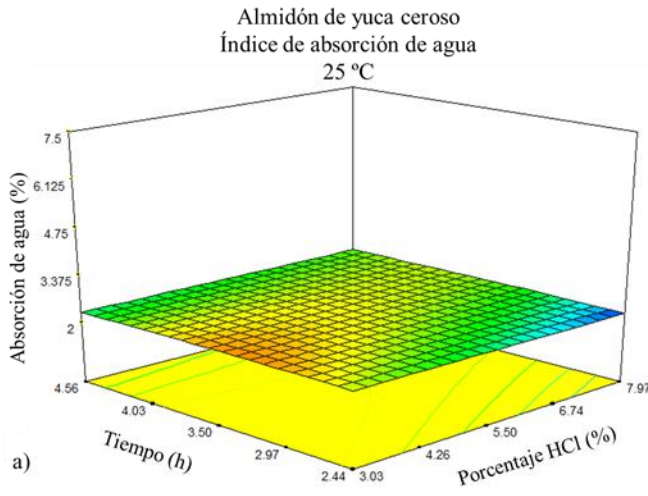
En la Figura 17 se muestra el efecto que tuvo la concentración del ácido clorhídrico y el tiempo de hidrólisis, sobre el índice de absorción de agua (IAA). A 25 °C, se alcanzaron valores de 2.35 y 2.28 %, para el almidón ceroso (Figura 17a) y normal (Figura 17f), respectivamente, las condiciones de hidrólisis para el almidón ceroso fueron a concentración baja y tiempo intermedio, mientras que para el almidón normal fue a concentraciones de ácido y tiempo, intermedios.

Para el almidón de yuca normal, se reportaron valores de IAA entre 4.63 a 4.80 g gel/g muestra bs. Estas diferencias pueden estar relacionadas con la fuente botánica, con el tamaño y la forma del gránulo (Alvis, y col., 2008).

A 60 °C, a una baja concentración de ácido clorhídrico y un menor tiempo de hidrólisis, el almidón ceroso (Figura 17b), presentó un valor de 3.61 % de absorción de agua o poder de hinchamiento, mientras que bajo condiciones intermedias, el almidón normal (Figura 17g) presentó un 5.66 % de absorción de agua.

De acuerdo a los resultados, se observó que el comportamiento que presentó el almidón ceroso, fue diferente al del almidón normal. A 70 °C, las condiciones para obtener el valor máximo para el almidón ceroso (4.86 %), fueron menor concentración de ácido y tiempo y para almidón normal (5.87 %), menor concentración y máximo tiempo (Figura 17c y 17h, respectivamente).

Resultados y discusiones



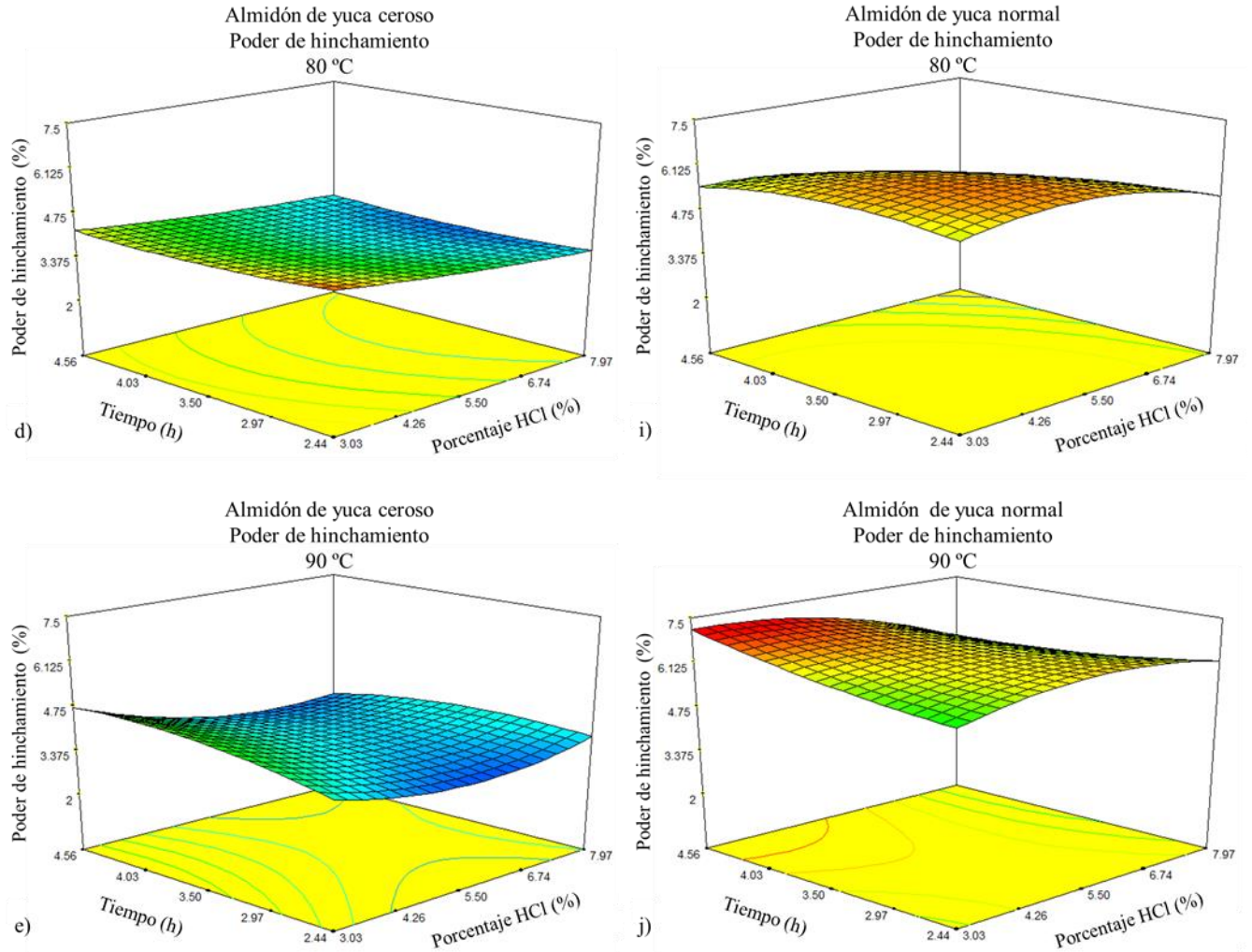


Figura 17. Efecto de la concentración de HCl (%) y el tiempo (h) sobre el índice de absorción de agua (25 -90 °C) de almidón ceroso (a - e) y normal (f - j). de yuca.

El almidón continuó absorbiendo agua, por encima de la temperatura pico de gelatinización (T_p). Muñoz y col. (2015), evaluaron cuatro almidones nativos, entre ellos el de yuca y observaron que el máximo poder de hinchamiento, se obtuvo cerca de la temperatura de gelatinización, pero el hinchamiento de los gránulos no se detiene en este punto, más bien, continúa hasta el equilibrio.

A 80 °C, el almidón ceroso (Figura 17d), mantiene las mismas condiciones, alcanzando valores de 7.97 %, mientras que el almidón normal (Figura 17i) para obtener este mismo porcentaje, requiere valores intermedios de la concentración de HCl y tiempo.

Finalmente, a 90 °C, ambos almidones coinciden que a la menor concentración y mayor tiempo, alcanzan un poder de hinchamiento de 4.78 y 7.14 %, para almidón ceroso y normal, respectivamente (Figura 17e y 17j).

De acuerdo a los resultados reportados por Wang y Copeland (2012), las moléculas de amilosa y amilopectina, son atacadas simultáneamente durante el primer día de hidrólisis ácida. Las cadenas de amilopectina, que son parcialmente degradadas en las etapas iniciales de la hidrólisis, son capaces de absorber agua, e hinchar hasta cierto punto en condiciones de agua limitada. La estructura intacta de la amilopectina, juega un papel importante en la capacidad de retención de agua e hinchamiento del gránulo de almidón. Una vez que se interrumpe la estructura de la amilopectina, pierde la propiedad de formar redes y las cadenas tienden a disolverse, ya que no pueden retener agua. Por lo tanto, la pérdida de poder de hinchamiento, se puede atribuir a la degradación parcial de las cadenas de amilopectina.

7.2.2 Viscosidad máxima de los tratamientos hidrolizados de almidón de yuca ceroso y normal

Los resultados del ANOVA, para un modelo cuadrático de superficie respuesta, para la variable $V_{m\acute{a}x}$, se muestran en la Tabla 7, el modelo de regresión cuadrático utilizado, fue significativo ($p < 0.0001$), con valores de R^2 ajustada de 0.94 y 0.84, coeficientes de variación de 24.00 % y 22.21 %, para el almidón de yuca, ceroso y normal, respectivamente, el modelo no presentó falta de ajuste.

Los coeficientes estimados del modelo cuadrático ajustado, para los valores de viscosidad máxima (Tabla 8 y 9), presentaron efectos significativos en su término lineal para el %HCl (b_1), en el almidón ceroso, mientras que en el almidón normal, presentaron efecto significativo las dos variables, %HCl y tiempo (b_1 y b_2), en el término cuadrático, solo existió efecto significativo para la concentración del ácido (b_{11}) en el almidón ceroso y

para el almidón normal, no se presentaron efectos significativos, sin embargo en la interacción de las dos variables (b_{12}), solo el almidón normal presentó efecto significativo.

En la figura 18, se observó el efecto de la concentración del ácido y del tiempo de hidrólisis, sobre la viscosidad de los almidones. El almidón ceroso (figura 18a) y normal (figura 18b), mostraron una clara tendencia a disminuir su viscosidad, conforme se incrementó el porcentaje de HCl, independientemente del tiempo empleado, alcanzando valores mínimos de 1417.54 y 2311.91 cP, respectivamente.

Sánchez y col. (2010), reportaron para el almidón ceroso, una viscosidad máxima de 1119 cP, mencionando también que existe una gran variación, debido a diferencias en las muestras, derivadas de las condiciones ambientales en las que la planta AM 206-5 creció.

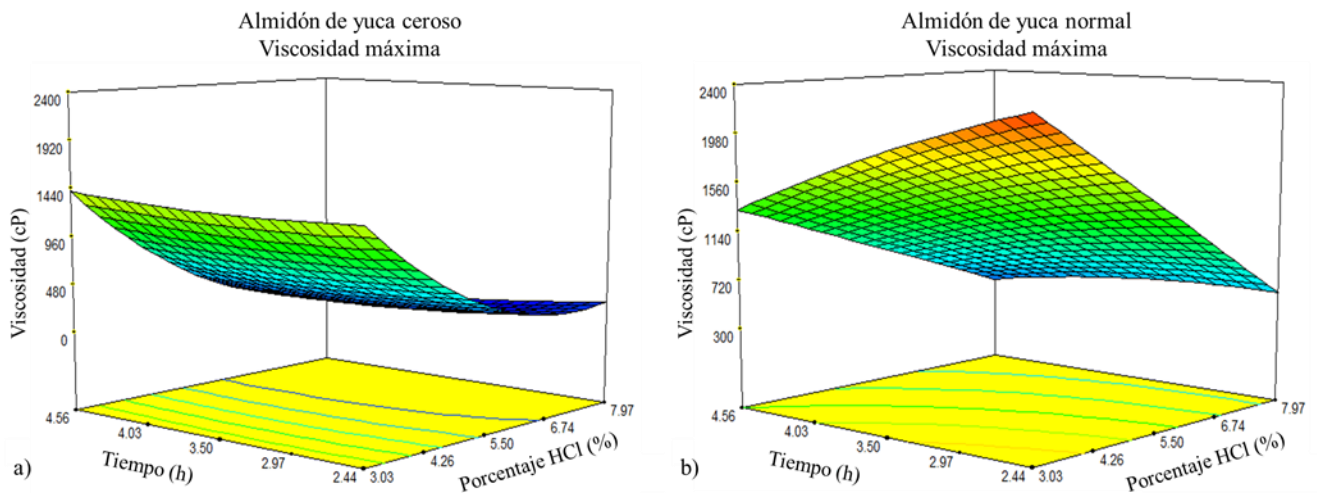


Figura 18. Viscosidad máxima del almidón de yuca ceroso (a) y normal (b).

A medida que avanza el tiempo de hidrólisis, el volumen de los gránulos de almidón hidrolizado disperso disminuye y con él, la viscosidad aparente, también disminuye. Utrilla-Coello y col. (2014), realizaron la hidrólisis ácida del almidón de maíz, monitoreando el tiempo de hidrólisis hasta 15 días, donde encontraron que la viscosidad aparente disminuyó durante las primeras 12 h de hidrólisis, hasta un 99.9%, al igual que disminuyó el contenido de amilosa.

En diferentes genotipos de almidón de yuca nativo, se reporta una viscosidad que va de 146 – 1505 cP (Zhu, 2015). La viscosidad del almidón incrementa con la concentración del mismo, pero puede disminuir con el contenido de amilosa y a una temperatura determinada (Ai y Jane, 2015).

7.2.3 *Propiedades térmicas (DSC) de los tratamientos hidrolizados de almidón de yuca ceroso y normal*

En la Tabla 10 se muestra el análisis de varianza para las repuestas temperatura inicial (T_o), pico (T_p), final (T_e) y energía de gelatinización (ΔH), en donde se observó que el modelo de regresión cuadrático utilizado, fue significativo, con valores de R^2 ajustada >0.77 y >0.83 , coeficientes de variación $<5.09\%$ y $<1.92\%$, p de F del modelo <0.0008 y <0.0017 , para el almidón de yuca, ceroso y normal, respectivamente, ninguna respuesta presento falta de ajuste.

Tabla 10. Análisis de varianza (ANOVA para un modelo cuadrático de superficie respuesta) para las repuestas de temperatura inicial (T_o), temperatura pico (T_p), temperatura final (T_e) y energía de gelatinización (ΔH) para los almidones hidrolizados de yuca ceroso y normal.

Muestra	Respuesta	R^2 ajustada	C.V. (%)	Valor F	p de F (modelo)	Falta de ajuste
Almidón ceroso	T_o	0.9066	0.45	32.08	< 0.0001	0.5730
	T_p	0.7768	0.76	12.13	0.0004	0.4459
	T_e	0.8383	1.06	17.59	< 0.0001	0.0722
	ΔH (J/g)	0.7683	5.09	10.95	0.0008	0.0478
Almidón normal	T_o	0.9133	0.66	43.15	<0.0001	0.0973
	T_p	0.9060	0.56	39.54	<0.0001	0.1389
	T_e	0.8327	0.72	21.91	<0.0001	0.6050
	ΔH (J/g)	0.8806	1.92	17.22	0.0017	0.1921

C. V.= Coeficiente de variación

Los coeficientes estimados del modelo cuadrático ajustado, para los valores de temperatura inicial (T_o), pico (T_p), final (T_e) y ΔH (Tabla 11), mostraron que el almidón ceroso presentó efectos significativos en la variable tiempo, en su término lineal, sobre todas las respuestas, mientras que en su término cuadrático, existen efectos significativos para ambas variables (% HCl y tiempo) sobre todas las respuestas. La interacción entre el % HCl y el tiempo (h), presentó efectos significativos en todas las respuestas, excepto para el ΔH .

El almidón normal presentó efectos significativos para la variable de %Hcl, sobre todas las respuestas en su término lineal, de igual manera, en el término cuadrático, a excepción de la respuesta ΔH . Sin embargo, la interacción entre las variables solo presentó efecto significativo sobre el ΔH .

El perfil de gelatinización de cada uno de los tratamientos fue medido mediante la técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC). En los termogramas (ANEXO 1), se observó el efecto de la hidrólisis ácida sobre la temperatura de gelatinización, en comparación al almidón nativo. Las temperaturas inicial (T_o), pico (T_p) y final (T_e) de los almidones hidrolizados de yuca ceroso y normal, presentaron un aumento con respecto al nativo, esto se debe a que durante la hidrólisis ácida, las zonas sobre las que actúa el ácido, en primera instancia, son las zonas amorfas de los gránulos de almidón, incrementado la proporción de regiones cristalinas, las cuales, debido a su estructura, requieren de mayor energía y por ende, de una mayor temperatura para el desdoblamiento de las dobles hélices de amilopectina (zonas cristalinas) y así comenzar el proceso de gelatinización.

Utrilla Coello y col. (2014), determinaron la energía de gelatinización del almidón de maíz nativo e hidrolizado, encontrando que la temperatura pico y final, aumentó durante el primer día de hidrólisis, lo cual se relacionó con la eliminación de las regiones amorfas del gránulo de almidón, quedando en su mayoría, regiones cristalinas, que requieren mayor energía para desestabilizar su estructura. El rango de temperatura de gelatinización ($T_e - T_o$), de igual manera se incrementó en el primer día de hidrólisis, lo que indicó que la heterogeneidad cristalinidad era más amplia para los gránulos hidrolizados, lo cual coincide con los resultados obtenidos para el almidón ceroso de yuca, donde el rango de temperatura aumentó de 9.41 ± 0.26 a 13.79 ± 0.55 °C.

Tabla 11. Coeficientes estimados del modelo ajustado y nivel de significancia para las respuestas de temperatura inicial (T_o), temperatura pico (T_p), temperatura final (T_e) y energía de gelatinización (ΔH) para los almidones de yuca hidrolizados ceroso y normal.

Muestra	Respuesta	Intercepto	Lineal		Interacción	Cuadrático	
		β_0	β_1	β_2	β_{12}	β_{11}	β_{22}
Almidón ceroso	T_o	71.24	-2.49	-1.83	0.43	0.08	0.01
	T_p	62.21	-0.73	4.28	0.47	-0.09	-0.89
	T_e	90.11	-5.02	-2.82	0.60	0.27	0.06
	ΔH (J/g)	5.04	-0.01	5.11	-0.12	0.06	-0.73
Almidón normal	T_o	58.82	-0.90	1.81	0.09	0.09	-0.32
	T_p	64.44	-0.85	0.97	0.03	0.11	-0.18
	T_e	69.93	-0.71	0.48	0.01	0.10	-0.10
	ΔH (J/g)	16.55	-0.53	-2.02	0.12	0.03	0.18

Modelo en el cual β_1 y β_2 = concentración de ácido clorhídrico y tiempo respectivamente para la ecuación: $Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2$. Números con negrita presentan efectos significativos $p < 0.05$. No. De muestras analizadas por triplicado ($n=13$).

En la Figura 19, se observó el efecto de la concentración de HCl (%) y del tiempo (h), sobre la temperatura de inicio (T_o), pico (T_p) y final (T_e) de gelatinización de los almidones de yuca, ceroso y normal.

En la Figura 19a, se muestra que, para el caso de T_o del almidón ceroso, se obtuvo el valor más alto (63.9 °C) a mayor porcentaje de HCl y mayor tiempo de hidrólisis ácida (7.97 %, 4.5 h). Para T_p (Figura 19b), se muestra que el mayor valor que se alcanza es de 68.7 °C a altas concentraciones de HCl y un tiempo de intermedio a alto. Mientras que el valor más alto de T_e de gelatinización (Figura 19c), se obtuvo bajo las mismas condiciones (mayor % HCl y tiempo), alcanzando una temperatura de 78.1 °C.

La gelatinización del almidón normal de yuca, presentó una T_o (Figura 19d) máxima de 62.9 °C, la cual se obtuvo a máxima concentración de ácido y valores de tiempo superiores a las 3.5 h, para la T_p (Figura 19e), se presentó una máxima temperatura de 66.6 °C y T_e (Figura 19f) de 71.6 °C, ambas respuestas se obtuvieron a concentraciones máximas de ácido, independientemente del tiempo.

En la Figura 20 se observó el efecto de la concentración de HCl (%) y del tiempo (h), sobre la energía de gelatinización (ΔH), para el almidón ceroso se requirieron 14.5 J/g para desestabilizar la estructura cristalina del almidón, mientras que para el almidón normal, se necesitaron 13.3 J/g.

Por lo anterior, se pudo observar que el almidón ceroso hidrolizado, presentó temperaturas de gelatinización más altas, a diferencia del almidón normal, al igual que un mayor requerimiento de energía, para perder la estructura cristalina, esto es debido al contenido de amilopectina que presenta, formando una estructura más estable y compacta, por lo que presenta, cristales térmicamente estables, necesitando de más energía para poder irrumpir la estructura cristalina del almidón (Ai y Jane, 2015).

Beninca y col. (2013), reportaron para el almidón de yuca normal, una temperatura de pico de 70.0 ± 1.08 y una energía de gelatinización de 8.37 ± 0.81 , mientras que Zhu (2015), reportó para 12 genotipos de yuca, intervalos de gelatinización muy amplios, de T_o , T_p , T_f y ΔH de 61.1 a 71.3 °C, 66.8 a 74.9 °C, 78.4 a 85 °C, y 15.1 a 16.4 J/g, respectivamente.

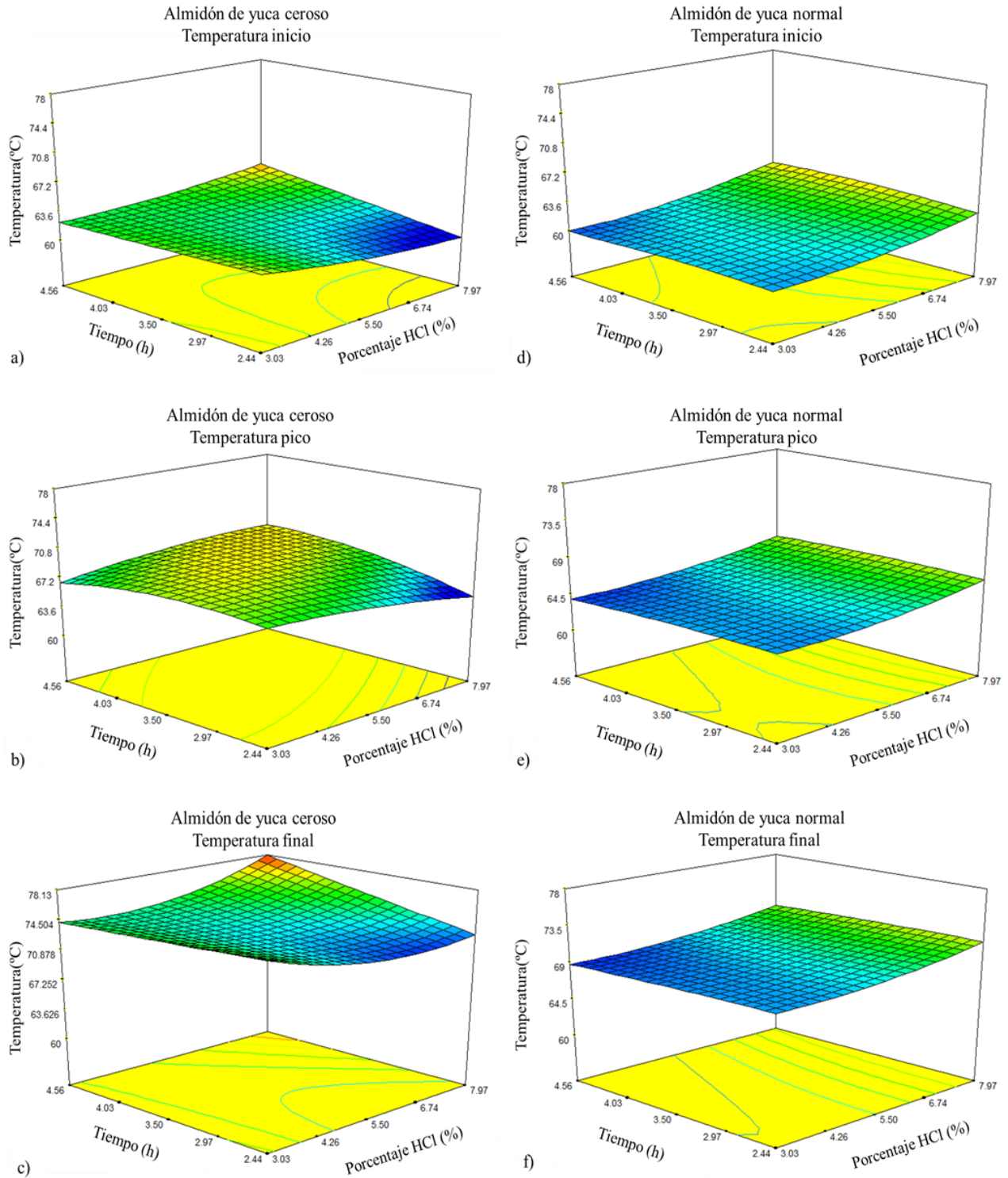


Figura 19. Efecto de la concentración de HCl (%) y el tiempo (h) sobre la temperatura inicio (T_o), pico (T_p), final (T_f) de gelatinización del almidón ceroso (a-c) y normal (d-f) de yuca.

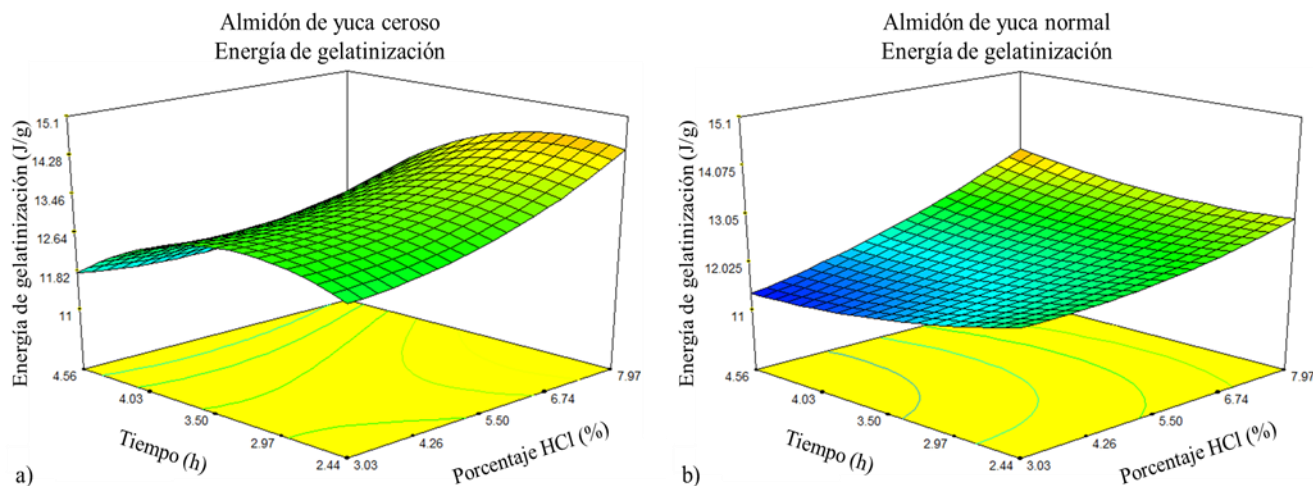


Figura 20. Efecto de la concentración de HCl (%) y el tiempo (h) sobre la energía de gelatinización (ΔH) del almidón ceroso (a) y normal (b) de yuca.

Esta variación puede ser atribuida, en parte a diferentes factores no genéticos, tales como condiciones ambientales, prácticas agronómicas, y procesamiento. El almidón extraído de raíces frescas, tiene temperaturas de gelatinización menores que las de raíces secas, el mes de cosecha del cultivo, igual tiene una gran influencia en los parámetros del DSC (Zhu, 2015).

Rolland-Sabaté y col. (2012), reportaron valores de $\Delta H=8.9$ a 18.8 J/g para diferentes genotipos de yuca, incluyendo el almidón ceroso. Se sabe que los valores del ΔH , están relacionados con la estructura cristalina y la longitud de cadena de las moléculas de amilopectina, ya que este valor indica el desdoblamiento de las dobles hélices de esta.

7.2.4 Caracterización morfológica de los gránulos de almidón de los tratamientos hidrolizados de almidón de yuca ceroso y normal

En las Figuras 21 y 22, se observan las micrográficas obtenidas de los almidones ceroso y normal, respectivamente, después de someterse al tratamiento de hidrólisis ácida.

En ambos tipos de almidón, se aprecia el daño provocado en los gránulos, aunque el tratamiento de hidrólisis no se considera como severo, se puede apreciar la formación de

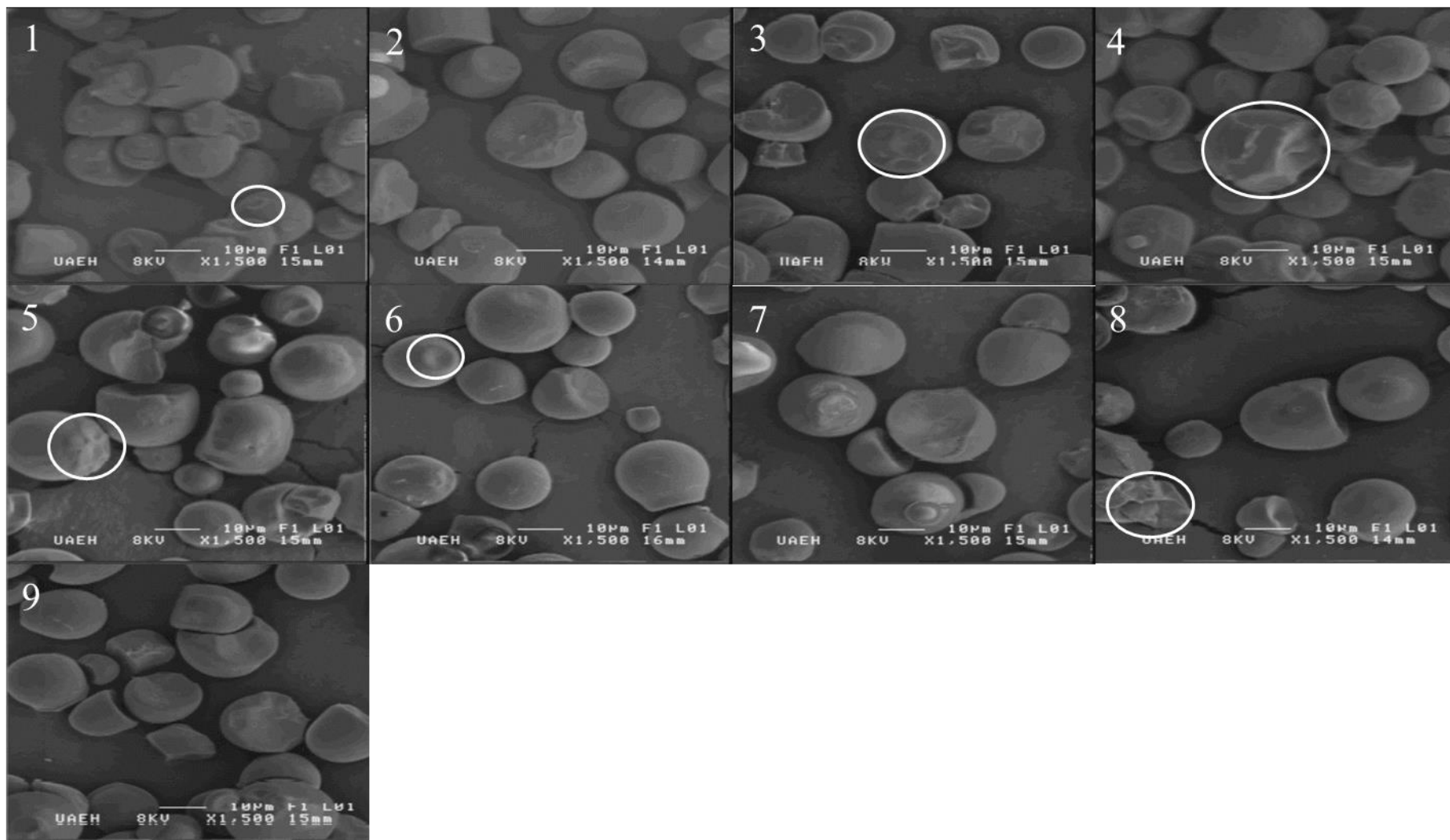


Figura 21. Micrografías de almidón ceroso de yuca tratamientos hidrolizados. Los números corresponden al tratamiento. Se muestra un punto central (tratamiento 9).

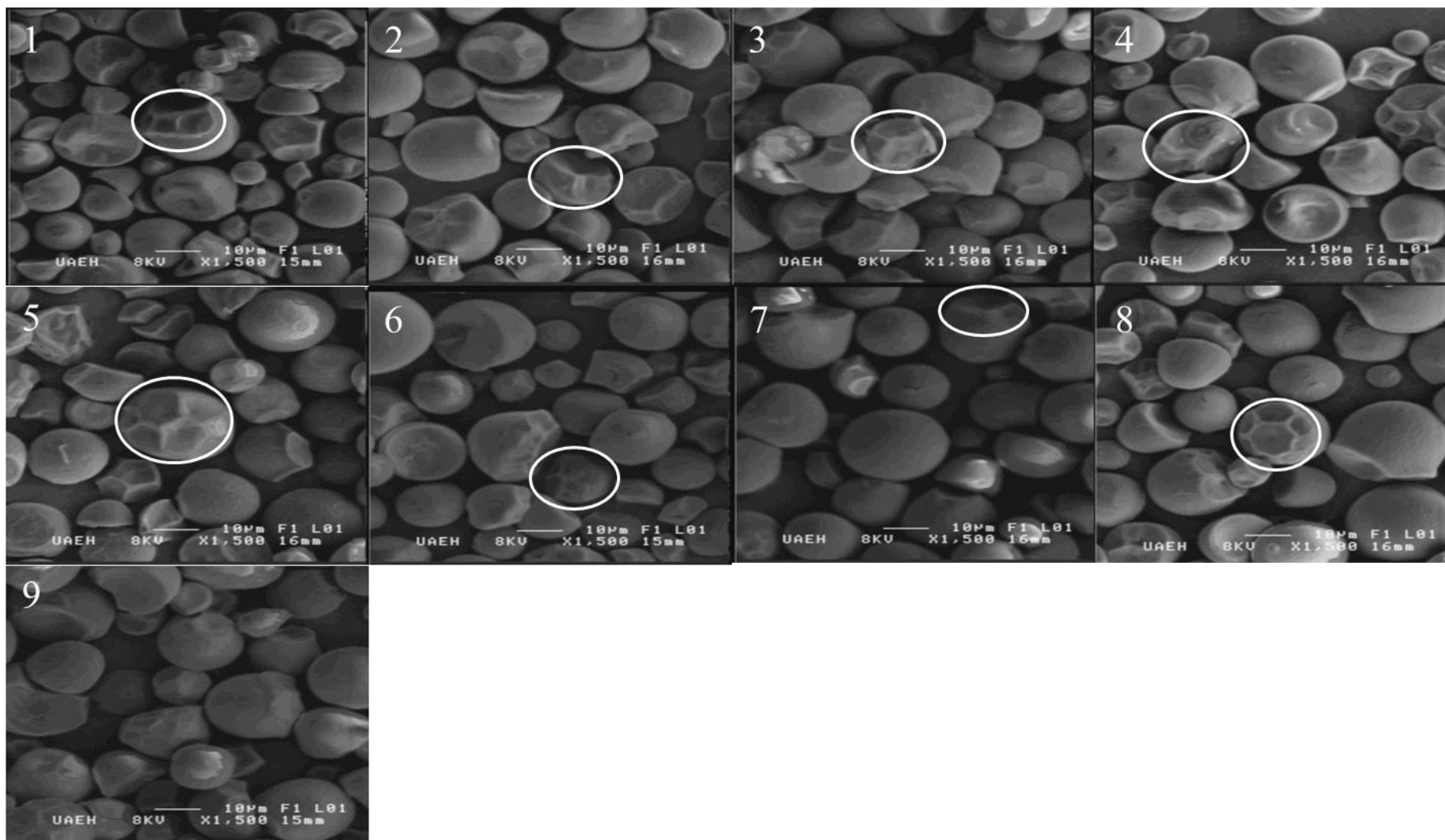


Figura 22. Micrografías de almidón normal de yuca tratamientos hidrolizados. Los números corresponden al tratamiento. Se muestra un punto central (tratamiento 9).

poros en la superficie de los gránulos, en general, el almidón normal, muestra ligeramente más daño, esto se puede deber a la estructura granular, ya que un almidón ceroso presenta una estructura más estable, debido al contenido de amilopectina, por lo que se requiere de un mayor tiempo de exposición del ácido con el almidón o mayor concentración del mismo, para provocar daños más severos, en comparación a un almidón normal.

Durante la hidrólisis ácida las primeras zonas en las que ataca el ácido es en las zonas amorfas y después las regiones cristalinas, debido a que las regiones amorfas están conformadas por enlaces α -(1-6), presentando mayor disponibilidad para que el ácido pueda atacar (Gao, y col., 2012).

Wang y col. (2008), realizaron la hidrólisis ácida con HCl, de almidón de *Dioscorea rhizoma* (shanyao), durante 32 días y observaron que con el aumento del tiempo de hidrólisis, el volumen de los gránulos iba siendo menor, que el volumen que ocupaban los gránulos de almidón nativo y al llegar al día 32, los gránulos eran muy pequeños y arrugados, debido a la degradación de las zonas amorfas y cristalinas situadas en el interior del mismo, sin embargo, la superficie seguía siendo suave. Después de los 40 días de hidrólisis, la mayoría de los gránulos habían erosionado por completo (Shujun, y col., 2008).

La hidrólisis ácida no se produce de manera uniforme, pues el ácido no es selectivo con los enlaces que ataca, a diferencia de la hidrólisis enzimática, adicionalmente, algunas áreas son más susceptibles al ataque que otras (tipo de enlace, presencia de poros, entre otros), los ácidos causan alteraciones superficiales y degradan la parte externa del gránulo por exo-corrosión, cuando se produce endo-corrosión, la parte interna del gránulo se corroe a través de pequeñas grietas, por las que los ácidos pueda penetrar en el gránulo. En una muestra de almidón dado, los gránulos pequeños se hidrolizan más rápidamente que los más grandes, debido a una mayor área superficial disponible. Los gránulos de almidón que son más fácil o rápidamente atacados por la hidrólisis ácida, son aquellos que presentan la formación de canales en su superficie, ya que facilitan el ingreso del ácido al interior del gránulo (Jiping y col., 2007).

7.3 Optimización del proceso de hidrólisis

Se realizó la optimización del proceso de hidrólisis ácida, mediante la metodología de sobreposición de superficies respuesta, con el objetivo de crear almidones que puedan ser utilizados como material pared en la encapsulación, las respuestas seleccionadas para la optimización, fueron IAA y viscosidad máxima. Los principales criterios establecidos para determinar el área óptima fueron: porcentaje máximo de absorción de agua y valor mínimo de viscosidad.

En la Figura 23, se muestra el área correspondiente a las mejores condiciones de proceso, para la obtención de almidones con capacidad para ser empleados como material pared, en el secado por aspersión. Los valores predichos para el almidón hidrolizado óptimo fueron de IAA=2.35 y 2.18 % y $V_{m\acute{a}x.}$ = 164.74 y 705.07 cP, para el almidón ceroso (Figura 23a) y normal (Figura 23b), respectivamente.

Se determinó que, las mejores condiciones para la hidrólisis ácida, eran una concentración de ácido de 7.97 % para ambos almidones, a un tiempo de 4.56 h para el almidón ceroso y de 2.44 h, para el almidón normal. Una vez determinadas estas condiciones, se realizó la hidrólisis ácida, de ambos almidones, para después someterse a una segunda modificación química con grupos fosfato y succinato.

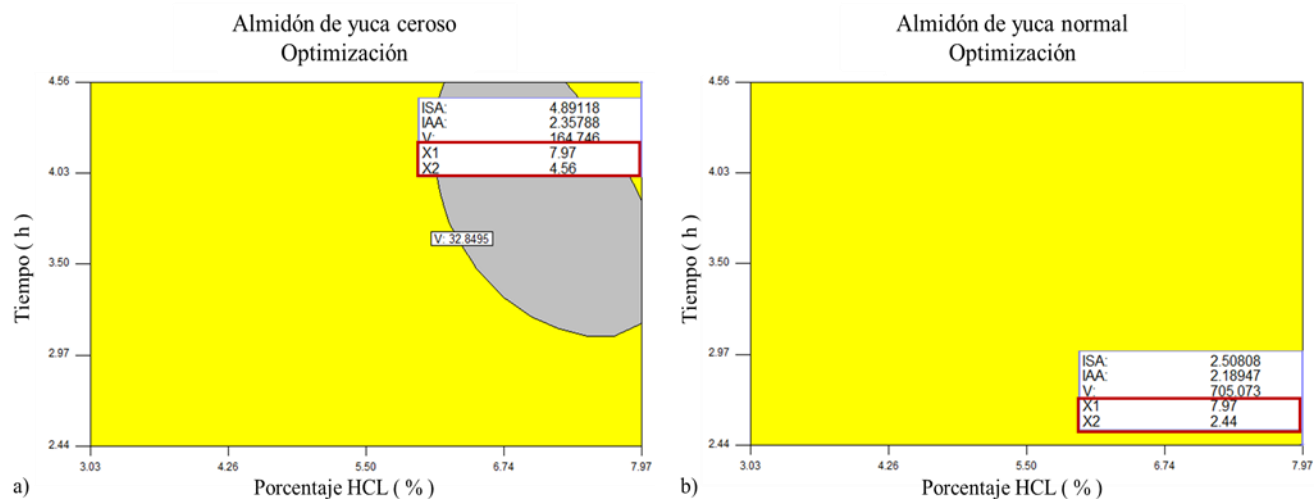


Figura 23. Determinación de la región óptima para almidón de yuca ceroso (a) y normal (b), X1: concentración de HCl (%), X2: Tiempo (h).

7.4 Modificación química del almidón. Succinatación y fosfatación

7.4.1 Grado de sustitución (GS) del almidón ceroso y normal succinatado y fosfatado

Se realizó la modificación química de los almidones mediante métodos convencionales de succinatación y fosfatación, con el fin de proporcionar al almidón un carácter hidrófobo e hidrófilo, debido a los grupos succinato y fosfato, respectivamente, el grado de sustitución obtenido se muestra en la Tabla 12, de igual forma se estableció un almidón control especial para encapsular (N-Lok) y se determinó también su grado de sustitución.

Para el almidón ceroso, se obtuvo un GS=0.019 y 0.035 para el almidón succinatado y fosfatado, respectivamente, mientras que el almidón normal presentó GS=0.016 y 0.035, respectivamente, comparados con el control, se observó que el almidón N-Lok, presentó el doble de porcentaje de grupos succinil, que los almidones de yuca ceroso y normal, sin embargo, el GS de fosfato en el almidón N-Lok fue de 0.000 ± 0.001 .

Tabla 12. Grado de sustitución (GS), del almidón de yuca ceroso y normal modificado con grupos fosfato y succinato.

Modificación química	Almidón control (N-Lok)		Almidón de yuca ceroso		Almidón de yuca normal	
	GS	%	GS	%	GS	%
Succinatación	0.048 ± 0.004	4.81	0.019 ± 0.000	1.98	0.016 ± 0.000	1.62
Fosfatación	0.000 ± 0.001	0.001	0.035 ± 0.011	0.655	0.035 ± 0.021	0.645

En la sustitución química de los gránulos de almidón, se ha sugerido que está ocurre preferentemente en las regiones amorfas de los gránulos parcialmente cristalinos, aunque la ubicación exacta de la modificación de grupos en las moléculas de almidón no ha sido clarificada Bai y col. (2014), encontraron que los grupos de sustitución en almidones succinatados con bajo GS (0.018), se encontraban cerca de los puntos de ramificación de las moléculas de almidón; sin embargo, a un GS de 0.092, los grupos modificadores se encontraron cerca de sus extremos no reductores.

Otros autores han reportado que la posible ubicación donde puede ser sustituido el almidón, es en los carbonos 2, 3 y 6, debido a que estos carbonos se encuentran más disponibles, es decir, tienen menos impedimento estérico (Gao y col., 2012; Pérez y Bertoft, 2010).

Por su parte Bhosale y Singhal (2006), realizaron la optimización del proceso de succinatación, en el almidón de maíz ceroso y de amaranto, encontrando que el GS dependía directamente de la concentración inicial de reactivo octenil-succínico, mencionando que existe un aumento lineal en el GS, con el aumento de concentración de OSA, para los almidones modificados de amaranto y de maíz ceroso, encontraron un $GS=0.022$ y 0.021 , respectivamente.

El aumento de GS con el aumento de concentración OSA, podría interpretarse en términos de una mayor disponibilidad de las moléculas de OSA, en la proximidad de la molécula de almidón. Es bien sabido que los grupos hidroxilos del almidón, son inmóviles y por lo tanto, su reacción dependerá de la disponibilidad de las moléculas de OSA en la proximidad de los mismos (Bhosale y Singhal, 2006).

Dependiendo del GS que se alcance, se pueden afectar las propiedades fisicoquímicas del almidón. Zhu (2015), reportó que el almidón succinatado con GS de hasta 0.022 , aumentó su poder de hinchamiento y viscosidad, con respecto al almidón nativo, formando geles más claros y adicionalmente, disminuyó su susceptibilidad a la enzima α -amilasa, logrando con la incorporación de los grupos OSA, un comportamiento hidrófobo.

Thirathumthavorn y Charoenrein (2006), mencionaron que la introducción de grupos hidrófobos, con bajo grado de sustitución (niveles $0.01-0.1$), imparten algunas propiedades hidrofóbicas al almidón, sin reducir su solubilidad en agua, los almidones OSA tienen viscosidades más altas en suspensión acuosa y temperaturas de gelatinización más bajas, en comparación a los almidones nativos.

Una vez realizadas las modificaciones químicas, se formularon las mezclas correspondientes (Tabla 13), para ser evaluada su capacidad como posible material encapsulante.

Tabla 13. Formulación de las mezclas de almidón modificado de yuca ceroso y normal para ser evaluadas como posible material encapsulante.

MUESTRA		Almidón succinatado (%)	Almidón fosfatado (%)
Almidón succinatado		100	0
Mezcla	1	75	25
	2	25	75
Almidón fosfatado		0	100

7.5 Caracterización del almidón de yuca ceroso y normal químicamente modificado

7.5.1 Espectroscopía de infrarrojo de almidón de yuca ceroso y normal químicamente modificado

Se obtuvieron los espectros de infrarrojo del almidón hidrolizado, succinatado y fosfatado (Figura 24), con el fin de identificar el pico correspondiente al grupo octenil-succinato y su incorporación al almidón. En los almidones, ceroso (Figura 24a) y normal, (Figura 24b), se observó la presencia de dos nuevas bandas para el almidón succinatado, entre $1750 - 1570 \text{ cm}^{-1}$, a diferencia del almidón hidrolizado y fosfatado, los cuales no presentaron estas bandas.

Los espectros FT-IR de los almidones, ceroso y normal, presentaron perfiles similares. La aparición de una banda ancha, en aproximadamente 3440 cm^{-1} , indica la presencia de grupos hidroxilo (O-H), bandas en 2931 cm^{-1} y 1650 cm^{-1} , representan la vibración por estiramiento de C-H y agua, presentes en el almidón, respectivamente. La región de la huella dactilar, se presenta entre 800 y 1200 cm^{-1} , atribuidos al estiramiento del enlace C-O. Las bandas cerca de 1081 y 1160 cm^{-1} , son características del anillo de glucosa anhidra C-O, la banda cerca de 930 cm^{-1} , es asignada a la vibración de enlaces glucosídicos α -(1-4) (Simsek y col., 2015).

En comparación con los almidones hidrolizados y fosfatados, los espectros de almidones OSA, mostraron dos bandas adicionales, alrededor de 1750 y 1570 cm^{-1} . La

banda a 1750 cm^{-1} se debe a la característica del IR de la vibración de tipo estiramiento $C=O$, lo que sugiere la formación de grupos carbonilo éster; mientras que la banda ubicada a 1570 cm^{-1} , se atribuye a la vibración de tipo tensión asimétrica de RCOO^- carboxilato. Los valores observados para estas dos bandas, en los almidones OSA esterificados, son similares a los reportados en la literatura. Estos resultados indican que algunos grupos hidroxilo en el almidón, fueron sustituidos por grupos carbonilo y carboxilo éster de OSA (Simsek y col., 2015). Las intensidades de estas dos bandas de absorción, aumentan con el GS y una relación lineal entre GS y la intensidad a 1726 cm^{-1} (Sweedman y col., 2013).

7.5.2 Difracción de Rayos X del almidón de yuca ceroso y normal químicamente modificado

El almidón puede ser clasificado por su patrón de difracción, como tipo A, B ó C. Los almidones tipo A, se asocian principalmente con almidones de cereales, tales como almidón de maíz y almidón de trigo. Los patrones de rayos X de estos tipos de almidón, presentan picos de difracción fuertes alrededor de 15° , 17° , 18° y 23° . El almidón de tipo B, por lo general, obtenido a partir de tubérculos, tales como almidón de papa y almidón de canna, presentan un pico de difracción fuerte en 17° y pequeños picos a valores de 2θ en 20° , 22° y 24° . Los almidones tipo C, son una mezcla de ambos tipos, A y B (Jiping y col., 2007).

Rolland-Sabaté y col. (2012), mencionan que los almidones tipo A, contienen cadenas de amilopectina más cortas, mientras que las ramificaciones de las cadenas de la amilopectina del almidón de tipo B, en promedio son más largas. Los almidones tipo C, contienen ramas de amilopectina con las dos cadenas, largas y cortas. Además, reportaron que el almidón ceroso de yuca, presenta un patrón de difracción tipo A y B, siendo en mayor proporción, el tipo A (85 %) y solo el 15 % de tipo B.

En la Figura 25, se muestran los difractogramas de rayos X obtenidos para el almidón de yuca nativo, hidrolizado, succinatado y fosfatado, ceroso (Figura 25a) y normal (Figura 25b), ambos almidones mostraron un patrón de difracción tipo C, el cual

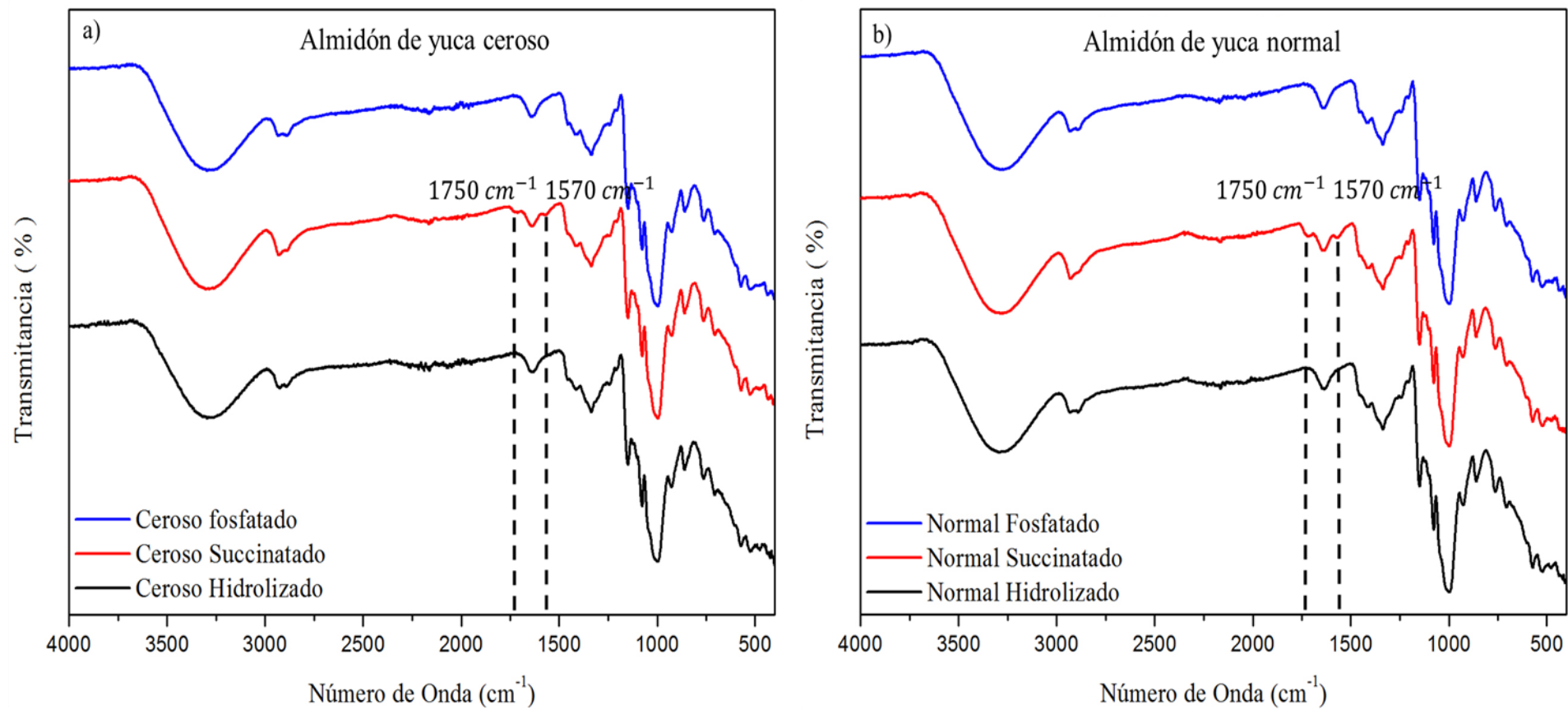


Figura 24. Espectro de infrarrojo del almidón de yuca ceroso (a) y normal (b) modificado químicamente mediante hidrólisis ácida, succinación y fosfatación.

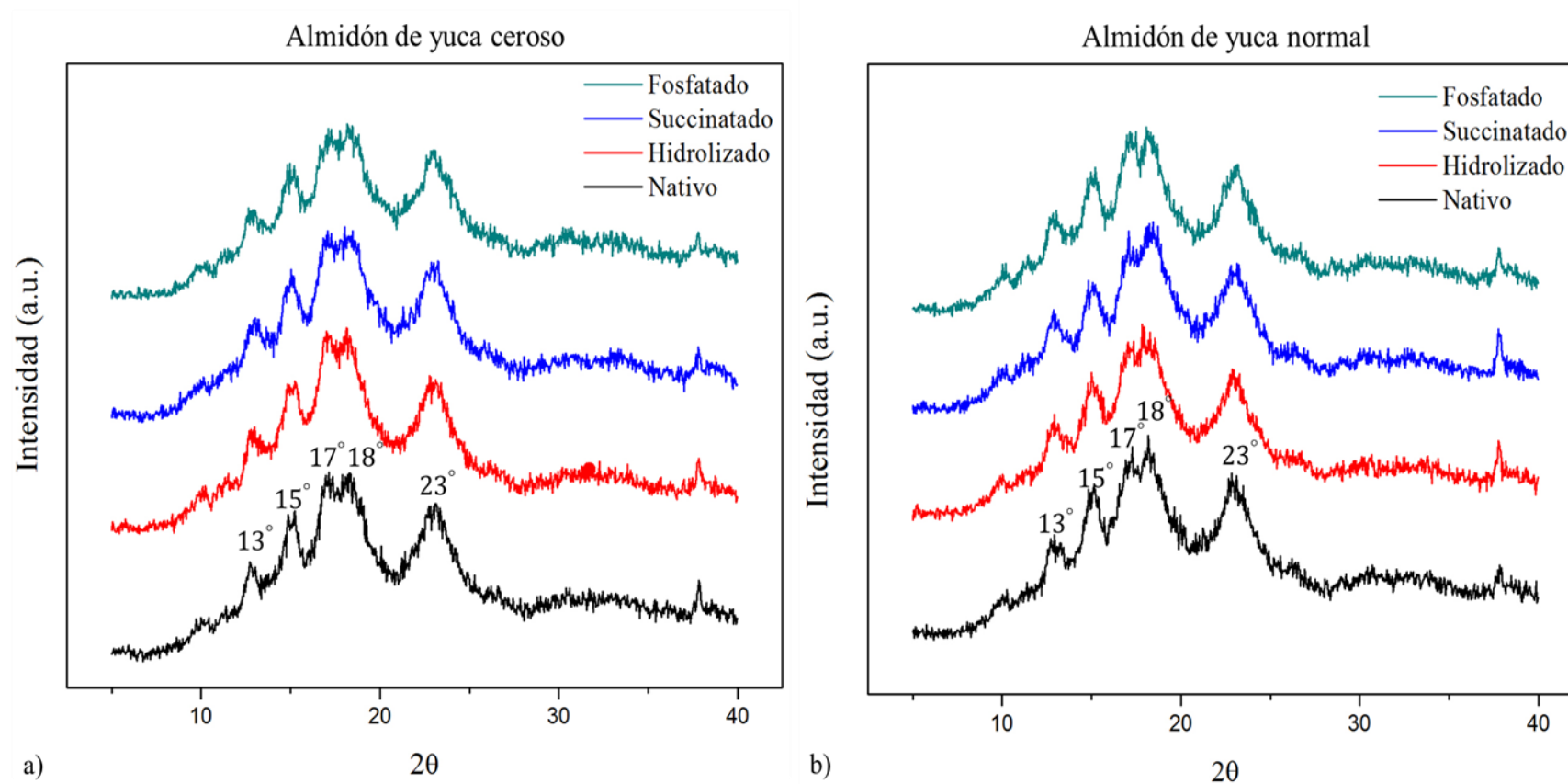


Figura 25. Difractograma de rayos X del almidón de yuca ceroso (a) y normal (b) nativo y modificado químicamente mediante hidrólisis ácida, succinación y fosfatación.

corresponde a una mezcla de los patrones tipo A y B (Zhu, 2016), de acuerdo a los difractogramas obtenidos, se pudo observar que con las modificaciones, este patrón de difracción no se vio alterado.

Para almidón normal de yuca, se ha reportó la presencia de fuertes pico en 2θ a 15.3, 17.1 y 23.5°, correspondientes a un patrón de difracción mixto (tipo C) en su mayoría tipo A (Moorthy, 2002) lo cual corresponde con lo encontrado en este estudio.

7.5.3 Propiedades térmicas (DSC) del almidón ceroso y normal, químicamente modificado

En la Tabla 14, se presentan las temperaturas características del fenómeno de gelatinización (T_o , T_p y T_e) y la entalpía de gelatinización (ΔH) de todos los almidones analizados. En el caso del almidón de yuca ceroso, no hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) entre la temperatura inicial (T_o), que presentó el almidón nativo y el hidrolizado óptimo, sin embargo, los almidones fosfatado, succinatado, y las mezclas 1 y 2, fueron significativamente diferentes, con respecto al almidón nativo e hidrolizado.

La temperatura de pico (T_p) de gelatinización, se vio afectada presentando una disminución con respecto al almidón nativo, el almidón succinatado y la mezcla 1, fueron significativamente diferentes con respecto a los otros almidones.

De igual manera, la temperatura final (T_e), mostró una disminución con respecto al almidón nativo, a excepción del almidón hidrolizado, siendo el almidón hidrolizado óptimo y el almidón fosfatado, significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Por otro lado, la energía de gelatinización (ΔH) disminuyó con respecto al nativo, siendo el almidón fosfatado y la mezcla 2 (75 % Fosfatado), significativamente diferentes ($p < 0.05$), con respecto a los otros almidones, lo que nos indica, que los grupos químicos, están modificando las propiedades térmicas del almidón ceroso de yuca, la disminución de la temperatura de gelatinización y del ΔH , con respecto a su nativo, es debido a que la incorporación de derivados químicos que desestabilizan la estructura cristalina de los gránulos (Ai y Jane, 2015).

Tabla 14. Propiedades térmicas (DSC) del almidón de yuca ceroso y normal.

	Almidón de yuca ceroso				Almidón de yuca normal			
	T _o	T _p	T _e	ΔH bs	T _o	T _p	T _e	ΔH bs
Nativo	62.38 ± 0.30 ^a	66.00 ± 0.39 ^a	71.79 ± 0.57 ^{ab}	13.07 ± 0.13 ^a	58.92 ± 0.21 ^{ab}	63.52 ± 0.27 ^a	68.30 ± 0.14 ^a	10.22 ± 1.70 ^{ab}
Hidrolizado óptimo	62.28 ± 0.4 ^a	66.04 ± 0.59 ^a	72.85 ± 0.35 ^a	11.63 ± 0.94 ^{ab}	62.32 ± 0.18 ^d	66.07 ± 0.28 ^b	71.75 ± 0.35 ^d	11.04 ± 0.42 ^{ab}
Fosfatado	58.47 ± 0.41 ^b	64.22 ± 0.01 ^{ab}	69.10 ± 0.00 ^c	1.60 ± 0.17 ^c	59.53 ± 0.07 ^b	64.05 ± 0.00 ^a	69.60 ± 0.56 ^{bc}	13.10 ± 0.17 ^b
Succinatado	59.24 ± 0.89 ^b	63.90 ± 0.81 ^b	70.90 ± 0.56 ^{bc}	11.31 ± 0.07 ^{ab}	60.58 ± 0.48 ^e	65.96 ± 0.04 ^b	72.20 ± 0.14 ^d	8.53 ± 1.20 ^a
Mezcla 1	58.18 ± 0.14 ^b	63.79 ± 0.50 ^b	70.40 ± 0.70 ^{bc}	9.16 ± 1.56 ^b	57.46 ± 0.17 ^c	62.83 ± 0.01 ^c	68.77 ± 0.18 ^{ab}	10.86 ± 0.76 ^{ab}
Mezcla 2	58.86 ± 0.19 ^b	64.81 ± 0.26 ^{ab}	70.55 ± 0.21 ^{bc}	2.62 ± 0.22 ^c	58.43 ± 0.04 ^{ac}	63.75 ± 0.01 ^a	70.25 ± 0.07 ^c	11.58 ± 0.39 ^{ab}

ΔH bs: Energía de gelatinización base seca. T_o: Temperatura inicial. T_p Temperatura pico. T_e: temperatura final. Se realizó un análisis estadístico con una prueba de tukey y comparación entre almidones. Cada medición se realizó por duplicado.

Por su lado, el almidón de yuca normal, presentó un comportamiento diferente al almidón ceroso. La T_0 mostró diferencias significativas entre todos los almidones, siendo el almidón hidrolizado óptimo, el de mayor temperatura (62.32 °C).

Para la temperatura de pico de gelatinización (T_p), los almidones nativo, fosfatado y la mezcla 2, fueron estadísticamente iguales ($p < 0.05$), mostrando diferencias significativas con respecto a los otros almidones. El almidón hidrolizado óptimo, fue el que presentó la mayor temperatura de gelatinización (66.07 °C).

En cuanto a la temperatura final (T_e), los almidones, hidrolizado óptimo y succinatado, no muestran diferencias significativas ($p < 0.05$), sin embargo estos dos tipos de almidón, fueron significativamente diferentes con respecto al almidón nativo y la mezcla 2 ($p < 0.05$).

Finalmente la energía de gelatinización (ΔH), mostró un aumento de 10.22 J/g, en el almidón nativo, hasta 13.10 J/g en el caso del almidón fosfatado, a excepción del almidón succinatado, que presentó una disminución en la energía, con un valor de 8.53 J/g, sin embargo, los únicos almidones que presentaron diferencia significativa, fueron el almidón succinatado y el fosfatado.

En este caso, el almidón normal de yuca, presentó un cambio en sus propiedades térmicas, menos drástico que el almidón ceroso, esto puede ser debido al tiempo de hidrólisis al que se expuso el almidón (ceroso: 4.56 y normal: 2.44 h), por lo que el ácido, tuvo un menor tiempo de contacto en el almidón normal, ocasionando un menor daño al gránulo y de esta forma, limitando el grado de sustitución de los grupos químicos. Singh y col. (2007), mencionan que la superficie granular específica, se encuentra en función de la superficie exterior e interior de los poros y/o canales formados durante la hidrólisis ácida, lo que proporciona un mayor acceso a los reactivos químicos.

La sustitución con grupos fosfato altera las propiedades térmicas, donde el efecto ocasionado, depende de la concentración y del tipo de reactivo empleado, las condiciones de reacción y la fuente botánica del almidón. Para almidones fosfatados, se ha observado un incremento en la temperatura de gelatinización, como sucedió en el almidón de yuca normal, este fenómeno está relacionado con la reducción de la movilidad de las cadenas

amorphas en el gránulo de almidón, resultando en la formación de puentes intermoleculares (Singh y col., 2007).

Sin embargo, otros autores reportan que el ΔH del almidón incrementa, conforme incrementa el grado de sustitución, mientras que la T_p no se ve afectada significativamente, la fosfatación con bajos GS disminuye la proporción del almidón, que puede ser gelatinizada, resultando en valores bajos de ΔH , como en el caso del almidón de yuca ceroso. En almidones con doble modificación, las temperaturas de gelatinización (T_o , T_p y T_e), se llegan a encontrar hasta 5-7 °C, por debajo de los almidones no modificados (Singh y col., 2007).

7.5.4 Índice de solubilidad en agua (ISA), índice de absorción de agua (IAA) y poder de hinchamiento (PH) del almidón de yuca ceroso y normal químicamente modificado

En la Figura 26 se muestra el índice de solubilidad en agua que presentó el almidón de yuca ceroso (a) y normal (b), nativo, hidrolizado óptimo, succinatado, fosfatado y las mezclas 1 y 2. Se observó que a 70 °C (temperatura a la cual los gránulos de almidón han gelatinizado), el almidón ceroso (Figura 26a), en su forma nativa, alcanzó 0.46 % de solubilidad en agua, siendo el almidón fosfatado el que presentó el mayor porcentaje (45.17 %), seguido de la mezcla 2 (42.02 %). A los 80 °C, se observó un comportamiento similar.

Sin embargo, la gelatinización de los gránulos de almidón, continúa hasta el equilibrio y para los 90 °C, el comportamiento del almidón fosfatado cambió, ya que disminuyó el porcentaje de solubilidad en agua, con respecto a los otros almidones, siendo ahora la mezcla 1, la que presentó mayor porcentaje (85.71 %), seguida del almidón succinatado (84.21 %).

Para el almidón normal (Figura 26b), se obtuvo un comportamiento muy distinto al del almidón ceroso, ya que en este caso, durante toda la rampa de temperatura, el almidón succinatado y la mezcla 1, sobresalieron de los demás almidones, alcanzando valores a 90 °C de 48.23 y 58.52 %, respectivamente.

La solubilidad del almidón se encuentra relacionada, en su mayoría, con la cantidad de amilosa que migra al exterior, por lo tanto, se espera que el almidón normal presente mayores valores de ISA, ya que contiene mayor porcentaje de amilosa, a 90 °C, este comportamiento se vió reflejado, ya que el almidón normal presentó 3.34 % de ISA y el almidón ceroso de 2.88 %. Sin embargo, tras las modificaciones químicas de los almidones, ceroso y normal, este comportamiento se invirtió, siendo ahora el almidón ceroso el que presentó mayores porcentajes de solubilidad, esto puede ser debido al tiempo de hidrólisis, como ya se mencionó anteriormente, a mayor tiempo de hidrólisis ácida, mayor será el ataque que perciban los gránulos del almidón en la zona amorfa, compuesta principalmente por amilosa, dejando estos espacios vacíos para ser ocupados, posteriormente por los grupos químicos correspondientes.

En cuanto al índice de absorción de agua (IAA) en la Figura 27, se muestra el comportamiento que presentaron los almidones, ceroso y normal, en su forma nativa, hidrolizado óptimo, succinatado, fosfatado, la mezcla 1 y la mezcla 2.

Para el almidón ceroso, el mayor porcentaje de IAA, lo presentó el almidón nativo a 70 °C, con un 7.05 %, sin embargo a 80 y 90 °C, disminuyó el porcentaje de absorción de agua, hasta 3.08 %. Un comportamiento similar presentaron el almidón hidrolizado y el almidón fosfatado, llegando a su máximo IAA a 80 °C y posteriormente disminuyó en 90 °C. Por el contrario, el almidón succinatado, las mezclas 1 y 2, aumentaron el IAA conforme aumentó la temperatura.

Comparando el almidón nativo con su hidrolizado, se observó que durante toda la rampa de temperatura, el almidón hidrolizado, presentó un menor IAA, siendo significativamente diferentes entre sí. En estudios anteriores, se ha reportado que tras la hidrólisis ácida, el IAA o poder de hinchamiento, disminuye con respecto al almidón nativo. Wang y Copeland (2012), realizaron el estudio del efecto de la hidrólisis ácida sobre el poder de hinchamiento de los gránulos de almidón de guisante, encontrando que el almidón de guisante nativo, presentó 13.0 g agua/g almidón y después del primer día de hidrólisis, este valor disminuyó hasta 1.8 g agua/g almidón.

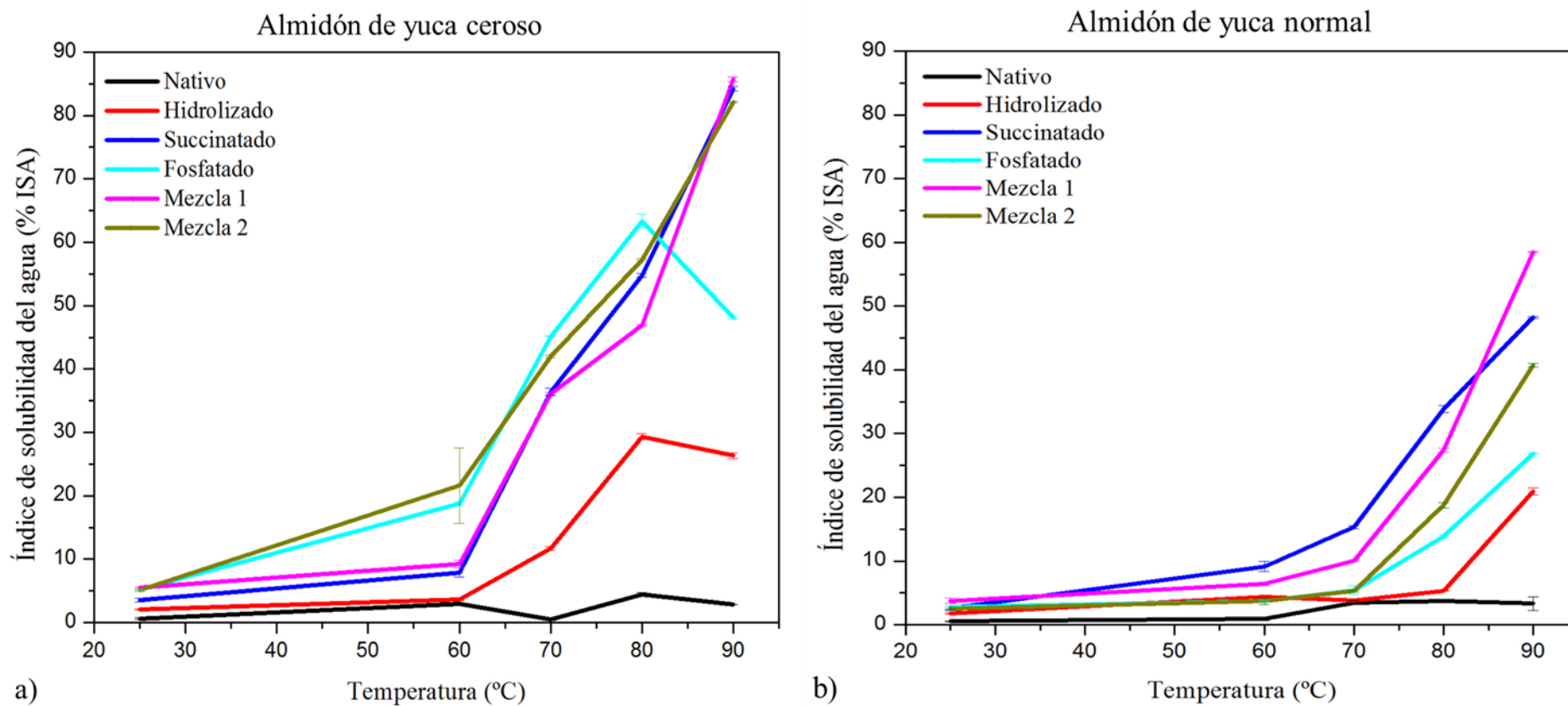


Figura 26. Índice de solubilidad en agua del almidón de yuca ceroso (a) y normal (b) nativo, hidrolizado óptimo, succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2.

Se esperaría, que debido a los grupos fosfato presentes en el almidón fosfatado, este fuera el que presentara mayor % IAA, de acuerdo a lo reportado por Singh y col. (2003), quienes mencionaron que el alto poder de hinchamiento del almidón de papa, es probablemente debido, al alto contenido de grupos fosfato presentes en la amilopectina, ya que la repulsión entre los grupos fosfato, con las cadenas adyacentes, incrementan la hidratación de los gránulos de almidón. Sin embargo, se observó que a 90 °C, el almidón que presentó mayor porcentaje de absorción de agua, fue el almidón succinatado, con 6.65 %, seguido de la mezcla 1 (75 % almidón succinatado), con 6.40 %, se cree que es debido, posiblemente a la unión de los grupos del octenil-succinato con las cadenas adyacentes del almidón, formando de esta manera, mayores espacios al interior de las cadenas de amilopectina, donde puede ser atrapada el agua.

Para el almidón de yuca normal, nuevamente se observó que el almidón nativo fue el que presentó el mayor IAA, alcanzando su máximo a 90 °C, con 9.92 %, comportamiento similar, presentó el almidón hidrolizado, ya que durante toda la rampa de temperatura, este fue el de menor valor (5.36 % a 90°C). Este comportamiento se puede deber a una mayor despolimerización del almidón, provocado por una menor cantidad de polímero que pueda retener agua.

Con respecto a los almidones, químicamente modificados, nuevamente el almidón succinatado y la mezcla 1, presentaron mayor porcentaje de absorción de agua que el almidón fosfatado y la mezcla 2, siendo significativamente diferentes entre sí.

En general, el almidón normal de yuca, fue el que presentó una mayor absorción de agua con respecto al almidón ceroso de yuca, esto es debido a que la presencia de grupos químicos en la estructura del almidón, resulta en la repulsión entre moléculas del mismo, lo que facilita la entrada del agua en las regiones amorfas del gránulo y consecuentemente, incrementa la capacidad de absorción de agua en su estructura.

Singh y col. (2007), reportan que el grado de sustitución, después de una modificación química, afecta la intensidad de cambios en el poder de hinchamiento y la solubilidad de los almidones. Las diferencias en el tamaño granular, la distribución, composición fisicoquímica y rigidez del gránulo, son algunos factores que influyen en la alteración del poder de hinchamiento.

Adicionalmente a esto, se encuentra la estructura que presentan estos tipos de almidón, que de acuerdo a los difractogramas de rayos X, es de tipo C (mezcla del almidón tipo A con tipo B). Rolland-Sabaté y col. (2012), reportaron que este genotipo de almidón de yuca, corresponde a una estructura 85 % tipo A y 15 % tipo B.

Los almidones con estructura tipo A, son capaces de absorber cuatro moléculas de agua, mientras que una estructura tipo B, absorbe hasta 36 moléculas de agua, debido a que presenta una estructura hexagonal conformada por seis dobles hélices (BeMiller y Whistler, 2009. Tester, Karkalas y Qi, 2004).

7.5.5 Caracterización morfológica de los gránulos del almidón ceroso y normal químicamente modificado

En la Figura 28, se muestran las micrografías obtenidas de los gránulos de almidones modificados mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), a 1500X ampliaciones. Los almidones ceroso hidrolizado, succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2 (figura 28 a-e, respectivamente), muestran un daño granular notable. Para el almidón hidrolizado, se pudo apreciar la formación de cavidades o poros en la superficie del gránulo, causados de manera aleatoria, posiblemente por el ácido, durante la hidrólisis, los gránulos mantuvieron una población bimodal, sin embargo, el tamaño de los gránulos de almidón disminuyó de 10 y 20 μm a tamaños de diámetro promedio de 8 y 14 μm , debido a la hidrólisis ácida.

Los gránulos de almidón de yuca cerosa, expuestos al octenil-succinato, no mostraron cambios superficiales diferentes a los causados por la hidrólisis, sin embargo, en relación al tamaño de los gránulos, se presentó una población unimodal con diámetros promedio de 17 μm , el tamaño aumentó, debido a la unión de la molécula del octenil succinato a la estructura granular.

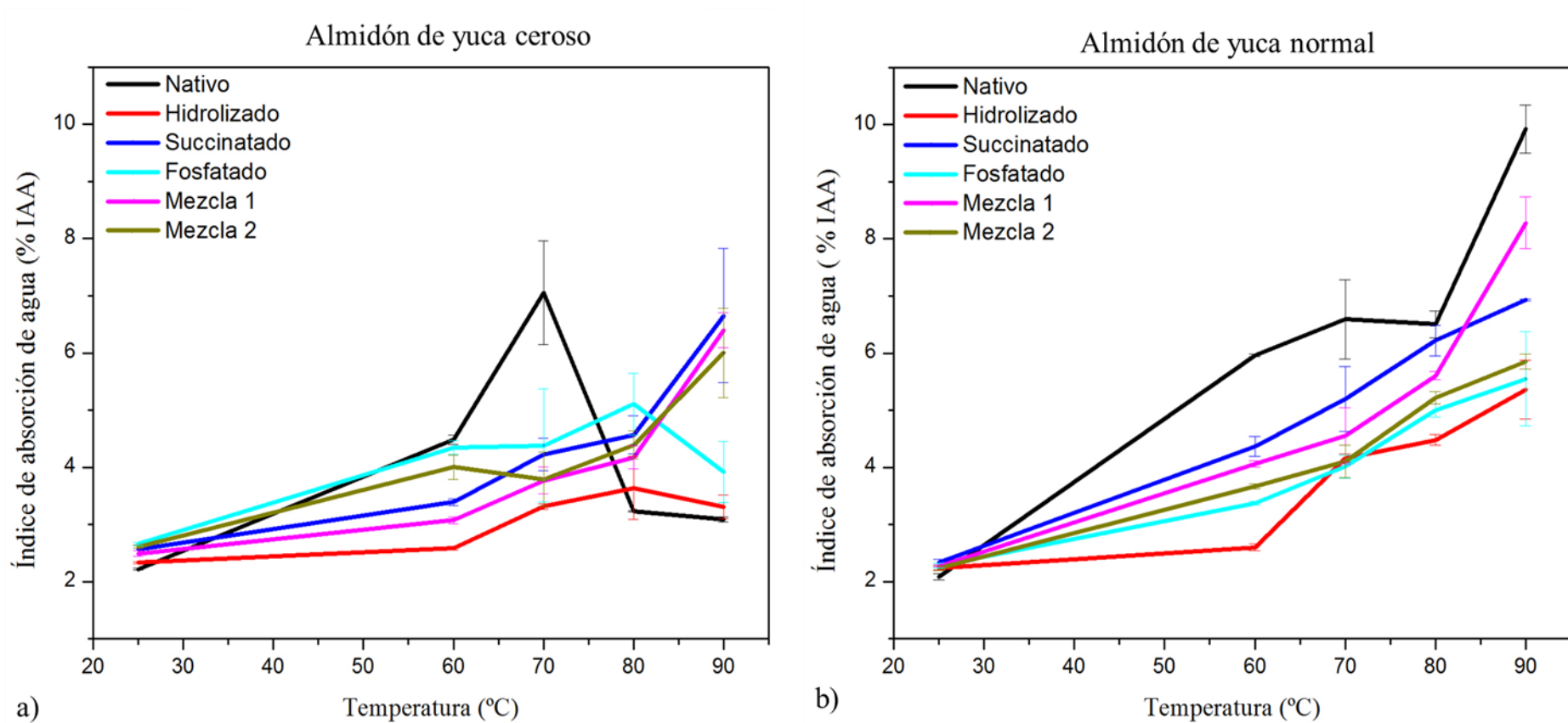


Figura 27. Índice de absorción de agua del almidón de yuca ceroso (a) y normal (b), nativo, hidrolizado óptimo, succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2.

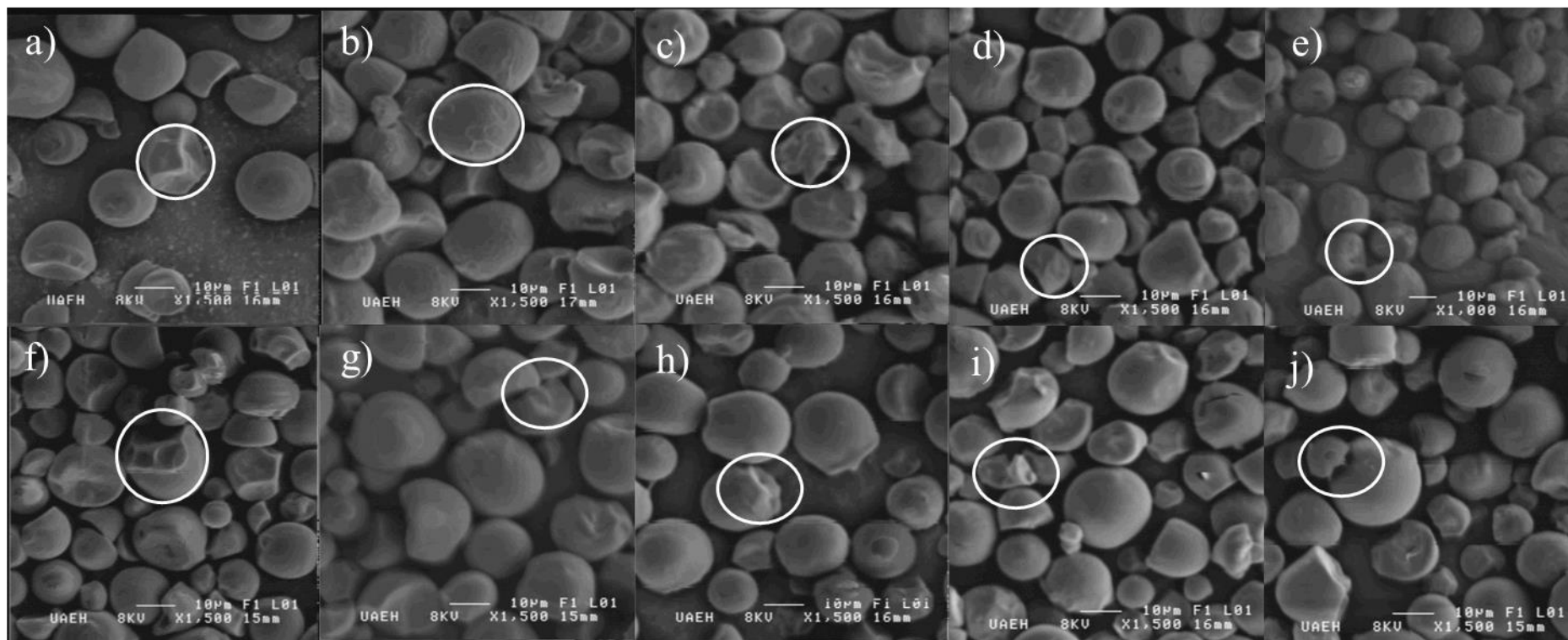


Figura 28. Micrografías del almidón de yuca ceroso (a - e) y normal (f – j) hidrolizado óptimo, succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2 respectivamente.

Mientras que el almidón de yuca cerosa fosfatado, presentó visiblemente un mayor daño superficial, lo cual se puede atribuir al proceso de fosfatación, ya que durante este proceso, el almidón fue sometido a una rampa de temperatura (40-45 °C /24 h, posteriormente 65 °C/90 min y finalmente 155 °C/20 min), en la que los gránulos de almidón superaron la temperatura de gelatinización; en cuanto al tamaño, este almidón mantuvo nuevamente la población bimodal con diámetros promedio de 8 y 18 μm .

Las mezclas obtenidas a partir del almidón de yuca cerosa, químicamente modificados, mostraron una combinación de los dos tipos de almidón (succinatado y fosfatado), ambas mezclas presentaron una población bimodal, la mezcla 1 que está conformada en su mayoría por almidón succinatado, presentó diámetros promedio de 6 y 16 μm . Mientras que la mezcla 2, conformada en su mayoría por almidón fosfatado, presentó un diámetro promedio de 10 y 20 μm .

Para el caso del almidón normal, se observa en la Figura 28f, que en los gránulos hidrolizados, se apreció la formación de cavidades, correspondientes a las zonas donde atacó el ácido durante la hidrólisis, en cuanto al diámetro, este disminuyó de 10 y 20 μm a 8 y 15 μm , manteniendo una población bimodal.

En las Figuras 28g y 28h, se presentan los gránulos de almidón succinatado y fosfatado, en donde no se pudo apreciar un daño significativo, sin embargo, en las mezclas 1 y 2 (Figuras 28i y 28j), se observó un daño más notorio de los gránulos, pues inclusive existe la presencia de pequeños trozos de gránulos, lo cual se atribuye a que durante las técnicas de hidrólisis ácida, succinatación y fosfatación, el ataque de los agentes químicos no es homogéneo, por lo tanto, solo algunas zonas de la estructura granular se ven afectadas, aunado a esto, influye el tiempo de reacción, ya que a mayor tiempo, el daño puede ser más severo.

Los almidones químicamente modificados, presentaron una población granular de tipo bimodal, con diámetros promedio de 6 y 18 μm , 8 y 18 μm , 9 y 16 μm y 7 y 17 μm , para el almidón succinatado, fosfatado, la mezcla 1 y la mezcla 2, respectivamente.

Bhosale y Singhal (2006), realizaron la optimización de la síntesis de almidón de amaranto y maíz ceroso, derivados del anhídrido octenil succínico, estos autores evaluaron

el efecto de la concentración OSA/almidón, el pH, la temperatura y el tiempo de reacción, finalmente evaluaron el daño granular y encontraron que los derivados OSA, preparados al 3 %, no mostraron cambios morfológicos, indicando que las condiciones de la reacción con anhídrido octenil succínico, no causa cambios detectables en las características estructurales.

7.6 Obtención de encapsulados de *Lactobacillus pentosus*

7.6.1 Sobreviviencia de *Lactobacillus pentosus* después del secado por aspersión.

En la Tabla 15, se muestra el porcentaje de inhibición de *Lactobacillus pentosus*, obtenido en los encapsulados. Se realizó el conteo de UFC/mL en la solución de almidón-bacteria, antes de someterla al secado por aspersión, así como de los encapsulados obtenidos.

Para las cápsulas con almidón de yuca ceroso modificado, como material de pared, el mayor porcentaje de inmovilización, se obtuvo con almidón fosfatado, alcanzando un 99.22 % de inmovilización, seguido de la mezcla 2 con 94.29 %, mezcla compuesta con 75% de almidón fosfatado y 25 % succinatado.

En cuanto a las cápsulas, obtenidas con el almidón normal modificado como material de pared, el mayor porcentaje de inmovilización se obtuvo con la mezcla 1 (75 % almidón succinatado y 25 % fosfatado), se obtuvo un 93.72 % de inmovilización, seguido de 89.18 % para la mezcla 2.

Algunos tipos de almidón, presentaron bajos porcentajes de inmovilización, hasta 64.70 %, para el caso del almidón de yuca ceroso succinatado, posiblemente debido a que la modificación química, que recibieron los almidones no fue severa, iniciando por la hidrólisis ácida, ya que el tiempo de hidrólisis, no permitió generar un daño más severo a la estructura granular, por lo tanto, los grupos succinato y/o fosfato, no pudieron unirse a la estructura del almidón en mayor porcentaje, además el tamaño promedio granular, no se logró disminuir significativamente, por lo tanto, durante el secado por aspersión, fue más difícil formar conglomerados de almidón para recubrir y capturar las BAL (bacterias ácido lácticas).

Sin embargo, se puede considerar que las cápsulas obtenidas con almidón de yuca ceroso fosfatado, con la mezcla 2 de este mismo almidón y la mezcla 1 del almidón de yuca normal, son aptos para encapsular BAL.

Tabla 15. Porcentaje de inmovilización de *Lactobacillus pentosus* con diferentes materiales pared.

		Antes de secar (log UFC/mL)	Microcápsulas (log UFC/mL)	Inmovilización (%)
Almidón ceroso	Succinatado	8.99 ± 0.04 ^a	5.82 ± 0.24 ^a	64.70
	Fosfatado	9.11 ± 0.04 ^{ab}	9.04 ± 0.04 ^b	99.22
	Mezcla 1	9.16 ± 0.01 ^b	6.43 ± 0.06 ^c	70.21
	Mezcla 2	9.03 ± 0.06 ^a	8.51 ± 0.07 ^d	94.29
Almidón normal	Succinatado	8.75 ± 0.03 ^a	5.72 ± 0.12 ^a	65.30
	Fosfatado	9.71 ± 0.11 ^b	8.51 ± 0.06 ^b	87.62
	Mezcla 1	9.13 ± 0.04 ^c	8.55 ± 0.04 ^b	93.72
	Mezcla 2	9.55 ± 0.04 ^b	8.52 ± 0.19 ^b	89.18

7.6.2 Caracterización morfológica de los encapsulados

En las Figuras 29 y 30, se muestran los cambios que sufrieron los almidones de yuca, normal y ceroso, durante cada etapa de las modificaciones químicas, hasta la obtención de los encapsulados. Para el almidón ceroso (Figura 29), se puede observar el inicio de la formación de cápsulas, sin embargo, en algunos casos, se puede apreciar la presencia de bacilos, correspondientes a *Lactobacillus pentosus* en la superficie de las cápsulas, como lo es en los encapsulados donde el material de pared fue el almidón fosfatado y la mezcla 1. El tamaño de las cápsulas obtenidas con almidón de yuca ceroso, químicamente modificado, varió muy poco entre uno y otro tipo de almidón. Con el

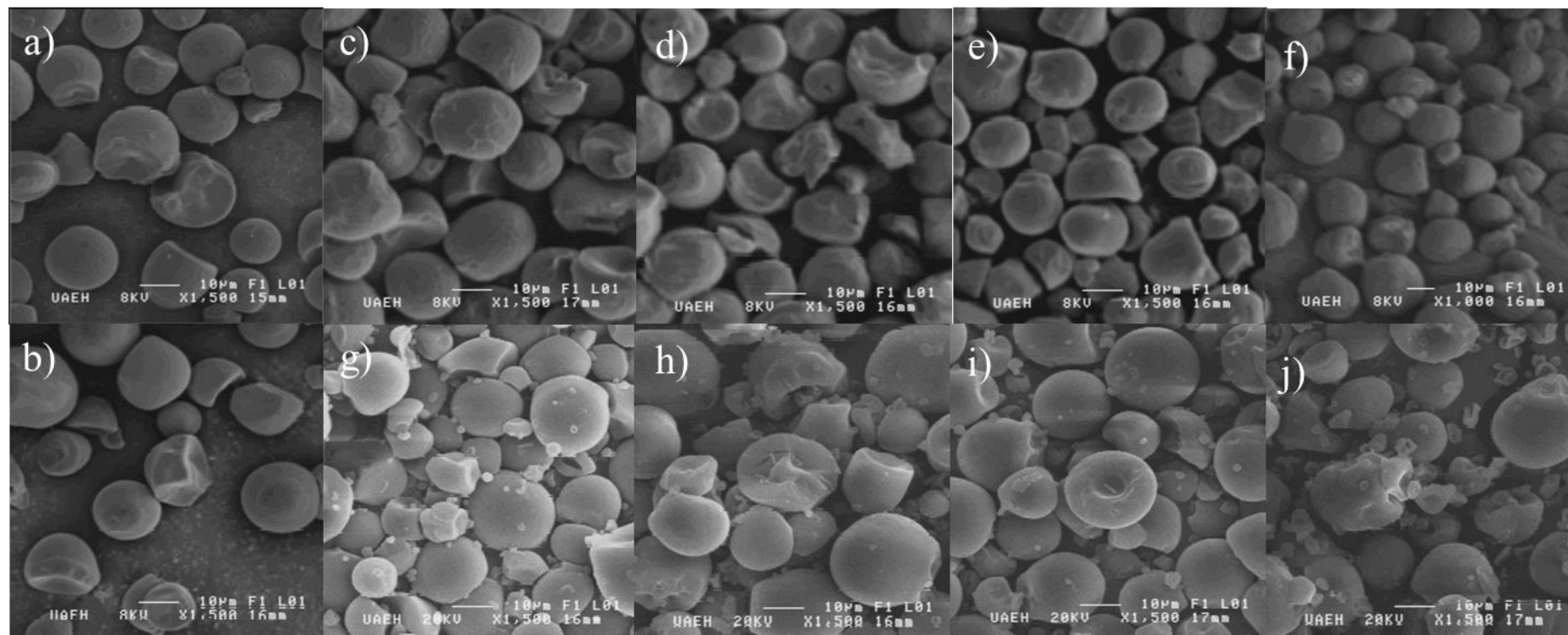


Figura 29. Micrografías de las cápsulas de *Lactobacillus pentosus* utilizando almidón de yuca ceroso como material de pared. a) Almidón de yuca ceroso nativo, b) Almidón hidrolizado óptimo, c-f) Almidón químicamente modificado (succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2 respectivamente), g-j) Cápsulas obtenidas a partir del almidón químicamente modificado (succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2 respectivamente).

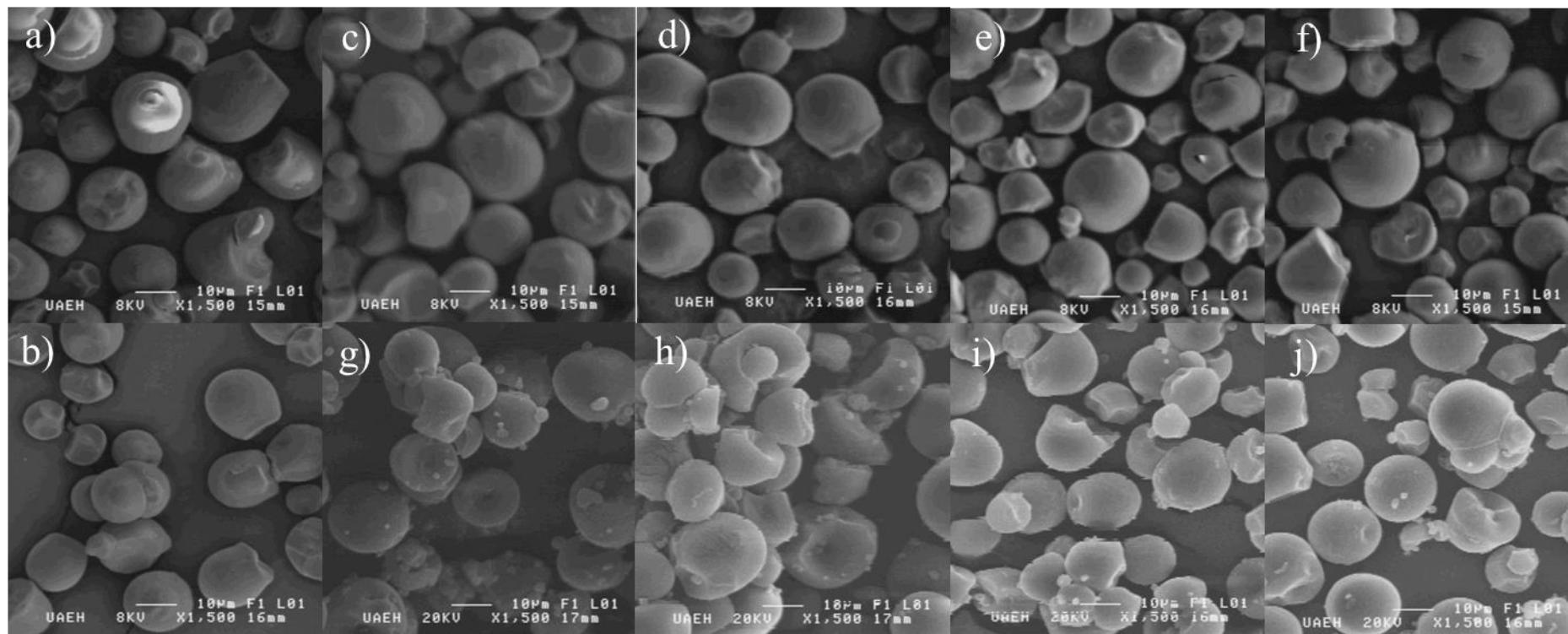


Figura 30. Micrografías de las cápsulas de *Lactobacillus pentosus* utilizando almidón de yuca normal como material de pared. a) Almidón de yuca normal nativo, b) Almidón hidrolizado óptimo, c-f) Almidón químicamente modificado (succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2 respectivamente), g-j) Cápsulas obtenidas a partir del almidón químicamente modificado (succinatado, fosfatado, mezcla 1 y mezcla 2 respectivamente).

almidón succinatado, las cápsulas presentaron un tamaño promedio de 20 μm , con almidón fosfatado y la mezcla 1 fue de 21 μm , mientras que con la mezcla 2, el tamaño promedio de las cápsulas fue de 22 μm .

En cuanto al almidón de yuca normal (Figura 30), se pudo observar la formación de cápsulas más uniformes, con morfología esférica-ovalada. De acuerdo a Lozano (2009), la morfología de las cápsulas, obtenidas por secado por aspersión, puede ser de manera esférica o irregular, conteniendo al material activo de diferentes formas: como reservorio envuelto por el material de pared o altamente disperso en la matriz polimérica, tanto como esfera llena ó en la periferia.

Las cápsulas obtenidas con el almidón de yuca normal, fueron más pequeñas que las obtenidas con el almidón de yuca ceroso. El tamaño fue de 21, 20, 16 y 19 μm para las cápsulas obtenidas con almidón succinatado, fosfatado, la mezcla 1 y la mezcla 2, respectivamente.

8 CONCLUSIONES

Los almidones de yuca con los que se trabajó, se consideraron como puros, debido al contenido de proteína presente ($< 0.6\%$), el contenido de amilosa corroboró la presencia de un almidón ceroso, encontrando que el almidón ceroso de yuca, presentó un $1.69 \pm 0.34\%$ de amilosa, mientras que el almidón normal $18.10 \pm 0.40\%$.

Los almidones hidrolizados, mostraron una interrupción en su estructura, debido al ataque ocasionado por el ácido, por lo que cambiaron sus propiedades fisicoquímicas y funcionales, particularmente se observó una disminución en la viscosidad y mayor índice de absorción de agua. Las condiciones óptimas para la hidrólisis ácida del almidón de yuca cerosa fue una concentración de ácido de 7.97% y un tiempo de 4.56 h, mientras que para el almidón normal se encontró una concentración de ácido de 7.97% y un tiempo de 2.44 h.

Los almidones de yuca, previamente hidrolizados, se modificaron con grupos succinato y fosfato, presentando un grado de sustitución (GS) de 0.019 y 0.035 para el almidón ceroso y un GS de 0.016 y 0.035 para el almidón normal, respectivamente, cumpliendo con lo establecido por la FDA, para el uso de almidones modificados en alimentos (GS= 0.02 y 0.04). Se obtuvo un mayor GS en el almidón ceroso, debido a que durante la hidrólisis, este se expuso más tiempo en contacto con el ácido, por lo que el daño ocasionado a la estructura fue mayor, permitiendo que los grupos succinato entraran más fácilmente al almidón.

Los almidones de yuca ceroso y normal químicamente modificados presentaron cambios en sus propiedades fisicoquímicas y funcionales, disminuyendo la temperatura y energía de gelatinización, se aumentó el % ISA, sin embargo, se mantuvo el patrón de difracción de rayos X.

Se afectó la morfología granular de ambos almidones, al someterlos a las diferentes modificaciones, del almidón nativo al hidrolizado, se observó la formación de ligeras cavidades en la superficie del gránulo, del hidrolizado al succinatado, nuevamente se observaron estas cavidades, pero ahora más profundas y finalmente del almidón hidrolizado

al fosfatado, se aprecian los gránulos con un mayor ataque, debido a las rampas de calentamiento a las que se sometió el almidón, durante el proceso de fosfatación.

Se evaluó la capacidad como material encapsulante de los almidones con *Lactobacillus pentosus*, siendo el almidón de yuca ceroso fosfatado, el que presentó mejor porcentaje de inhibición (99.22 %) y la mezcla 1 del almidón de yuca normal (93.72 %), por lo tanto, se propone que los almidones químicamente modificados, representan una excelente alternativa para emplearse como agentes inmovilizadores de este microorganismo.

9 BIBLIOGRAFÍA

AACC (1999). Approved Methods of Analysis, 11 th ed. Method 76-21.01. General Pasting Method for Wheat or Rye Flour or starch Using the Rapid Visco Analyser. Approved November 3, 1999. St. Paul, MN, U.S.A.: AACC International.

AOAC (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists Volumen 1. Arlington, Virginia 22201 USA.

Aguilar Chávez, C. (2007). "Optimización del proceso de modificación del almidón de maíz ceroso por extrusión y el uso de mezclas de almidones modificados con mucílago de nopal para la encapsulación de aceite esencial de naranja empleando el secado por aspersión". Pachuca de Soto, Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Lic. Química en Alimentos.

Ai, Y. y Jane, J. L. (2015). "Gelatinization and rheological properties of starch." *Starch - Stärke* **67**, 213-224.

Alvis, A., Vélez, C. A., Villada, H. S., y Rada-Mendoza, M. (2008). "Análisis físico-químico y morfológico de almidones de ñame, yuca y papa y determinación de la viscosidad de las pastas". *Información tecnológica* **19**, 19-28.

Aristizábal, J., Sánchez, T., y Mejía-Lorío, D. J. (2007). "Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca". Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

Bai, Y., Kaufman, R. C., Wilson, J. D., y Shi, Y. C. (2014). "Position of modifying groups on starch chains of octenylsuccinic anhydride-modified waxy maize starch". *Food chemistry*, **153**, 193-199.

BeMiller, J. N., y Whistler, R. L. (Eds.). (2009). "Starch: chemistry and technology". Academic Press.

Bhandari, P. N., Singhal, R. S., y Kale, D. D. (2002). "Effect of succinylation on the rheological profile of starch pastes". *Carbohydrate Polymers* **474**, 365-371.

Bhosale, R., y Singhal, R. (2006). "Process optimization for the synthesis of octenyl succinyl derivative of waxy corn and amaranth starches". *Carbohydrate Polymers* **66**, 521-527.

- Castro Islas, Y. (2014). "Evaluación de la Protección de Diferentes Matrices de Almidón Modificado como Materiales Encapsulantes Durante la Extrusión Termoplástica de Compuestos de Sabor Encapsulados". Centro de Investigación en Ciencia aplicada y Tecnología avanzada. Querétaro, Qro., Instituto Politécnico Nacional. Maestría en Tecnología Avanzadas.
- Ceballos, H., Sánchez, T., Morante, N., Fregene, M., Dufour, D., Smith, A. M., ... 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.
- Copeland, L., Blazek, J., Salman, H., y Tang, M. C. (2009). "Form and functionality of starch". *Food Hydrocolloids* **23**, 1527-1534.
- Cortés, R. N. F., Martínez, M. G., Guzmán, I. V., Llano, S. L. A., Grosso, C. R. F., y Bustos, F. M. (2014). "Evaluation of modified amaranth starch as shell material for encapsulation of probiotics". *Cereal Chemistry* **91**, 300-308.
- FAO. (2015). "Perspectivas Alimentarias. Resúmenes de Mercado". Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Gao, J., Vasanthan, T., Hoover, R., y Li, J. (2012). "Structural modification of waxy, regular, and high-amylose maize and hullless barley starches on partial acid hydrolysis and their impact on physicochemical properties and chemical modification". *Starch-Stärke* **64**, 313-325.
- García-Ceja, A., y López Malo, A. (2012). "Biopolímeros utilizados en la encapsulación". *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos* **6**, 84-97.
- García Rodríguez, A. P. (2014). "Obtención y caracterización de almidones modificados y su aplicación como agentes encapsulantes del bioinsecticida *bacillus thuringiensis*". Facultad de Química. Santiago de Querétaro, Querétaro, Universidad Autónoma de Querétaro (Doctoral dissertation).
- Helrich, K. C. (1990). Official methods of Analysis of the AOAC. Volume 2 (No. Ed. 15). Association of Official Analytical Chemists Inc.
- Hoover, R. (2000). "Acid-treated starches". *Food Reviews International* **16**, 369-392.
- Hoover, R. (2001). "Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review". *Carbohydrate polymers* **45**, 253-267.

- Hoover, R., Hughes, T., Chung, H. J., y Liu, Q. (2010). "Composition, molecular structure, properties, and modification of pulse starches: A review". *Food research international* **43**, 399-413.
- Hurtado, J. J., Ortiz, R., Rodríguez, G., y Dufour, D. L. (1997). "Procesamiento de la arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*): Estudio de la factibilidad técnica y económica para la producción de almidón y harina y de sus propiedades fisicoquímicas".
- Jiping, P., Shujun, W., Jinglin, Y., Hongyan, L., Jiugao, Y., y Wenyan, G. (2007). "Comparative studies on morphological and crystalline properties of B-type and C-type starches by acid hydrolysis". *Food chemistry* **105**, 989-995.
- López Hernández, O. D. (2010). "Microencapsulación de sustancias oleosas mediante secado por aspersión". *Revista Cubana de Farmacia*, **44**, 381-389.
- Lozano Berna, M. (2009). "Obtención de microencapsulados funcionales de zumo de "Opuntia stricta" mediante secado por atomización". Universidad Politécnica de Cartagena. Escuela técnica superior de Ingeniería Industrial. Especialidad en Química Industrial.
- Li, J. Y., y Yeh, A. I. (2001). "Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches". *Journal of Food Engineering* **50**, 141-148.
- Lindeboom, N., Chang, P. R., y Tyler, R. T. (2004). "Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review". *Starch-Stärke* **56**, 89-99.
- Martín, M. J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M. A., y Morales, M. E. (2015). "Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects". *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **27**, 15-25.
- Miranda, A. G., Soto, J. L. M., y Ruiz, I. G. (2008). "Parcial caracterización de nuevos almidones obtenidos del tubérculo de camote del cerro (*Dioscorea* spp)". *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* **9**, 81-88.
- Moorthy, S. N. (2002). "Physicochemical and functional properties of tropical tuber starches: a review". *Starch-Stärke* **54**, 559-592.
- Muñoz, L. A., Pedreschi, F., Leiva, A., y Aguilera, J. M. (2015). "Loss of birefringence and swelling behavior in native starch granules: Microstructural and thermal properties". *Journal of Food Engineering*, **152**, 65-71.

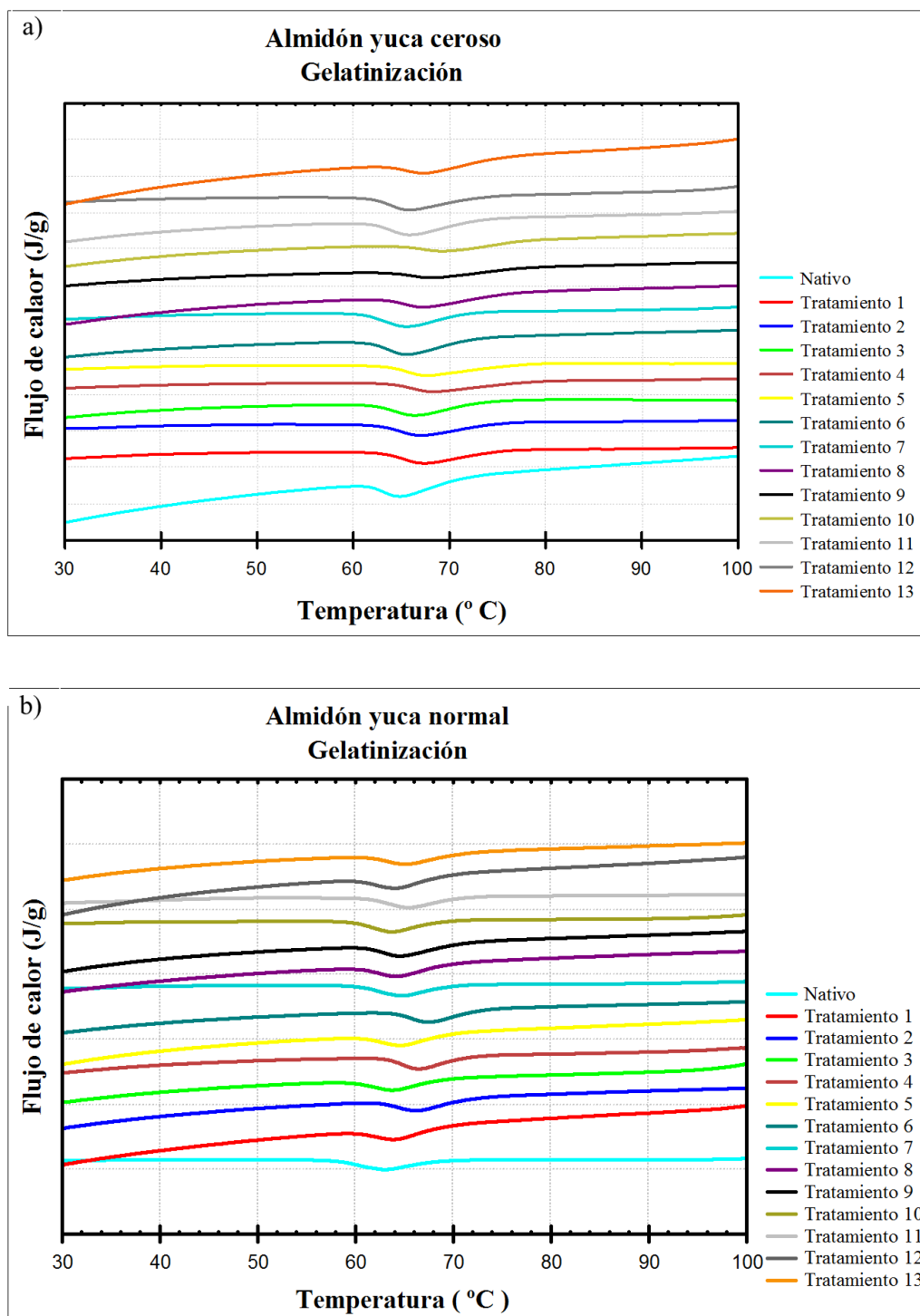
- Novelo-Cen, L., y Betancur-Ancona, D. (2005). "Chemical and functional properties of Phaseolus lunatus and Manihot esculenta starch blends". *Starch-Stärke* **57**, 431-441.
- Olayinka, F. S., Olayinka, O. O., Olu-Owolabi, B. I., y Adebowale, K. O. (2015). "Effect of chemical modifications on thermal, rheological and morphological properties of yellow sorghum starch". *Journal of food science and technology* **52**, 8364-8370.
- Paschall, E. F. (1964). "Phosphation with inorganic phosphate salts". *Methods in carbohydrate chemistry* **4**, 294-296.
- 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.
- Rajam, R., y Anandharamakrishnan, C. (2015). "Microencapsulation of Lactobacillus plantarum (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying". *LWT-Food Science and Technology* **60**, 773-780.
- Robles Gutiérrez, C. G. (2014). "Caracterización del almidón de yuca fosfatado por medio de extrusión termoplástica para su uso en la encapsulación de D-Limoneno". Facultad de Química. Querétaro, Universidad Autónoma de Querétaro. Maestría en Ciencias (Doctoral dissertation).
- Rolland-Sabaté, A., Sánchez, T., Buléon, A., Colonna, P., Jaillais, B., Ceballos, H., y Dufour, D. (2012). "Structural characterization of novel cassava starches with low and high-amylose contents in comparison with other commercial sources". *Food Hydrocolloids* **27**, 161-174.
- Sánchez, T., y Aristizábal, J. (2007). "Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca". *Boletín de servicios agrícolas de la FAO*, **163**, 134.
- Sánchez, T., Dufour, D., Moreno, I. X., y Ceballos, H. (2010). "Comparison of pasting and gel stabilities of waxy and normal starches from potato, maize, and rice with those of a novel waxy cassava starch under thermal, chemical, and mechanical stress". *Journal of agricultural and food chemistry* **58**, 5093-5099.
- Sathe, S. K., y Salunkhe, D. K. (1981). "Functional properties of the great northern bean (Phaseolus vulgaris L.) proteins: emulsion, foaming, viscosity, and gelation properties". *Journal of Food Science*, **46**, 71-81.

- Simsek, S., Ovando-Martinez, M., Marefati, A., Sjö, M., y Rayner, M. (2015). "Chemical composition, digestibility and emulsification properties of octenyl succinic esters of various starches". *Food Research International* **75**, 41-49.
- Singh, J., Kaur, L., y McCarthy, O. J. (2007). "Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications—A review". *Food hydrocolloids* **21**, 1-22.
- Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Sodhi, N. S., y Gill, B. S. (2003). "Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources". *Food Chemistry* **81**, 219-231.
- Schoch, T. J. (1964). "Swelling power and solubility of granular starches". *Methods in carbohydrate chemistry*, **4**, 106-108.
- Shujun, W., Jinglin, Y., Jiugao, Y., Jiping, P., y Hongyan, L. (2008). "Structure characterization of C-type starch granule by acid hydrolysis". *Food hydrocolloids* **22**, 1283-1290.
- Smith, R. J. y J. L. Caruso (1964). "Determination of phosphorus and ash. *Methods in Carbohydrate Chemistry*". R. L. Whistler. Berlin, Germany, Ed. Springer: **311**.
- Smith, R. J., Whistler, R. L., y Paschall, E. F. (1967). "Starch chemistry and technology". *Starch: chemistry and technology*, **2**. Pág. 369-389.
- Srichuwong, S., Sunarti, T. C., 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.
- Sweedman, M. C., Tizzotti, M. J., Schäfer, C., y Gilbert, R. G. (2013). "Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: A review". *Carbohydrate polymers* **92**, 905-920.
- Tester, R. F., Karkalas, J., y Qi, X. (2004). "Starch—composition, fine structure and architecture". *Journal of Cereal Science* **39**, 151-165.
- Torres Martínez, K. (2007). "Optimización de la etapa de hidrólisis ácida en el proceso de fosfatación de almidón por extrusión para la encapsulación de aceite esencial de naranja". Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Pachuca de Soto, Hidalgo, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Licenciatura Química en Alimentos.

- Tharanathan, R. N. (2005). "Starch—value addition by modification". *Critical reviews in food science and nutrition*, **45**, 371-384.
- Thirathumthavorn, D., y Charoenrein, S. (2006). "Thermal and pasting properties of native and acid-treated starches derivatized by 1-octenyl succinic anhydride". *Carbohydrate Polymers* **66**, 258-265.
- Thomas, D. J. and A. W. A. (1999). "Special topics. Starches". *A. A. o. C. Chemists*: 31-39.
- Utrilla-Coello, R. G., Hernández-Jaimes, C., Carrillo-Navas, H., González, F., Rodríguez, E., Bello-Perez, L. A., ... y Alvarez-Ramirez, J. (2014). "Acid hydrolysis of native corn starch: morphology, crystallinity, rheological and thermal properties". *Carbohydrate polymers* **103**, 596-602.
- Wang, S., y Copeland, L. (2012). "New insights into loss of swelling power and pasting profiles of acid hydrolyzed starch granules". *Starch-Stärke* **64**, 538-544.
- Wang, S., y Copeland, L. (2013). "Molecular disassembly of starch granules during gelatinization and its effect on starch digestibility: a review". *Food & function* **4**, 1564-1580.
- Yun, S. H., y Matheson, N. K. (1990). "Estimation of amylose content of starches after precipitation of amylopectin by concanavalin-a". *Starch-Stärke*, **42**, 302-305.
- Zambrano, F. M. (1998). "Otimizacão das condicoes de Hidrólisis ácida do Amido de Mandioca para Obtenção de Sbstituto de Gordura: Caracterizacão de Hidrolisados e Aplicacão em Bolos. Campinas, SP. Univesidade Estadual de Campinas. Para Obtenção do Titulo de Doctor em Tecnología de Alimetos. Pp. 81 – 95.
- Zhu, F. (2015). "Composition, structure, physicochemical properties, and modifications of cassava starch". *Carbohydrate polymers*, **122**, 456-480.
- Zhu, F. (2016). "Structure, properties, and applications of aroid starch". *Food Hydrocolloids*, **52**, 378-392.

10 ANEXOS

10.1 ANEXO 1. Termogramas de gelatinización de almidón ceroso y normal

**Figura 31.** Termogramas de gelatinización de almidón de yuca ceroso (a) y normal (b)

10.2 ANEXO 2. Congresos


TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CELAYA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA



La Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A.C.

Nuevas tecnologías y tendencias en la Ingeniería Química

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a:

MARÍA MONTSERRAT CRUZ BENITEZ, REYNA NALLELY FALFÁN CORTÉS,
 ESMERALDA RANGEL VARGAS, LUIS DÍAZ BATALLA, OTILIO A. ACEVEDO
 SANDOVAL, BELLA LIZBETH GÓMEZ LÓPEZ, CARLOS ALBERTO GÓMEZ ALDAPA
 Y ERIK GÓMEZ HERNÁNDEZ

Por la presentación del trabajo:

**OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE HIDRÓLISIS ÁCIDA DEL ALMIDÓN DE YUCA
 CEROSA, PARA SU MODIFICACIÓN QUÍMICA CON GRUPOS FOSFATO Y
 SUCCINATO.**

Título: Certificado
 Diseño: Araceli Aguilar Rojas Roldán, Print
 Ejecución: Raúl Solís Medina, Escalfor
 Colaboradores: Marcelino López, Beatriz Adriana Rodríguez Andrade, Cecilia Rangel Mexicano, Dulce María Elizabeth Carreras Orduña, Alejandro Lomas Ortiz
 Fecha: 24 de Agosto de 2016
 Modal: ubicado en la Unidad de Convivencia Estudiantil del Campus II del Instituto Tecnológico de Celaya

XXXVII Encuentro Nacional de la AMIDIQ
 Puerto Vallarta, Jalisco, México, del 3 al 6 de mayo de 2016


Dr. Matucio Sales Cruz
 PRESIDENTE DE AMIDIQ


Dr. Pedro Alberto Quintana Hernandez
 PRESIDENTE DEL COMITÉ ORGANIZADOR


Dr. Jesús Alberto Ochoa Tapia
 PRESIDENTE DEL COMITÉ TÉCNICO