



**Universidad Autónoma de Querétaro**  
**Facultad de Química**  
**Departamento de Investigación y Posgrado**  
**de Alimentos**

“Efecto de los parámetros de procesamiento sobre la formación de almidón resistente (AR) tipo 5 usando tecnologías emergentes”

**TESIS**

Como parte de los requisitos para obtener el grado de:

**Doctor en Ciencias de los Alimentos**

PRESENTA

M. en C. Fernanda Guadalupe Castro Campos

DIRIGIDA POR

Dra. Marcela Gaytán Martínez

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2025

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**  
**DOCTOR EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS**

“Efecto de los parámetros de procesamiento sobre la formación de AR tipo 5 usando tecnologías emergentes”

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS**

PRESENTA

M. en C. Fernanda Guadalupe Castro Campos

DIRIGIDA POR

Dra. Marcela Gaytán Martínez

SINODALES

Dra. MARCELA GAYTÁN MARTÍNEZ  
DIRECTOR

Dr. MARIO ENRIQUE RODRÍGUEZ GARCÍA  
SECRETARIO

Dr. MARIO M. MARTÍNEZ  
VOCAL

Dra. Ma. GUADALUPE FLAVIA LOARCA PIÑA  
SUPLENTE

Dra. SANDRA OLIMPIA MENDOZA DÍAZ  
SUPLENTE

Centro Universitario, Querétaro, Qro.  
Enero 2025  
México

A mi esposo,  
por acompañarme en todo este camino. Gracias por tu amor incondicional, por alentarme  
siempre a dar lo mejor de mí y por creer en mis sueños incluso cuando yo dudaba. Tu  
apoyo y paciencia han sido esenciales en este camino.

A mi mamá,  
por ser la fuente inagotable de fuerza y amor. Gracias por enseñarme a que puedo lograr  
todo lo que yo me proponga a ser valiente y enfrentar los desafíos y determinación.  
Todo lo que soy te lo debo a ti y a tu ejemplo.

A mi hermana,  
mi mejor amiga y confidente. Gracias por siempre traer luz y alegría a mi vida y por  
estar siempre a mi lado, celebrando mis logros y ayudándome en los momentos difíciles.  
Tu cariño y apoyo significan más de lo que las palabras pueden expresar.

Con todo mi amor,

*Fernanda*

## Agradecimientos

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento a todas las personas e instituciones que, de una forma u otra, han sido fundamentales para la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por su invaluable apoyo financiero, que me permitió dedicarme de lleno a mis estudios doctorales. Su respaldo fue esencial para llevar a cabo este proyecto.

A la Dra. Marcela Gaytán, por su guía, paciencia y orientación durante este proceso. Su experiencia y disposición para compartir sus conocimientos fueron una fuente constante de inspiración y aprendizaje.

Al Dr. Mario Rodríguez por su apoyo, constante ánimo en este proyecto y compartiendo ideas valiosas.

Al Dr. Mario Martínez por su apoyo y académico, y por siempre estar dispuestos a colaborar y aportar ideas valiosas. Su profesionalismo y compromiso hicieron una gran diferencia en el desarrollo de este trabajo.

Al Departamento de Agro FOOD PARK de Aarhus Universitet, Dinamarca, por brindarme la oportunidad de realizar una estancia de investigación internacional. La experiencia adquirida, tanto en técnicas avanzadas como en un entorno de colaboración científica, fue invaluable para mi desarrollo profesional y personal.

Al comité académico del programa de doctorado, por sus comentarios, sugerencias y evaluación crítica, que ayudaron a enriquecer esta investigación y garantizar su calidad.

A mis compañeros de doctorado, quienes con su amistad, apoyo y colaboración hicieron de este viaje académico una experiencia más llevadera y enriquecedora. Gracias por ser un motor de inspiración y por compartir este trayecto conmigo.

A todos ustedes, mi más sincero agradecimiento. Este logro no habría sido posible sin el apoyo y confianza que depositaron en mí.

## RESUMEN

El ARtipo-5 (AR-5), se conoce como complejo amilosa-lípido (CAL), el cual se forma a partir de un tratamiento térmico severo en presencia de un ácido graso. Sin embargo, los métodos para su obtención no tienen repetibilidad, además de ser costosos por lo que la obtención de este tipo de almidón puede ser muy variada. Las tecnologías emergentes tales como extrusión y calentamiento óhmico (CO), permiten el control de los parámetros de procesamiento, además de mejorar el rendimiento y costos de producción. Por lo que el uso de las tecnologías podría ser una alternativa para la obtención de AR-5. El objetivo de este estudio fue evaluar los parámetros de procesamiento de extrusión y calentamiento óhmico sobre la formación de AR-5. Para ello, se evaluó la formación de (definir las siglas CAL) CAL a partir de almidón con un contenido de amilosa de 30%, utilizando ácido esteárico. Se obtuvo que, para el tratamiento convencional, con una temperatura de ebullición con 45 min de agitación constante se incrementó el contenido de AR de 3.4% hasta un 18%, en cambio al someterse a extrusión (15rpm/ 25% humedad/120°C) se obtuvo un 76% AR, finalmente, usando CO con una proporción de almidón: agua de 1:1 obteniendo un 29%. Aun cuando que con el uso de calentamiento óhmico aparentemente se obtiene un menor el contenido de AR, el CO es una tecnología sumamente eficiente y con menores requerimientos de agua y menores tiempos, siendo que su aplicación representa una ventaja para la formación de complejos almidón-lípido, con parámetros sumamente controlados y en menores tiempos.

**Palabras clave:** Almidón resistente, tecnologías emergentes, extrusión, calentamiento óhmico, complejo amilosa-lípido

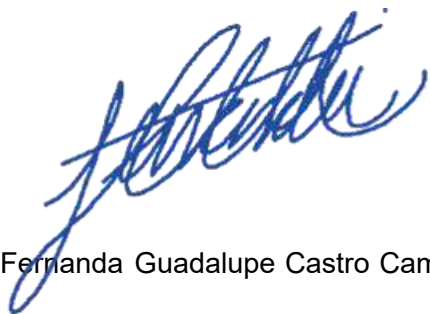
## **ABSTRACT**

Resistant starch type-5 (RS-5), known as amylose-lipid complex (ALC), is formed from severe heating in the presence of a fatty acid. However, the methods for obtaining it are not repeatable and are expensive, so the production of starch can be very varied. Emerging technologies such as extrusion and ohmic heating (OH) have control over the processing parameters, as well as the yield and production costs. Therefore, the use of technologies could be a tool for obtaining resistant starch type 5. The objective of this study was to evaluate the processing parameters of extrusion and ohmic heating on the formation of RS-5. The formation of CAL from starch with an amylose content of 30% was evaluated, using stearic acid. It was obtained that, for the conventional treatment, with a boiling temperature with 45 min of constant stirring, the AR content was increased from 3.4% to 18%, however, when subjected to extrusion (15 rpm / 25% humidity / 120 ° C) 76% AR was obtained, finally, using CO with a starch: water ratio of 1: 1 obtaining 29%. The treatment of maize starch with ohmic heating apparently, a lower AR content is obtained, but CO is an extremely efficient technology with lower water requirements and shorter times, and its application represents an advantage for the formation of starch-lipid complexes, with extremely controlled parameters and in shorter times.

**Keywords:** Resistant starch, emerging technologies, extrusion, ohmic heating, amylose-lipid complex.

***DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:*** Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que incluí los detalles metodológicos necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

*Este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.*

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Fernanda Guadalupe Castro Campos', written in a cursive style.

Fernanda Guadalupe Castro Campos

*Nombre y Firma del Estudiante*



## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN .....</b>	<b>5</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>13</b>
<b>1 INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>16</b>
1.1 Almidón.....	16
1.1.1 Estructura y forma del gránulo de almidón.....	18
1.1.2 Composición química del almidón.....	20
1.1.3 Amilopectina.....	22
1.1.4 Amilosa.....	24
1.2 Propiedades fisicoquímicas del almidón .....	25
1.2.1 Cristalinidad del almidón.....	25
1.3 Digestión del almidón .....	29
1.4 Clasificación del almidón con base en el tiempo de digestión.....	32
1.5 Almidón resistente .....	33
1.6 Efectos en la salud por el consumo de ARen la salud humana.....	36
1.7 Usos del ARen la industria alimentaria .....	39
1.8 ARtipo 5.....	41
1.9 Propiedades tecnofuncionales del ARtipo 5 .....	43
1.10 Factores que afectan la formación de ARtipo 5 (complejos almidón-lípido) 45	
1.11 Tecnologías emergentes .....	52
1.11.1 Extrusión .....	52

1.11.2	Calentamiento óhmico .....	55
<b>2</b>	<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>59</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>59</b>
3.1	Objetivo general .....	59
3.1.1	Objetivos específicos .....	59
<b>4</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>60</b>
4.1	Material biológico.....	60
4.2	Caracterización química del almidón .....	60
4.3	Determinación de amilosa y amilopectina .....	61
4.4	Determinación de almidón total.....	61
4.5	Formación de complejos de almidón-lípido por un método tradicional	61
4.6	Formación de ARtipo 5 usando calentamiento óhmico.....	62
4.7	Determinación de las propiedades eléctricas .....	63
4.8	Obtención de ARtipo 5 mediante extrusión .....	63
4.9	Caracterización de complejos almidón-lípido .....	65
4.9.1	Determinación del índice de complejamiento .....	65
4.9.2	Perfil de viscosidad .....	66
4.9.3	Calorimetría diferencial de barrido .....	66
4.10	Caracterización estructural del almidón nativo y los complejos almidón-lípido	67
4.10.1	Determinación de grupos funcionales (FTIR) .....	67
4.10.2	Difracción de rayos X.....	68

4.11	Análisis estadístico .....	68
<b>5</b>	<b>Resultados y discusión .....</b>	<b>69</b>
5.1	Caracterización química del almidón de maíz .....	69
5.2	Propiedades térmicas y viscosidad de almidón de maíz .....	70
5.3	Caracterización de complejos almidón-lípido por método tradicional .	72
5.3.1	Índice de complejamiento .....	72
5.3.2	Propiedades térmicas de complejos almidón-lípidos obtenidos con diferentes temperaturas y tiempos .....	74
5.3.3	Cuantificación de ARde complejos amilosa/amilopectina-lípido por método tradicional.....	78
5.3.4	Análisis estructural FTIR de complejos amilosa/amilopectina por método tradicional.....	80
5.3.5	Caracterización cristalina por difracción de rayos X (DRX).....	82
5.4	Caracterización de almidón tratado con calentamiento óhmico .....	84
5.5	Análisis estructural por difracción de rayos X (DRX) de la formación de almidón de ARtipo 5.....	87
5.6	ARformado por calentamiento óhmico.....	90
5.6.1	Análisis de complejos almidón-lípido por Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).....	93
5.6.2	Análisis de térmico de los complejos almidón-lípido formados por calentamiento óhmico .....	96
5.7	Formación de ARtipo 5 por extrusión.....	98
5.7.1	Índice de complejamiento de complejos amilosa-lípidos por extrusión.....	98
5.7.2	Contenido de almidón resistente, de lenta y rápida digestión .....	101

5.7.3	Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).....	107
5.8	Propiedades térmicas del ARtipo 5 obtenido por extrusión.....	109
5.9	Caracterización cristalina por difracción de rayos X (DRX) para AR5 formado por extrusión .....	112
<b>Conclusiones .....</b>		<b>115</b>
<b>6</b>	<b>Referencias.....</b>	<b>117</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
Tabla 1. Características del almidón de diferentes fuentes .....	18
Tabla 2. Tipos de almidón resistente .....	35
Tabla 3. Diseño experimental para la formación de complejos almidón-lípido ..	62
Tabla 4. Diseño factorial para la obtención de ARtipo 5.....	64
Tabla 5. Composición proximal y química de almidón de maíz.....	69
Tabla 6. Propiedades térmicas de los complejos almidón-lípido .....	77
Tabla 7. Efecto de las condiciones de tratamiento en las propiedades eléctricas de almidón de maíz tratado por calentamiento óhmico.....	84
Tabla 8. Tratamientos con el mayor porcentaje de ARtipo 5.....	107

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Biosíntesis del amilosa y amilopectina en maíz (Changsheng et al., 2018).....	17
Figura 2. Acomodo estructural del almidón (Bertoft, 2017) .....	19
Figura 3. Acomodo de las cadenas de amilopectina dentro del gránulo de almidón (Wang et al., 2015)(Wang et al., 2015).....	21
Figura 4. Estructura molecular de la amilopectina (adaptado de: Bertoft, 2017; Tester et al., 2004) .....	23
Figura 5. Estructura helicoidal de la molécula de amilosa (Bemiller, 2019)(Bemiller, 2019). .....	24
Figura 6. Acomodo de las cadenas de amilopectina de acuerdo al modelo de clusters (Bemiller, 2019) .....	26
Figura 7. Modelos aceptados del acomodo de las cadenas de amilopectina (Bertoft, 2018)(Bertoft, 2018).....	27
Figura 8. Patrones de difracción de rayos X en almidón de acuerdo a su acomodo cristalino (Buléon et al., 1998; Rodriguez-Garcia et al., 2021).....	28
Figura 9. Hidrólisis del almidón en el sistema gastrointestinal humano (Elaboración propia) .....	31
Figura 10. Patrón de difracción de rayos X de complejos de almidón-lípido (Cervantes-Ramírez et al., 2020).....	43
Figura 11. Representación gráfica de complejos amilosa-lípidos tipo I y II (Tufvesson et al., 2003) .....	47
Figura 12. Formación de un complejo de inclusión de amilosa-ácido graso insaturado (elaboración propia) .....	50

Figura 13. Diagrama de la estructura del equipo de extrusión (Cervantes-Ramírez et al., 2020).....	54
Figura 14. Esquema general de investigación, por etapas de estudio .....	60
Figura 15. a) Propiedades térmicas y b) viscosidad de almidón de maíz. ....	71
Figura 16. Índice de complejamiento de almidón-ácido oleico. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). ....	73
Figura 17. Contenido de ARe los diferentes tratamientos de formación de complejos almidón-lípido. ....	78
Figura 18. Espectros FTIR-ATR para complejos formados con ácido oleico ....	81
Figura 19. Patrones de difracción de Rayos X para los complejos formados con almidón nativo y con ácido oleico .....	83
Figura 20. Cambio en la conductividad eléctrica del almidón de maíz tratado con voltaje de a)100 V y b)150 V, y el almidón de maíz con ácido esteárico tratado con voltaje de c) 100 V y d) 150 V .....	86
Figura 21. Patrones de difracción de Rayos X para almidón de maíz sometido a calentamiento óhmico con y sin ácido esteárico .....	88
Figura 22. Contenido de almidón de resistente en los diferentes voltajes usando calentamiento óhmico en diferentes voltajes. ARD: Almidón de rápida digestión; ALD: Almidón de lenta digestión; AR: almidón resistente.....	91
Figura 23. Caracterización de los grupos funcionales del almidón de maíz y su interacción con ácido esteárico, tratado con calentamiento evaluando diferentes voltajes.....	94
Figura 24. Termogramas de la interacción de almidón de maíz con ácido esteárico, en los diferentes voltajes usando calentamiento óhmico.....	97
Figura 25. Índice de complejamiento del ARobtenido por extrusión. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ). ....	99

Figura 26. Contenido de almidón resistente, almidón de lenta y rápida digestión obtenido mediante extrusión. ....	102
Figura 27. Superficie respuesta para la formación de ARtipo 5, obtenido por extrusión.....	104
Figura 28. Propiedades térmicas de los complejos amilosa/amilopectina-ácido esteárico mediante extrusión .....	110
Figura 29. Patrones de difracción de Rayos X para los complejos formados con almidón de maíz y ácido esteárico, mediante extrusión.....	113



# 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1 Almidón

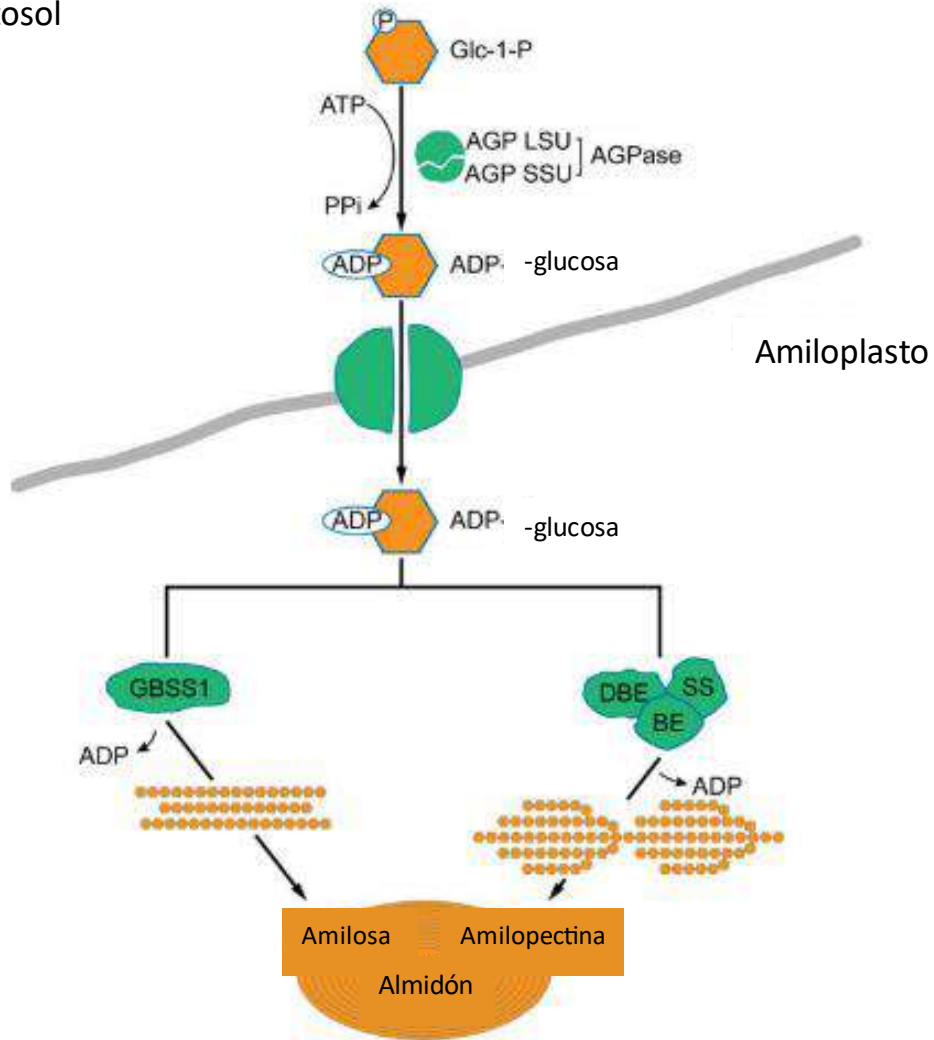
El almidón se ha considerado como un biopolímero, el cual se encuentra en fuentes vegetales, como cereales, raíces, plantas, donde su función es ser la mayor reserva de energía, dicho polímero es sintetizado en los cloroplastos (Pérez y Bertoft, 2010).

Los gránulos de almidón se encuentran en los cloroplastos presentes en las hojas verdes, así como en los amiloplastos de los amiloplastos de semillas, legumbres y tubérculos (Fuentes-Barría *et al.*, 2018). Tales gránulos varían de tamaño (2-75  $\mu\text{m}$ ) y forma (poligonal, esférica, semiesférica, lenticular y alargada) dependiendo de la fuente de origen (Ai y Jane, 2017). El almidón es sintetizado en las hojas de las plantas, a través de la fotosíntesis, el cual se va acumulando gradualmente en forma de gránulos (Joye, 2018).

Tales gránulos son diferenciados en dos tipos, por un lado están los se sintetizan durante la fotosíntesis como almacenaje de temporal y por otro lado, son sintetizados en los amiloplastos por un tiempo prolongado (Joye, 2018), para ser utilizados como fuente de energía en la germinación y como fuente de carbono para la biosíntesis de novo de macromoléculas necesarias en el crecimiento y desarrollo de la planta (Manthey, 2015).

La biosíntesis de almidón, inicia en el citosol a partir de la molécula de  $\alpha$ -D-glucosa-1-fosfato, donde el nucleótido ADP-Glc (adenosín difosfato-glucosa) ayuda a la formación de los enlaces  $\alpha$ -1,4 glucosídicos uno a uno para la formación de amilosa (Preiss, 2017). La reacción es catalizada por ATP y la enzima E.C. 2.4.1.21, 4- $\alpha$ -D-glucosa-1-fosfato transferasa (Zeeman *et al.*, 2010), como se muestra en la [Figura 1](#).

Citosol



**Figura 1. Biosíntesis del amilosa y amilopectina en maíz (Changsheng *et al.*, 2018)**

De manera particular para la biosíntesis de almidón en el cereal de maíz, se ha visto que existen un conjunto de enzimas principales como sacarosa sintasa (SUS), ADP-glucosa pirofosforilasa (AGPasa) almidón sintasas soluble (SS), almidón sintasa unido a gránulos (GBSS) y la enzima desramificante del almidón (DBE). Se ha reportado que la síntesis del almidón en el endospermo de maíz comienza con el corte de la sacarosa, para

generar fructuosa y ADP-glucosa (ADPG), lo cual es catalizada por la enzima SUS, para generar ADP-glucosa. Para la construcción de la cadena de amilosa, es utilizada ADPG como donador de un glucósido, lo cual activa la enzima GBSS para la construcción de la cadena de amilosa. En el caso de la amilopectina, se requiere un complejo de enzimas coordinadas, como SS, BE y DBE (Figura 1), las cuales, son las responsables de la construcción de la cadena de amilopectina, generando las ramificaciones de esta (Changsheng *et al.*, 2018). Dichas ramificaciones dan origen al gránulo del almidón, el cual varía el porcentaje de amilosa y amilopectina, así como el tamaño y forma según la fuente de origen.

### 1.1.1 Estructura y forma del gránulo de almidón

La síntesis del almidón depende de la fuente de origen y del mismo modo, las características que éste posea. En ese sentido, en el gránulo de almidón varían sus características físicas y químicas según la fuente de obtención (Tabla 1). Las diversas formas, tales como esféricas, poliédricas, lenticulares pueden ser muy variadas (Schmiele *et al.*, 2019).

**Tabla 1. Características del almidón de diferentes fuentes**

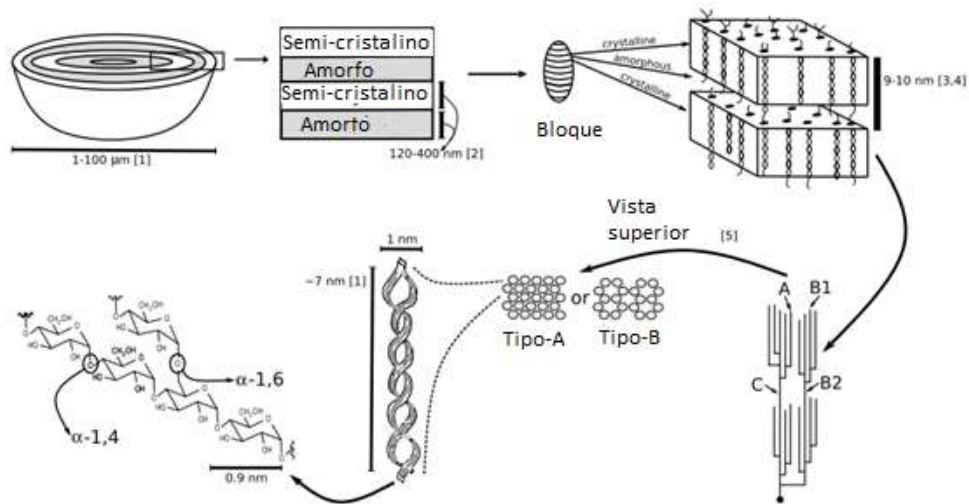
Características del almidón	Cereales	Tubérculos	Raíces
Morfología de gránulo	Esférica		
	Poliédrica	Lenticular	Esférica/lenticular
	Lenticular		
Tamaño de gránulo (µm)	5-30	5-100	4-35
Distribución	Unimodal		
	Bimodal	Unimodal	Unimodal
	Trimodal		
Amilopectina (%)	70-80	75-82	70-80

<b>Amilosa (%)</b>	20-35	18-25	20-35
<b>Cristalinidad</b>	Tipo-A	Tipo-B	Tipo-A Tipo-C

Adaptado de: (Schmiele *et al.*, 2019; Vamadevan y Bertoft, 2015)(Schmiele *et al.*, 2019; Vamadevan y Bertoft, 2015)

Otra de las características físicas del almidón, es el tamaño de gránulo, el cual también varía según la fuente, sin embargo, una de las características principales es el diámetro, el cual varía desde los 5 hasta 100  $\mu\text{m}$  (Tester *et al.*, 2004).

La distribución del tamaño de los gránulos de almidón es otra de las características relevantes en el almidón, tal distribución se refiere a la variación del tamaño de gránulos que un almidón de una misma fuente puede tener (Vamadevan y Bertoft, 2015).



**Figura 2. Acomodo estructural del almidón (Bertoft, 2017)**

De acuerdo con la variación de su tamaño, el almidón se divide en tres. Se puede tener una distribución unimodal, la cual indica que solo **existe** un tamaño de gránulo de

almidón; por otro lado, se encuentra la distribución bimodal, lo que indica la presencia de dos tamaños de gránulo y finalmente una distribución trimodal, en la cual existen tres diferentes tamaños de gránulo de almidón. Dicha distribución se ha relacionado con la fuente de origen (Tabla 1).

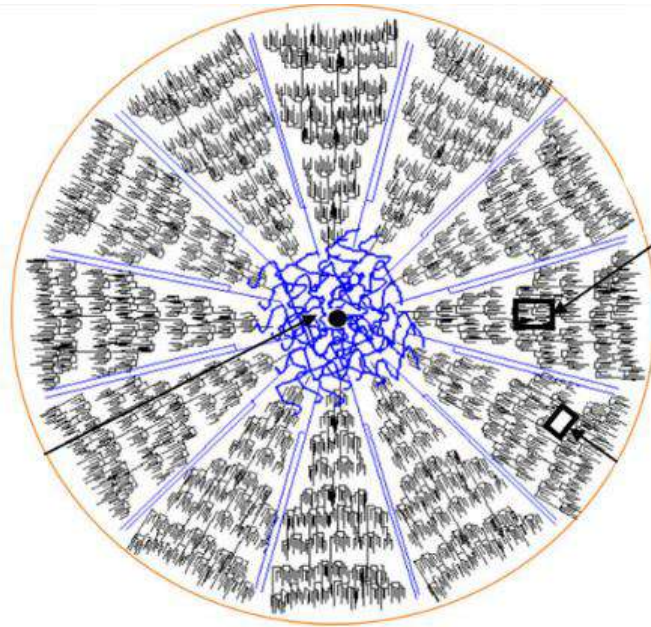
Otra de las características del almidón es el acomodo estructural que éste posee (Figura 2). Se ha descrito que el almidón cuenta con varios niveles estructurales, en primer lugar, el tamaño y la forma de los gránulos, seguido de las estructuras internas, como los anillos de crecimiento (hilum), las estructuras cristalinas y amorfas, y el acomodo de doble hélice de las cadenas externas de amilopectina (Bertoft, 2017). Sin embargo, aún no se conoce a detalle la organización de sus componentes internos, por lo que existe la necesidad de generar más estudios que puedan clarificar cuál es la organización de sus componentes y como esto puede afectar sus características fisicoquímicas, así como sus usos en la industria de los alimentos.

### 1.1.2 Composición química del almidón

El almidón se define como una micropartícula compleja, compuesta por dos biopolímeros: amilosa y amilopectina; además, contiene porcentajes menores de agua, lípidos, fosfolípidos y algunos minerales (Rodríguez-García *et al.*, 2021). Sus dos principales moléculas, amilosa y amilopectina, están unidas por puentes de hidrógeno, los cuales permiten la estabilidad e integridad del gránulo de almidón; además, presentan un acomodo radial, en el cual los grupos reductores están orientados hacia el centro (hilum) del gránulo de almidón (Figura 3) (Schmiele *et al.*, 2019). Los biopolímeros que forman el almidón están compuestos por cadenas de D-glucosa unidas por enlaces glucosídicos  $\alpha$ -(1,4), formando una cadena lineal, la cual es denominada amilosa. El segundo biopolímero llamado amilopectina, está compuesto también por cadenas D-glucosa unidas por enlaces glucosídicos  $\alpha$ -(1,4) y además posee cadenas de D-glucosa que se encuentran interconectadas por enlaces glucosídicos  $\alpha$ -(1,6), estos últimos forman las ramificaciones dentro de las cadenas principales (Bertoft, 2017).

Los lípidos están presentes en almidones nativos de cereales en una proporción de aproximadamente 1.5 a 2 %; los almidones nativos de tubérculos y raíces, así como los

almidones waxy poseen una menor cantidad de lípidos. Dichos lípidos están presentes como ácidos grasos libres, triglicéridos y pequeños fosfolípidos. Tales lípidos se encuentran dentro de la membrana del amiloplastos (Ai y Jane, 2017; Schmiele *et al.*, 2019).



**Figura 3. Acomodo de las cadenas de amilopectina dentro del gránulo de almidón (Wang *et al.*, 2015)(Wang *et al.*, 2015)**

Los ácidos grasos libres, se encuentran principalmente en la superficie del gránulo y pueden ser extraídos en mezclas de cloroformo/metanol; mientras que los triglicéridos, fosfolípidos y esterol ésteres son solubles en soluciones calientes de propanol/agua (Quiroga, 2017).

Además, también se puede encontrar proteína, en pequeños porcentajes (0.6 - 0.4%), así como péptidos, amidas, aminoácidos y ácidos nucleicos. La proteína se encuentra adherida a la superficie de los gránulos (Bemiller, 2019), la cual presenta un bajo peso molecular (5-30 kDa) y son proteínas solubles en diluciones salinas, por otro lado, se pueden encontrar proteínas con mayor peso molecular (30-140 kDa), las cuales están asociadas a la molécula de amilopectina (Quiroga, 2017). Algunas de las proteínas están ubicadas en el interior del gránulo de almidón y son responsables de diversas funciones

biológicas, tales como la biosíntesis de enzimas para la síntesis y degradación de almidón-de la planta (Ai y Jane, 2017).

Otro de los componentes minoritarios dentro del gránulo de almidón, son los minerales, los cuales representan alrededor del 0.4 %. Dentro de estos minerales, están presentes el calcio, magnesio, potasio, sodio y fósforo. Este último, es el más abundante, ya que se encuentra en tres formas, como; fosfato mono ésteres en almidón de cereales, los cuales se ha visto se encuentran enlazados con la molécula de amilopectina. También están en forma de fosfolípidos y como fosfato inorgánico en almidones de tubérculos como la papa (Quiroga, 2017; Tester *et al.*, 2004). Finalmente, el agua, dentro del almidón, representa alrededor del 12% de humedad, dependiendo la fuente de obtención del almidón. También se puede encontrar agua ligada, en donde las moléculas de agua están ubicadas dentro de las cadenas de amilosa y amilopectina (Quiroga, 2017).

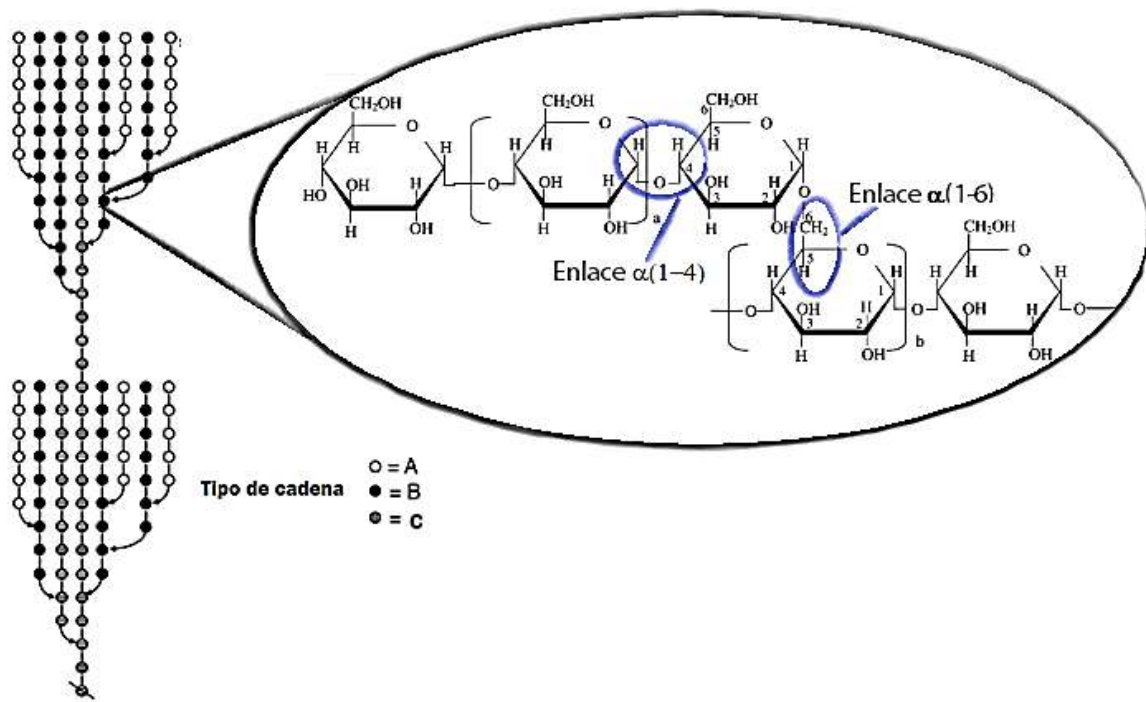
### **1.1.3 Amilopectina**

La amilopectina es el componente mayoritario en el almidón, se encuentra en una proporción de 85-65% formado por unidades de glucosa unidas por enlaces glucosídicos  $\alpha$ -(1,4) y presenta ramificaciones unidas por enlaces  $\alpha$ -(1,6), formado estructuras (Schmiele *et al.*, 2019). Se ha reportado un peso molecular de  $10^7$  a  $10^9$  Da, además de un grado de polimerización que abarca desde 700-2100, 4400-8400 y de 13400-26500, donde generalmente predominan las cadenas largas, dependiendo de la fuente de almidón (Bertoft, 2017)(Bertoft, 2017).

La molécula de amilopectina posee diferentes tipos de ramificaciones que oscilan desde 6 hasta 100 unidades, en donde aquellas cadenas pequeñas de 13 a 24 unidades están más estructuradas y ordenadas y parten de una cadena más larga. Las ramificaciones y longitud de éstas varían en función de la fuente de origen del almidón (Quiroga, 2017). Por ello, la estructura de la molécula de amilopectina es muy compleja y aún no se tiene totalmente claro su acomodo dentro del gránulo, sin embargo, la cristalinidad del almidón está dada a partir de su acomodo de su estructura.

Por otro lado, el biopolímero está conformado por una cadena principal (cadena C), que contiene el extremo reductor (-OH). Las ramificaciones denominadas cadenas B, suelen

estar unidas a la cadena principal (cadena C), pero son más cortas. A partir de las cadenas B, surgen otras cadenas de menor peso molecular que se han denominado cadenas A, siendo estas últimas las cadenas más cortas de la amilopectina como se muestra en la [Figura 4](#) (Bemiller, 2019).



**Figura 4. Estructura molecular de la amilopectina** (adaptado de: Bertoft, 2017; Tester *et al.*, 2004)

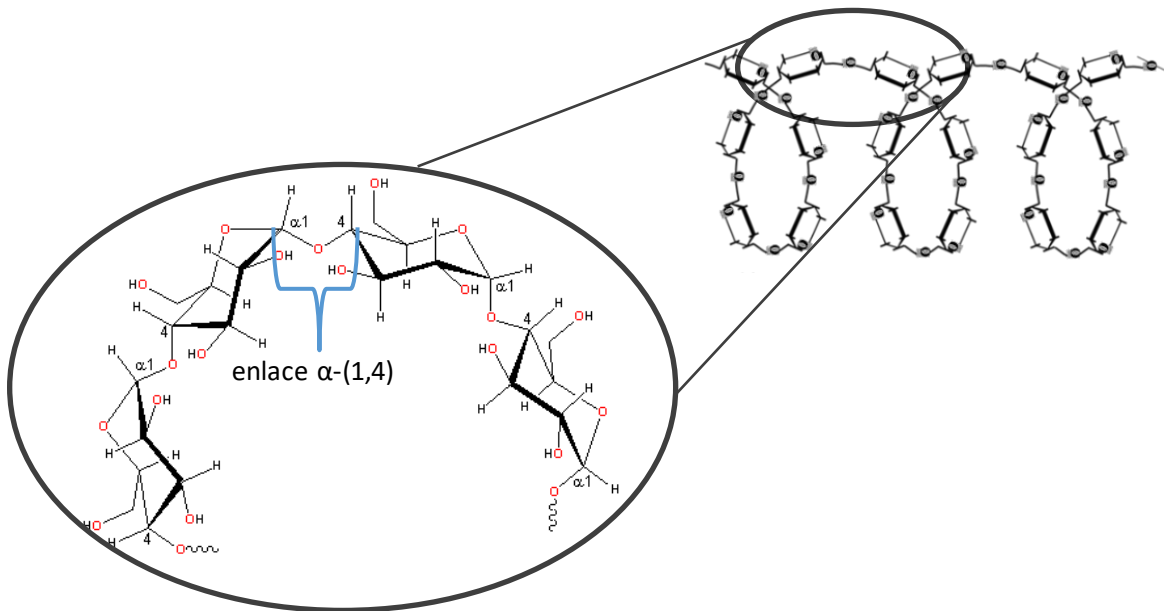
A pesar de que la estructura de la amilopectina no se ha esclarecido completamente, se ha concebido que las ramificaciones son capaces de agruparse y entrelazarse para formar dobles hélices (Figura 4). Tal acomodo da origen a la parte cristalina de los gránulos de almidón (Bemiller, 2019)(Bemiller, 2019). Además, el acomodo de las moléculas de amilopectina tiene un impacto importante en las propiedades fisicoquímicas del almidón (Zhu, 2018).



### 1.1.4 Amilosa

La molécula de amilosa es representada del 15-35% del peso total del almidón (Tester *et al.*, 2004). Es un  $\alpha$ -glucano formado por una estructura lineal de unidades de  $\alpha$ -D-glucopiranos unidos por enlaces  $\alpha$ -(1,4), su tamaño molecular es de 50 nm y un grado de polimerización (DP) de 500-4500 unidades (Quiroga, 2017).

La molécula de amilosa comúnmente tiene un DP (Grado de polimerización, por sus siglas en inglés)-de 324 a 4920 unidades de glucosa, en la cual se pueden encontrar de 9 a 20 puntos de ramificaciones, que equivalen de 3 a 11 cadenas por moléculas de amilosa (Tester *et al.*, 2004). Sin embargo, se considera un polímero lineal, debido a que sus ramas laterales son muy largas y de alto peso molecular, por lo que tiende a tomar una estructura helicoidal, de manera natural (Joye, 2018).



**Figura 5. Estructura helicoidal de la molécula de amilosa (Bemiller, 2019)(Bemiller, 2019).**

Cabe mencionar que , no existe un tamaño específico para la molécula de amilosa, ya que en algunos casos su tamaño es comparable al de las dextrinas lineales provenientes de la hidrólisis de amilopectina (107 Da) (Bertoft, 2018). Las cadenas cortas de amilopectina pueden confundirse con amilosa; sin embargo, deberían denominarse

oligosacáridos lineales. Por lo anterior, es necesario seguir investigando sobre la caracterización de la molécula de amilosa, para distinguir de forma clara cuándo se trata de amilosa y cuándo de fracciones cortas de amilopectina, así como determinar si presentan características funcionales similares.

La forma de hélice que adopta la amilosa se conforma por 6 moléculas por vuelta de la hélice, dicho acomodo permite que los grupos hidroxilo se orienten al exterior de las hélices y los átomos de hidrógeno se orientan hacia el interior, provocando un carácter hidrofóbico en el interior de la hélice tal como puede visualizarse en la [Figura 5](#) (Bemiller, 2019; Bertoft, 2017).

Tal carácter hidrofóbico, le permite la interacción con otros compuestos hidrófobos, como lo son: alcoholes, proteínas, ácidos grasos libres y yodo, dando como resultado, complejos de inclusión helicoidal (Joye, 2018). Sin embargo, aún no se sabe cuáles son las características de la molécula que permiten dichas interacciones, ya que algunas de éstas, se ha visto que están relacionadas con el tamaño del compuesto de inclusión y el peso molecular de la cadena de amilosa. Lo anterior abre la puerta a futuras investigaciones que permitan elucidar de forma más clara, la formación de complejos de amilosa, así como evaluar las características funcionales y nutricionales que presentan.

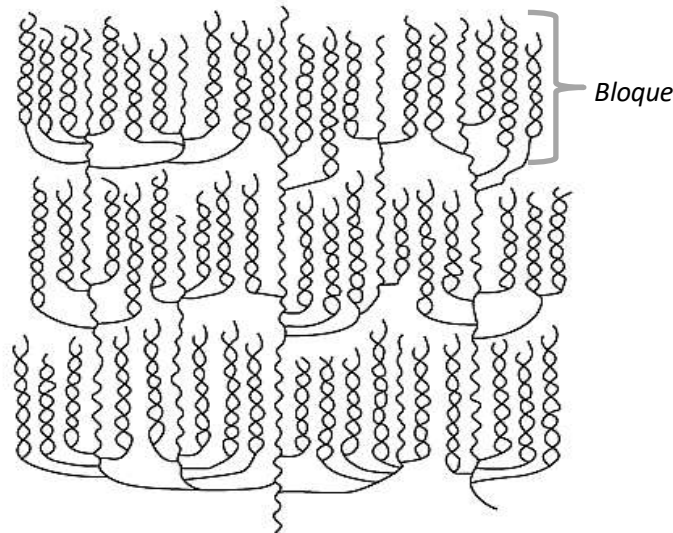
## **1.2 Propiedades fisicoquímicas del almidón**

### **1.2.1 Cristalinidad del almidón**

En el almidón, el acomodo de las moléculas de amilosa y amilopectina definen su estructura cristalina. Ambas moléculas forman una estructura semicristalina dada por el acomodo de la amilopectina (Zeeman *et al.*, 2010). Debido a que los extremos reductores de las cadenas de amilopectina están orientados hacia el centro del gránulo (Figura 2), el gránulo de almidón es anisotrópico. Es decir, sus propiedades cambian según el ángulo en el que son analizadas y por lo tanto birrefringentes, lo cual se puede observar al examinar los gránulos con luz polarizada (Bemiller, 2019).

Actualmente no es clara la estructura del almidón, sin embargo, Bertoft, (2013), describió que se tienen concebidos dos modelos de arreglo de las cadenas amilopectina dentro

del gránulo del almidón. El modelo de conglomerados o “clusters”, en el cual las cadenas de las unidades cortas se agrupan e interconectan a una cadena más larga (Figura 6).

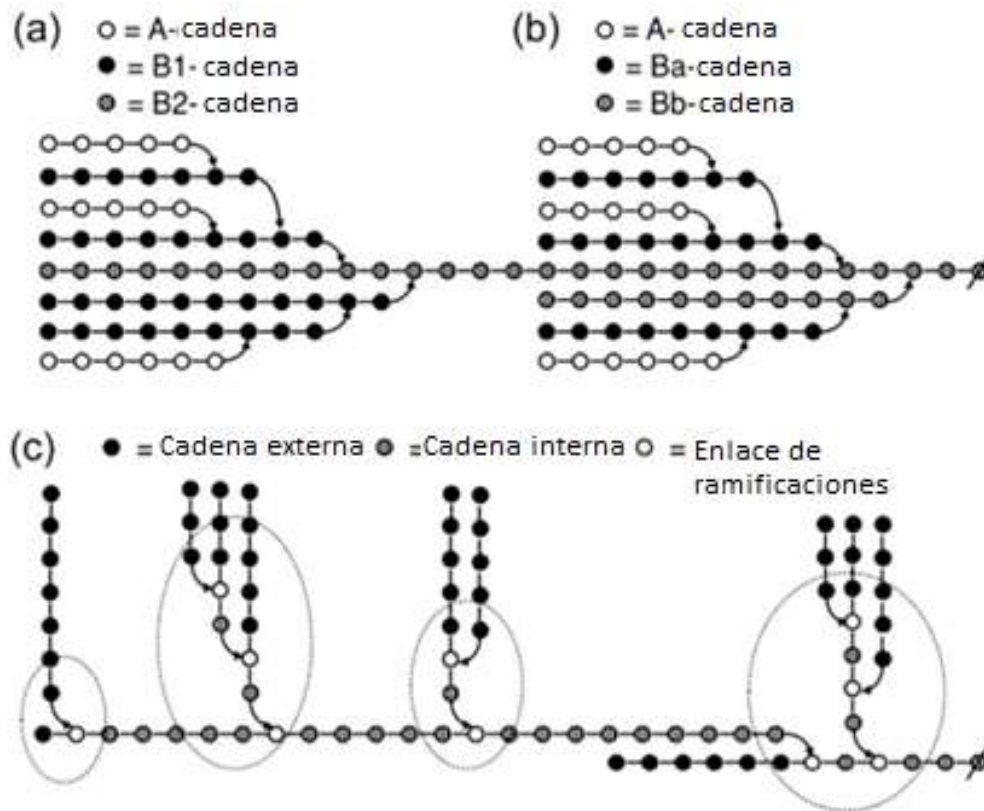


**Figura 6. Acomodo de las cadenas de amilopectina de acuerdo al modelo de clusters (Bemiller, 2019)**

El otro modelo, se le ha denominado “bloques de construcción”, el cual describe que los bloques son construidos a partir de unidades aún más pequeñas, principalmente residuos de las ramificaciones en la cadena principal. Los cuales están separados por segmentos 5 a 8 residuos de glucosas, en donde se sugiere que los bloques de construcción se extienden a lo largo de una columna vertebral o bien la cadena principal (Figura 7). A pesar de todos esos antecedentes, a la fecha no se ha podido distinguir entre alguno de los dos modelos estructurales propuestos, pero se tiene mayor aceptación el modelo “clusters”, ya que es capaz de explicar las regiones cristalinas y semicristalina del almidón (Vamadevan y Bertoft, 2015).

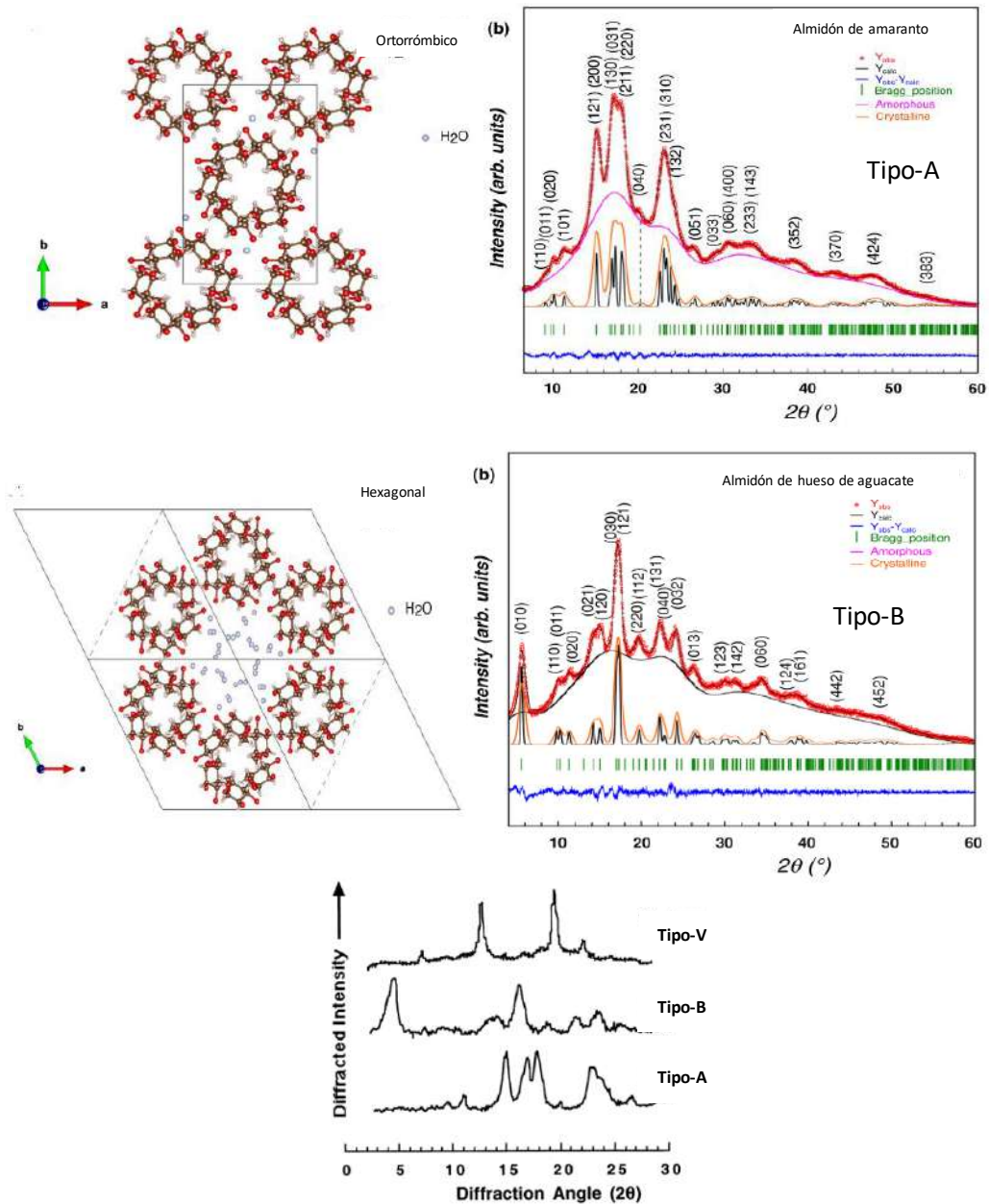
Las zonas cristalinas están formadas por las cadenas cortas de la amilopectina, las cuales han mostrado un grado de polimerización de 10 a 20 unidades de glucosa. Tales extremos se unen formando estructuras de doble hélice con 6 moléculas de glucosa por

vuelta. El análisis de rayos X de la amilopectina ha mostrado dos tipos de patrones, llamados tipo A y tipo B (Bertoft, 2017).



**Figura 7. Modelos aceptados del acomodo de las cadenas de amilopectina**  
(Bertoft, 2018)

El tipo A, corresponde a un arreglo ortorrómbico en donde se identifica un grupo espacial B2, con los siguientes parámetros:  $a = 21.24 \text{ \AA}$ ,  $b = 11.72 \text{ \AA}$ , y  $c = 10.69 \text{ \AA}$ , el cual posee una molécula de agua por unidad asimétrica. Mientras que el tipo B, es una celda hexagonal, que posee dimensiones  $a$  y  $b = 1.85 \text{ nm}$  y  $c = 1.04 \text{ nm}$ , con aproximadamente 36 moléculas de agua por celda unitaria. Aún existen controversias en cuanto al arreglo que la estructura cristalina del almidón presenta y se requieren más estudios para conocer el arreglo cristalino del almidón según su origen (Rodríguez-García *et al.*, 2020). En la [Figura 8](#) se muestran los patrones cristalinos asociados a la estructura cristalina del almidón.



**Figura 8. Patrones de difracción de rayos X en almidón de acuerdo a su acomodo cristalino** (Buléon *et al.*, 1998; Rodriguez-Garcia *et al.*, 2021).

Debido a la complejidad de la estructura de construcción del gránulo de almidón, la localización de las cadenas de amilosa dentro del mismo sigue siendo un tema en

debate. Se ha visto que, según la fuente botánica, la localización de la amilosa cambia, por ejemplo, en el maíz y papa se ha encontrado en las partes periféricas de los gránulos, mientras que, en gránulos de almidón de trigo, cebada, trigo y chicharon se ha localizado en la parte interior del gránulo. Se ha informado que durante los procesos térmicos, la gelatinización de los gránulos de almidón, la amilosa se lixivia más fácilmente, pero cabe mencionar la facilidad de lixiviación varía según la fuente, por lo que puede decirse que las cadenas de amilosa están intercaladas entre las moléculas de amilopectina (Bertoft, 2017).

El acomodo que poseen ambos biopolímeros da lugar a tres estructuras cristalinas, las cuales se han dividido en tres tipos: A, B, C; dichas estructuras están en función de la fuente del almidón (Jean-Michel, 2008). Se ha reportado también, una estructura denominada almidón tipo-5 (recuerda unificar tu manera de describir tipo-5 o tipo-V), asociada a la formación de complejos de inclusión del almidón con otras moléculas (Chao *et al.*, 2018), sin embargo, recientemente existe un debate sobre el verdadero acomodo de estos complejos y cómo pueden ser estudiados estructuralmente a través de microscopía de Raman y Rayos X (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020).

### **1.3 Digestión del almidón**

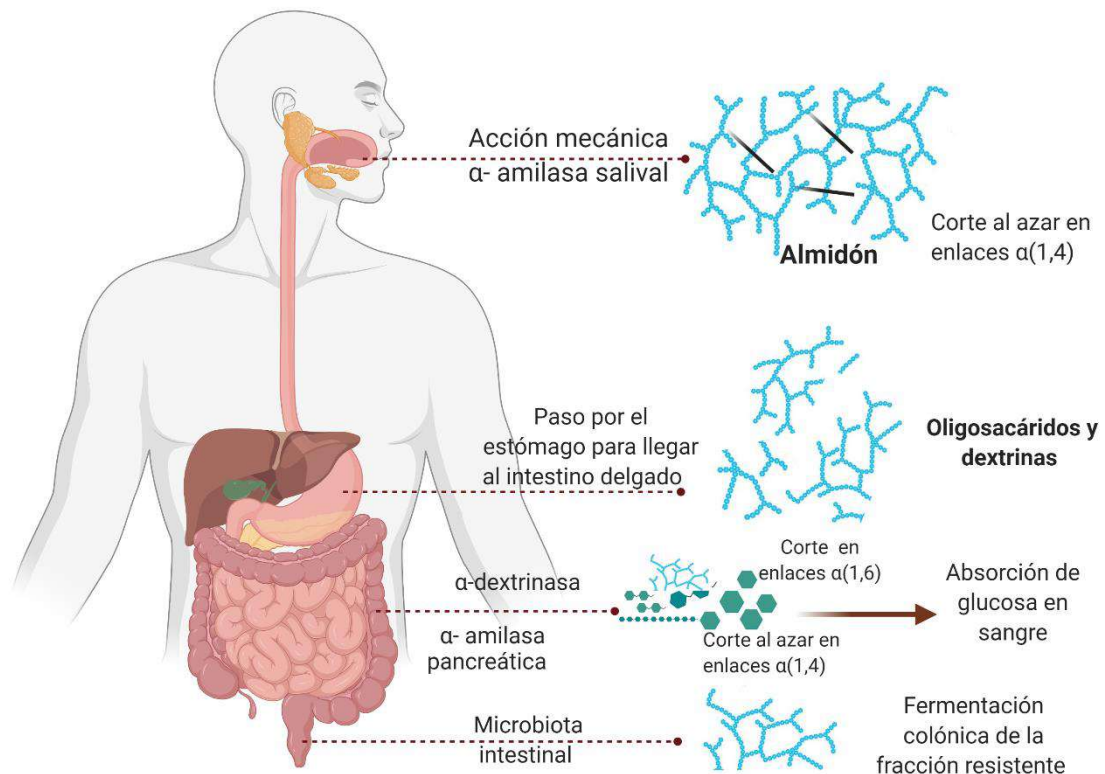
El almidón como alimento, es un carbohidrato presente en frutas, hortalizas y tubérculos (Joye, 2018). Este carbohidrato está compuesto por amilosa y amilopectina, es la principal fuente de carbohidratos en la dieta, ya que aporta del 40 al 80% de la energía total en el cuerpo (Bemiller, 2019).

Debido a su importancia en el consumo es importante conocer su metabolismo en el cuerpo, la digestión del almidón comienza con la ingesta y la masticación, en donde se lleva a cabo un fraccionamiento por acción mecánica y de la enzima  $\alpha$ -amilasa salival, la cual hidroliza de manera aleatoria los enlaces  $\alpha$ -(1,4) del polisacárido compuesto por amilosa y amilopectina. Como producto de esta hidrólisis se obtienen oligosacáridos de 2 a 9 moléculas de glucosa (maltosa, maltotriosa y dextrinas) y fracciones ramificadas con enlaces  $\alpha$ -(1,4) y  $\alpha$ -(1,6) de 5 a 9 unidades de glucosa, además de fragmentos de

oligosacáridos de glucosa, que contienen los enlaces  $\alpha$  (1,6)-glucosídicos, llamados dextrinas límite (Figura 9) (Khatun *et al.*, 2019; Priebe *et al.*, 2017).

Dichas fracciones pasan a través del estómago, en donde la  $\alpha$ -amilasa salival es inactivada por el ácido del estómago y son conducidas al intestino delgado para ser hidrolizadas por la amilasa pancreática, la cual actúa sobre los enlaces  $\alpha$ -(1,4) de los productos restantes; además, la enzima  $\alpha$ -dextrinasa, también llamada isomaltasa, hidroliza los enlaces  $\alpha$ -(1,6) de los oligosacáridos ramificados y las dextrinas límite (Khatun *et al.*, 2019; Priebe *et al.*, 2017).

Posteriormente, los complejos enzimáticos de sucrosa-isomaltasa (SI) y maltasa-glucoamilasa (MGAM) que se encuentran dentro de las vellosidades en el intestino delgado, convierten las fracciones del oligosacárido en unidades de glucosa. Estos complejos enzimáticos están compuestos por dos  $\alpha$ -glucosidasas catalíticas que se denominan  $\alpha$ -glucosidasas N-terminales y C-terminales (Nt- y Ct-). El Nt- de ambos complejos están conectado a la membrana del borde en cepillo en el intestino delgado. Cada subunidad de MGAM y SI tiene su sitio activo independiente para hidrolizar las unidades lineales de glucósido enlazadas  $\alpha$ -1,4 en la molécula de glucosa (Martínez, 2021). Estas unidades de glucosa son aptas para ser absorbidas y transportadas al sistema vascular, para que puedan ser usadas dentro del metabolismo (Priebe *et al.*, 2017). Considero importante también se incluyan las demás enzimas que participan en el intestino delgado pues los péptidos generados pudiesen formar complejos con otras macromoléculas.



**Figura 9. Hidrólisis del almidón en el sistema gastrointestinal humano**  
(Elaboración propia)

La glucosa se transporta a través de los enterocitos (células epiteliales polarizadas) desde la luz intestinal al torrente sanguíneo. Tal fenómeno es el responsable de la respuesta post-prandial de la concentración de glucosa en sangre (Khatun *et al.*, 2019).

Es importante señalar que el transporte de las moléculas de glucosa se lleva a cabo mediante difusión facilitada de glucosa, a través de las superficies apical y basolateral, las cuales contienen moléculas transportadoras de glucosa, tales como el transportador SGLT1 (dependiente de sodio) y el transportador GLUT2. Una vez que la molécula de glucosa entra a la célula, es aprovechada, principalmente, en las rutas metabólicas para la obtención de energía, así como en la síntesis de colágeno y otros compuestos (Martínez, 2021).



Lo anterior, indica que la digestión del almidón es un fenómeno complejo; sin embargo, se ha visto que **en** la digestión del almidón intervienen diversos factores que pueden atribuirle resistencia al almidón para ser digerido, por lo cual el tiempo de digestión del almidón será mayor. Entre los principales factores se encuentra el tipo de matriz alimentaria o bien la estructura que posea dicho almidón. Por lo anterior, los tiempos de digestión del almidón son variados y pueden contribuir a una liberación lenta o bien moderada de glucosa en sangre (Khatun *et al.*, 2019; Martinez, 2021). Debido a ello, es necesario encontrar fuentes de almidón, para la preparación de alimentos, que liberen glucosa en sangre. Esto constituiría un avance tecnológico en el proceso de elaboración de productos que además de aportar nutrientes al cuerpo puedan aportar efectos benéficos a la salud.

#### **1.4 Clasificación del almidón con base en el tiempo de digestión**

El almidón, como alimento, puede ser clasificado de acuerdo con su digestibilidad, la cual está en función de la velocidad de absorción y la respuesta glucémica. Los factores que intervienen en ambas está en función del tipo almidón y de las condiciones fisiológicas del organismo, así como de la viabilidad de la enzima y de la motilidad gástrica (Khatun *et al.*, 2019).

Las enzimas  $\alpha$ -amilasa, sucrosa-isomaltasa y maltasa-glucoamilasa que son llamadas enzimas  $\alpha$ -glucosidasas intestinales, pueden llegar a retardar el tiempo de digestión de los carbohidratos, es decir el tiempo en el que los carbohidratos son reducidos hasta unidades de glucosa y ésta llega al sistema vascular. Dicha velocidad de digestión depende de la accesibilidad que posean las  $\alpha$ -glucosidasas al almidón, tal accesibilidad depende de la fuente de almidón, sus características físicas, así como del tipo de matriz alimentaria en la que se encuentre el almidón. Esta última característica, está relacionada con los compuestos que puedan interaccionar con las enzimas digestivas, teniendo una función inhibitoria de las enzimas y tal fenómeno puede contribuir al retraso en el tiempo de digestión (Priebe *et al.*, 2017).

Uno de los principales inhibidores de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasas pueden ser compuestos presentes en la matriz del alimento como es la presencia de fibra soluble, ya que, al estar en presencia de agua, se puede generar una sustancia viscosa alrededor del almidón que puede interferir en el contacto de las enzimas digestivas con el almidón, lo que permite que este pueda llegar hasta el intestino grueso y ser fermentado por las bacterias presentes en el colon (Priebe *et al.*, 2017)(Priebe *et al.*, 2017)..

Otros de los compuestos que pueden causar una inhibición de las enzimas gastrointestinales, son los polifenoles o bien las glicoproteínas presentes en los alimentos como: leguminosas (chicharos) o bien trigo entero (Mudgil y Barak, 2013; Priebe *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2010).

Debido a lo anterior, se ha dividido la digestión del almidón en tres tipos: almidón rápidamente digerible (ARD); almidón lentamente digerido (ALD) y almidón resistente (AR), por sus siglas en inglés. ARD es digerido en el intestino delgado y produce una respuesta glucémica alta debido a que presenta una absorción dentro de los primeros 20 min después del consumo. Mientras que ALD es digerido de manera similar al anterior, pero a un ritmo más lento, ya que tarda de 20 a 120 minutos, por lo que tiene un índice glucémico relativamente bajo y el RS es capaz de resistir la hidrólisis enzimática después de 120 minutos posteriores a su consumo, por lo que no contribuye a la elevación de glucosa en sangre; y puede llegar al intestino grueso, en donde es fermentado por los microorganismos presentes (Tacer-Caba y Nilufer-Erdil, 2019)..

## **1.5 Almidón resistente (AR)**

Como ya se ha mencionado, existe una fracción del almidón que es capaz de resistir la hidrólisis enzimática después de los 120 min, posteriores al consumo y dicha resistencia le permite llegar al intestino grueso, donde es fermentado por la microbiota intestinal. Tal fracción se denomina AR (Tacer-Caba y Nilufer-Erdil, 2019).

La resistencia del almidón depende de la accesibilidad de las enzimas del tracto gastrointestinal y esta resistencia depende de varios factores. Las características del

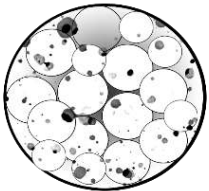
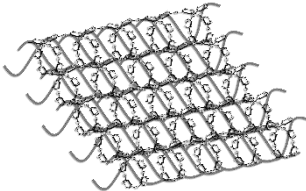
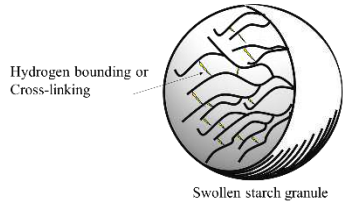
almidón, la fuente, la estructura y la matriz alimentaria son algunos de ellos ((Bello-Perez y Hoyos-Leyva, 2017).

Una estructura compacta del almidón limita la accesibilidad de las enzimas digestivas, por lo que físicamente se encuentra inaccesible, como lo es el almidón presente en los granos de cereal, semillas y tubérculos (Bello-Perez y Hoyos-Leyva, 2017; Priebe *et al.*, 2017). La estructura del gránulo de almidón está organizada de tal forma que evita la acción de las enzimas digestivas.

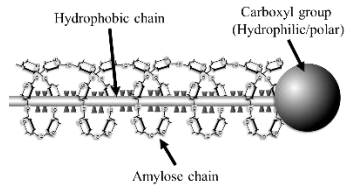
El porcentaje de gelatinización del almidón, así como su retrogradación también influyen en su digestión. Al enfriarse, el almidón forma cristales (almidón retrogradado), los cuales pueden ser resistentes a la digestión enzimática. La modificación química, como son la transglicosilación y la esterificación, impiden la digestión enzimática en el tracto gastrointestinal, por lo que la presencia de almidón resistente, en los alimentos, puede ser debido a la propiedades intrínsecas del alimento o bien al procesamiento (Fuentes-Zaragoza *et al.*, 2010).

Debido a que la presencia de AR se debe a las propiedades intrínsecas del alimento o que puede ser formado durante el procesamiento del mismo, se ha clasificado en cinco tipos distintos. Los cuales se describen en la [Tabla 2](#).

**Tabla 2. Tipos de almidón resistente**

<b>Tipos de almidón resistente</b>	<b>Descripción</b>	<b>Referencias</b>
<p><b>AR I</b></p> 	<p>Almidón físicamente inaccesible y protegido en la pared celular y en la matriz de los alimentos.</p>	<p>(Fuentes-Zaragoza <i>et al.</i>, 2010; Manthey, 2015; Öztürk y Mutlu, 2019a).</p>
<p><b>AR II</b></p> 	<p>Las cualidades físicas de los gránulos de almidón nativo (estructura altamente cristalina) causa su baja digestibilidad. Usualmente encontrados en patatas, plátano verde y almidón ceroso (Hi-Maize ® 260).</p>	<p>(Khoozani, <i>et al.</i>, , 2018; Öztürk &amp; Mutlu, 2019 a o b; Raigond <i>et al.</i>, 2015)</p>
<p><b>AR III</b></p> 	<p>El proceso de retrogradación del almidón gelatinizado produce que tal almidón sea indigerible. Alimentos tratados por ciclos de calentamiento-enfriamiento, como pasta, pan, etc., son una fuente común de este almidón resistente.</p>	<p>(Haralampu, 2000; Hung, Vien, y Lan Phi, 2016; Öztürk y Mutlu, 2019; Raigond <i>et al.</i>, 2015)</p>
<p><b>AR IV</b></p> 	<p>Este AR es producido después de una modificación química de un almidón nativo mediante la adición o sustitución de grupos funcionales, así como la formación de nuevos enlaces, los cuales eviten la digestión enzimática. Este almidón no está</p>	<p>(E. Fuentes-Zaragoza <i>et al.</i>, 2010; Öztürk y Mutlu, 2019; Raigond <i>et al.</i>, 2015).</p>

### AR 5



presente de manera natural, pero puede ser encontrado en alimentos adicionados con almidón modificado, tales como pasta, pasteles o bebidas.

Este tipo de almidón es indigerible debido a la formación de complejos amilosa-lípidos durante el procesamiento de alimentos, puede ser encontrado en productos con altos contenidos de amilosa o ricos en lípidos, especialmente, después de un tratamiento térmico. (Öztürk y Mutlu, 2019; Raigond *et al.*, 2015)

## 1.6 Efectos en la salud por el consumo de almidón (AR) en la salud humana

Debido a las condiciones actuales y al ritmo de vida actual, aunado a las condiciones de trabajo, la población mexicana se ha visto forzada a cambiar sus hábitos alimenticios. Lo que ha dado como resultado el mayor consumo de alimentos con alto contenido calórico y además de una disminución importante en la actividad física. Dichos factores han tenido un impacto negativo en la salud, como obesidad y el desarrollo de padecimientos crónicos no transmisibles (ENT), principalmente diabetes y enfermedades cardiovasculares (ENSANUT, 2018).

Para 2019 en el estado de Querétaro se reportó que el 70% de la población adulta padece obesidad, mientras que cerca del 30 % de la población infantil (5-12 años) padecían de sobrepeso y obesidad (Pérez-Herrera y Cruz-López, 2019; Vázquez-Morales *et al.*, 2019; Pérez-Herrera y Cruz-López, 2019; Vázquez-Morales *et al.*, 2019). Debido a los altos porcentajes de obesidad en el estado, se requieren alternativas alimenticias que permitan satisfacer la necesidad de alimentación y aporten un efecto benéfico a la salud.

Se ha visto que la presencia de complejos de almidón-lípidos son resistentes a la hidrólisis enzimática del tracto gastrointestinal, por lo que se le denomina AR tipo 5 y al ser un almidón resistente, su consumo se asocia a diversos efectos benéficos a la salud (Fuentes-Barría *et al.*, 2018). Sin embargo, no se ha comprobado el efecto que tiene el consumo de AR tipo 5, por lo que se requiere hacer estudios que permitan conocer sus efectos, así como su fermentación en una vez que llega al colon (Öztürk y Mutlu, 2019)..

Se ha demostrado que el consumo de AR es capaz de aumentar la saciedad, mejorar la salud intestinal (Öztürk y Mutlu, 2019). Dentro de los pocos análisis realizados en este tema, se ha visto, mediante un meta análisis, que un consumo constante en adultos con sobrepeso y diabetes, puede ayudar a la reducción de insulina en ayunas, así como la glucosa (Martinez *et al.*, 2019; Martinez *et al.*, 2019). Sin embargo, los efectos pueden variar de acuerdo con las variaciones en cada individuo, por lo que aún se requieren estudios que puedan confirmar tales efectos (Wang *et al.*, 2019). Por otro lado, también se ha observado mediante metaanálisis, resultados significativos para triacilglicéridos y el peso corporal estuvieron fuertemente influenciados por los resultados de un pequeño número de estudios, cuyos hallazgos contradecían los de la mayoría de los otros ensayos. Tales inconsistencias se pueden asociar a los diferentes metodologías utilizadas, así como la variación en cada uno de los individuos que formaron parte de los estudios (Snelson *et al.*, 2019).

Además se ha visto que puede reducir la acumulación de grasa, mejorar de la sensibilidad a la insulina, así como la regulación en la glicemia, lo que genera un mejor control del metabolismo lipídico (Fuentes-Barría *et al.*, 2018). También ha mostrado tener un impacto en el mejoramiento en el metabolismo del colesterol y la reducción del riesgo de colitis irritable y el desarrollo de cáncer de colon (Zaman y Sarbini, 2015).

Uno de los principales efectos, es su papel como prebiótico, en el cual se ha visto que tiene un efecto benéfico sobre microbiota presente en el colon (Fuentes-Barría *et al.*, 2018). Dicho efecto, se atribuye a las propiedades fisicoquímicas que poseen los almidón es que les permiten llegar al colon y ser fermentados por bacterias como *Bifidobacterium*, produciendo ácidos grasos de cadena corta como los ácido: butírico, propiónico y acético como parte de su crecimiento, además de la producción de gases como CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y H<sub>2</sub> (Tacer-Caba y Nilufer-Erdil, 2019).

El aprovechamiento del almidón por cepas de *Bifidobacterium*, en presencia de diferentes fuentes del carbohidrato como trigo, papa y chícharos, se ha mencionado que proviene de AR tipo 3 (Fuentes-Barría *et al.*, 2018). El cual es asociado con las modificaciones térmicas (después de su cocción), del al AR tipo 1 y 2 que se encuentran de manera natural, en dichos alimentos (Fässler *et al.*, 2007; Öztürk and Mutlu, 2018.; Fässler *et al.*, 2007; Öztürk and Mutlu, 2018). Se ha determinado que cereales como el trigo son una mejor fuente para la obtención de almidón resistente, en comparación a papa y chícharos, ya que aumenta la producción de ácidos grasos de cadena corta, lo que también provoca la disminución de bacterias patógenas al disminuir el pH del intestino grueso (Öztürk y Mutlu 2019).

Por otro lado, la absorción en el intestino y fermentación en el colon del complejo almidón-lípido, aún no se tiene clara, ya que como se ha descrito, que, al ser un almidón resistente, provee al organismo los beneficios. Sin embargo, la fracción grasa o el ácido graso con el que es acompañado este almidón no se sabe cuál es la función en el organismo o bien si es capaz de absorberse, ya que dentro de la literatura no se ha evaluado la fermentación del complejo almidón-lípido y únicamente se ha limitado el conocimiento a sugerir que, al ser usado un ácido graso de cadena larga (12-18 carbonos), este puede ser desechado en las heces, dando al organismo los beneficios de un AR (Niot *et al.*, 2009).. Por lo cual es necesario conocer de manera certera lo que sucede en el colon, tras el consumo de AR tipo 5 y el efecto que tiene el ácido graso una vez que llega al colón.

También se ha informado que la formación de AR tipo 5, es capaz de disminuir el índice glucémico, en alimentos que de manera tradicional son de alto aporte calórico, como son los tamales. Mariscal-Moreno *et al.*, (2017) reportaron que durante la elaboración del tamal usando un proceso de nixtamalización ecológica, se forman complejos almidón-lípido, lo que genera el incremento de almidón resistente. Por lo que, al consumirse, presenta un menor índice glucémico. Sin embargo, durante la nixtamalización, además de la formación de AR tipo 5, también puede existir la formación de AR tipo 3 y 4, aunado a los cambios que pueden existir en el contenido de fibra en un alimento nixtamalizado, por lo cual, se requiere hacer una distinción, sobre el tipo de AR que es capaz de generar

tal efecto benéfico. (Acosta-Estrada *et al.*, 2014)(Acosta-Estrada *et al.*, 2014)(Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

En ese sentido, la aplicación de estos complejos de AR tipo 5, además de estar dirigida a la mejora de las propiedades tecno funcionales de los alimentos, puede ser enfocada a la elaboración de alimentos de lenta digestión, es decir, alimentos que puedan dificultar la accesibilidad a las enzimas de digestión y pueda existir una liberación atenuada de glucosa en la sangre (Priebe *et al.*, 2017)(Priebe *et al.*, 2017), como pueden ser pan con almidones modificados, alimentos extruidos, entre otros. Otra alternativa, puede ser el incremento del contenido de almidón resistente, para que puedan tener un efecto en la respuesta postprandial, al reducir el índice glucémico, lo cual ayuda a la inclusión de alimentos en la dieta, con sabor agradable y con un efecto benéfico a la salud.

Dadas las evidencias mostradas en el consumo de AR y debido a los requerimientos nutricionales actuales de la población son necesarias alternativas saludables, que brinden saciedad y además puedan contribuir con la buena nutrición, para minimizar la incidencia y prevención de obesidad por el consumo de alimentos con altos contenidos calóricos, así como la prevención de enfermedades asociadas al sobrepeso como padecimientos cardiovasculares ETN, incluyendo los desórdenes de glucosa y diabetes mellitus tipo 2 (Tacer-Caba y Nilufer-Erdil, 2019). Por lo que, se requieren estudios sobre la digestibilidad y la evaluación en el impacto del consumo de alimentos desarrollados con AR para corroborar los beneficios de tales alimentos, para proveer a la población de mayores alternativas de alimentos funcionales, que contribuyan con un buen estado nutricional.

## **1.7 Usos del almidón resistente (AR) en la industria alimentaria**

El AR, como su nombre lo indica es resistente a la digestión, por lo que, desde el punto de vista nutricional, puede funcionar principalmente como una fibra dietaria, además, una de las ventajas de este tipo de almidón son propiedades tecnofuncionales, por lo que se ha convertido en un excelente ingrediente en la industria alimentaria (Fuentes-



Zaragoza *et al.*, 2010). Debido a que puede integrarse fácilmente ya que posee un tamaño de partícula pequeño, un sabor blando, es decir que no es perceptible por las papilas gustativas (Chen *et al.*, 2017) y color blanco. También es capaz de mejorar características organolépticas como la textura, apariencia y/o incrementar la crujencia del producto final, lo que permite que pueda ser adicionado a múltiples matrices alimentarias (Fuentes-Zaragoza *et al.*, 2010; Walsh *et al.*, 2022).

Uno de los principales usos es incrementar el contenido de fibra en los alimentos que tienen como principal ingrediente al almidón o bien productos hechos a base de cereales, como pan, pastas y refrigerios o botanas. Así como mejorar sus características nutrimentales (Öztürk y Mutlu, 2019b), ya que puede ser incorporado a alimentos libres de gluten, de baja ingesta calórica y así evitar el uso de productos de origen animal (Walsh *et al.*, 2022).

Por lo que la versatilidad del AR permite satisfacer las necesidades actuales en la industria alimentaria. Dentro de las tendencias actuales, también se ha encontrado como un excelente ingrediente en la elaboración de productos lácteos y cárnicos o bien en el desarrollo de productos análogos a estos (Öztürk y Mutlu, 2019b)

En el caso de los productos lácteos se ha visto que el remplazo de grasa, por almidón resistente, ya es capaz de incrementar la absorción de agua y en consecuencia mejorar textura y el contenido de fibra del producto final (Duggan *et al.*, 2008). Para los productos cárnicos se ha encontrado que puede utilizarse en la elaboración de embutidos más saludables, como salchichas. En ese sentido dos Santos Alves *et al.*, (2016) encontraron que la adición de 20% de almidón resistente, en la formulación de salchichas con carne de puerco, permite la disminución de grasa total y el incremento en el contenido de fibra y no se observaron diferencias significativas en las características sensoriales como color, textura y sabor, respecto a una salchicha tradicional.

Los usos en la industria alimentaria del AR mencionados anteriormente lo posicionan como un excelente ingrediente además de destacar su versatilidad. Sin embargo, las

propiedades tecnofuncionales de este ingrediente, permite que también pueda utilizarse como ingrediente en la elaboración de películas y recubrimientos con base de almidón como alternativas al plástico. Esto debido a que el almidón es un polímero natural renovable, que al ser mezclado con proteínas y lípidos hidrofóbicos, permite la obtención de películas delgadas que reduce la migración del agua del alimento al ambiente, el intercambio de gases, así como disminuir la velocidad de las reacciones de oxidación (Öztürk y Mutlu, 2019b), lo cual contribuye a las demandas de la industria alimentaria y ambientales actuales .

## **1.8 Almidón resistente (AR) tipo 5**

El AR tipo 5, se considera un complejo que se forma mediante la interacción de la molécula de amilosa y una cadena de ácido graso. Esto debido a que los ácidos grasos tienen una cabeza hidrófoba que promueve la unión con las cadenas de amilosa en un medio acuoso, debido al carácter hidrofóbico que posee el interior de la hélice de amilosa (Tufvesson *et al.*, 2003).

El complejo de inclusión fue reportado por primera vez por el científico Katz y van Itallie en 1930, después de realizar una cocción del almidón en agua. En donde obtuvieron un tipo de masa, la cual sometieron a un estudio en difracción de rayos X y observaron que la masa, mostraba un patrón de rayos X diferente a los reportados para el tipo-A, B y C, por lo cual lo denominaron patrón tipo-V, publicando su hallazgo en 1930. El nombre dado al complejo, proviene de la palabra alemana “Verkleisterter starke”, que significa “almidón gelatinizado fuerte” (Pérez y Bertoft, 2010). El complejo generó gran interés en la comunidad científica, para tratar de entender cómo la amilosa es capaz de formar complejos durante el procesamiento de alimento, sin embargo, no se tiene claro las condiciones necesarias para que puedan formarse este almidón resistente.

Cervantes-Ramírez *et al.*, (2020) reportaron la formación de complejos de inclusión almidón-lípidos, mediante extrusión. Los autores usaron diferentes concentraciones de lípido (5 y 10%) y diferentes tipos de lípidos, para conocer el efecto de la concentración

y el tipo de lípido. Reportaron la formación de complejos de inclusión, mediante análisis térmico, sin embargo, en el estudio se menciona que, desde el punto de vista cristalográfico, el patrón de difracción de rayos X de un AR 5 se asocia a la presencia de picos en 3°, 13° y 20°. No obstante, los picos en 13° y 20°, corresponden a los planos de difracción (111) y (201) para una estructura hexagonal en una escala  $2\theta$ , es decir un patrón de almidón tipo B y la aparición del pico 3° correspondiente al plano difractado 300 del ácido graso, en este caso referente al ácido estérico en la escala  $2\theta$ , como se puede observar en la [Figura 10](#).

Por lo que, no existe un nuevo pico sino un corrimiento de los picos 13° y 20°, por efecto del trabajo mecánico. Lo que sugiere que existe una interacción entre el almidón y el ácido graso, pero de manera cristalográfica, solo es posible observar la posible formación de lamelas y no una nueva estructura cristalina (Rodríguez-García *et al.*, 2021). Las recientes evidencias, muestran que es necesario un estudio estructural más profundo en la identificación de complejos de inclusión de almidón-ácidos grasos.

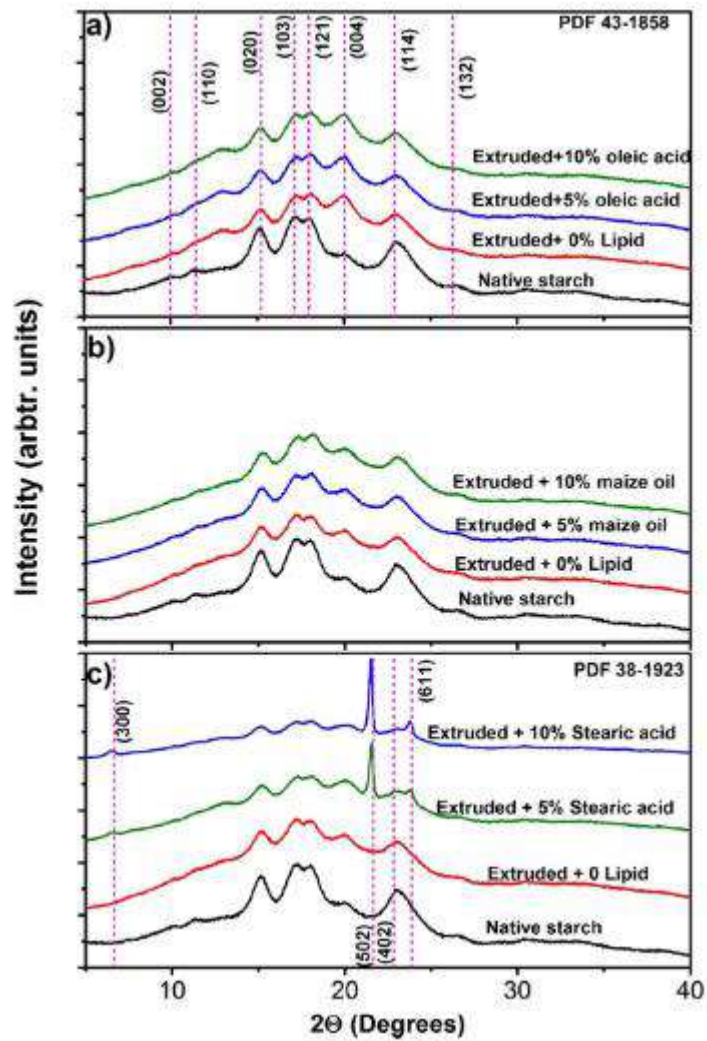


Figura 10. Patrón de difracción de rayos X de complejos de almidón-lípido (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020)

### 1.9 Propiedades tecnofuncionales del almidón resistente (AR) tipo 5

Uno de los intereses principales del almidón resistente, es la funcionalidad tecnológica que posee, debido a sus características como: su origen natural, coloración blanca, no aporta sabor al alimento; además que presenta altas temperaturas de gelatinización y la capacidad de la formar geles (Fuentes-Zaragoza *et al.*, 2010; Öztürk y Mutlu, 2018). Lo anterior permiten que el AR pueda ser aplicado ampliamente en la industria alimentaria como ingrediente, además de proveer un beneficio a la salud. Por ello, es necesario generar conocimiento sobre las fuentes de obtención de AR y específicamente el AR tipo 5 (Öztürk y Mutlu 2019).

Dentro de las propiedades tecno funcionales que se han reportado para el AR tipo 5, se ha visto un efecto en la solubilidad del almidón, debido a que la inclusión del complejo almidón-lípido, puede inhibir la capacidad de formación de enlaces del almidón con las moléculas de agua, esto debido a que los complejos llegan a formar una capa protectora del gránulo, impidiendo que este pueda interactuar con el agua dentro del medio (Wang, 2020).

La disminución en la solubilidad del almidón puede tener efectos en la gelatinización, ya que, al formar una capa protectora alrededor del gránulo, se requiera mayor energía para llevar a cabo la gelatinización, es decir que pueda existir una disrupción en el grano del almidón y pueda llegar formar un gel. Por ello, la temperatura de gelatinización es mayor al agregar un complejo de almidón-lípido en la elaboración de alimentos (Chang *et al.*, 2013).

Por otro lado, también se ha visto que la inclusión de estos complejos tiene un efecto en la viscosidad, ya que al estar presentes estos complejos de almidón-lípidos dentro de una matriz alimentaria, pueden actuar como zonas de unión en la formación de geles, por lo tanto, forman un gel más fuerte y en consecuencia existe un aumento en la viscosidad (Putseys *et al.*, 2010).. Esto se debe a la red intergranular, compuesta de complejos de inclusión de amilosa-lípidos, proporciona enlaces cruzados entre las biomoléculas de los gránulos de almidón, lo que aumenta la gelificación y la viscosidad (Putseys *et al.*, 2010).

Otra de las propiedades tecno funcionales que se han reportado, es la inhibición de la retrogradación, esto debido a la que la formación de complejos almidón-lípido que una competencia de las moléculas de amilosa entre retrogradarse o formar complejos con los lípidos presentes en la matriz de un alimento (Wang, 2020). Se ha reportado que la amilosa forma complejos con los lípidos dentro de la matriz, sin embargo, la formación de los complejos de inclusión está en función del tipo de ácido graso (Okumus *et al.*, 2018) y del largo de la cadena de amilosa (Hu *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2020; Luo *et al.*, 2020).

En ese sentido se ha observado que la formación de un complejo amilosa-lípido dentro de una matriz alimentaria específica, puede generar también un cambio en su textura y apariencia (Lee *et al.*, 2020) . En la elaboración de tortillas de maíz, se observó que la presencia de complejos almidón-lípido, formados a través de un proceso de templado, es capaz de mejorar la textura en tortillas y evitar la retrogradación (Mariscal-Moreno *et al.*, 2019). Se ha reportado que la formación de complejos de inclusión en la elaboración de pan de caja, puede tener efectos en el tamaño de la miga, siendo ligeramente mayor y en consecuencia un pan con textura más suave (Lee *et al.*, 2020). Debido a lo anterior, aún se requieren estudios más puntuales que permitan conocer el ácido graso adecuado, así como el largo de cadena de la amilosa que permita la formación de complejos de inclusión, que puedan ser utilizados en la inclusión en una matriz alimentaria específica.

### **1.10 Factores que afectan la formación de almidón resistente (AR) tipo 5 (complejos almidón-lípido)**

Los principales factores que afectan la formación del complejo de almidón-lípido son: el contenido de amilosa (Wang *et al.*, 2020), contenido de agua (Putseys *et al.*, 2010), tiempo y temperatura de procesamiento (Okumus *et al.*, 2018; Tufvesson *et al.*, 2003) y tipo de ácido graso (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020; Chao *et al.*, 2018; Lau *et al.*, 2016).

La formación del complejo de almidón-lípido, está dado principalmente por las características que presenta la molécula en forma de hélice de la amilosa (Chao *et al.*,

2018). Esto debido a su carácter hidrofóbico que permite la interacción con otras moléculas hidrofóbicas, como los ácidos grasos libres, debido a dicha afinidad hidrofóbica que poseen tienden a formar los complejos de inclusión (Wang *et al.*, 2020).

El contenido de amilosa es uno de los factores principales en la formación de complejos. Esto debido a que se ha visto que un mayor contenido de amilosa en el almidón presenta un mayor rendimiento en la formación de complejos de AR tipo 5 y de manera contraria un menor contenido de amilosa reduce el rendimiento de formación de AR-5 (Chao *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2020).

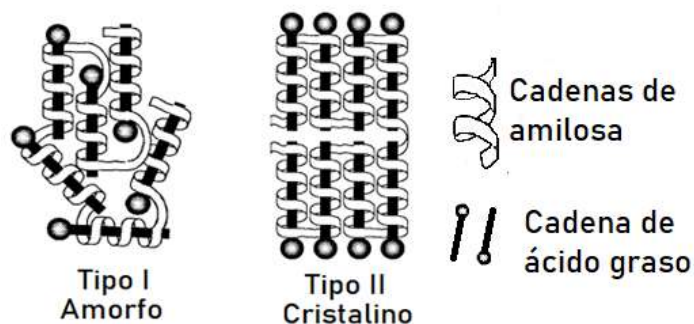
El tipo de procesamiento influye en la formación de complejos, ya que durante el proceso de gelatinización, las cadenas de amilosa y amilopectina son dextrinizadas, lo que contribuye con formación helicoidal (Bertoft, 2018). Cuando las cadenas se reducen a pequeños fragmentos de amilosa (100Da), permite que sea más fácil la interacción con otros compuestos, asociado principalmente a un menor impedimento estérico, por ello los complejos se forman en mayor proporción con moléculas de amilosa dispersas en el medio acuoso (Wang *et al.*, 2015).

Sin embargo, se ha reportado recientemente que los complejos no necesariamente están relacionados con el contenido de amilosa del almidón. Esto debido a que se observó que el fraccionamiento de almidón rico en amilopectina, mediante un proceso enzimático, lo que ocasiona la des-ramificación, por lo tanto forma fragmentos de distinto peso molecular (Hu *et al.*, 2020), así como la abertura de la hélice de dichos fragmentos son factores que tienen un papel importante en la formación de complejos almidón-lípidos. Sin embargo, en los reportes no se menciona si dichos complejos pueden ser resistentes a la digestión, así como las propiedades tecno funcionales que puedan impartir en una matriz alimentaria.

Otro de los factores importantes en la formación de complejos almidón-lípido es la temperatura de procesamiento, por ejemplo: Tufvesson *et al.*, (2003) reportaron que la

formación de complejos amilosa-lípidos que de acuerdo con el tiempo y temperatura se pueden obtener dos tipos de complejos, los cuales se han clasificado en tipo I o tipo II (Figura 11).

Esta clasificación se dio en función de su estructura del complejo formado, para el tipo I, se determinó que era amorfa y tipo II una forma cristalina (Figura 11). El tipo de complejo también depende de la longitud de la cadena del monoglicérido y del tiempo de calentamiento, ya que una cadena corta del monoglicérido, a una temperatura alrededor de los 100°C es capaz formar un complejo tipo II. Lo anterior puede asociarse a que una menor longitud de la cadena permita, con mayor facilidad, la formación de tales complejos, debido a que un menor tamaño, tiene menor impedimento estérico.



**Figura 11. Representación gráfica de complejos amilosa-lípidos tipo I y II**  
(Tufvesson *et al.*, 2003)

Se ha mencionado que los ácidos grasos de cadena larga requieren mayor energía, es decir, un calentamiento prolongado (24h a 100°C), para poder formar complejos. Esta diferencia hace que la formación del complejo pueda asociarse tanto al desdoblamiento de las cadenas de amilosa por el calentamiento, y a la capacidad de inserción de la cadena del ácido graso dentro de la hélice de amilosa, puesto que un mayor tamaño requerirá más tiempo y energía para lograr la formación y estabilidad del complejo (Tufvesson *et al.*, 2003).



Nishiyama *et al.*, (2010) informan que es posible la formación de AR tipo 5, mediante tratamientos térmicos, a temperaturas mayores a 100°C. En dicho estudio, los autores explican que la formación de complejos es provocada por la gelatinización del almidón, la cual permite la abertura de la doble hélice de las cadenas de amilosa o bien la fragmentación de las moléculas de amilopectina, lo que permiten la interacción con las cadenas lipídicas y por ende la formación de complejos amilosa-lípidos.

Lo anterior, indica que es necesaria una temperatura, que promueva la formación de los complejos, así como el proceso de enfriamiento, promoverá la formación de tales complejos, al llevarse a cabo la re-asociación de las hélices de amilosa (Chao *et al.*, 2018). A pesar de lo anterior no queda claro el tiempo y la temperatura de proceso que es necesaria para tener una mayor formación de complejos.

Luo *et al.*, (2020) reportaron que cadenas de amilosa pueden tener una hélice corta, es decir 6 a 8 glucosas o bien una abertura de hélice ancha, siendo mayor a 8 glucosas por giro, y dicha abertura de hélice, puede ser un factor en la formación de los complejos; ya que las hélices anchas (8 glucosas por giro) son más propensas a formar complejos con los ácidos grasos libres, en comparación de una cadena corta y estrecha (menor a 8 glucosas por giro), que, está más propensa a la re-cristalización, después de un proceso térmico.

Además, se observó que los complejos formados por las cadenas de hélice cortas de amilosa (6 a 8 glucosas por giro) son complejos del tipo II. Mostrando mayor resistencia a la digestión, debido al mayor orden de los complejos. Lo anterior, abre una oportunidad de estudio en cuanto, al diámetro y tamaño de la cadena de amilosa, que permita la mayor formación de complejos amilosa-lípidos. Los estudios anteriores muestran que los complejos de AR tipo 5, pueden formarse por métodos que estén enfocados en la desramificación del almidón y no dependan del contenido de amilosa. Lo cual sería una ventaja en la industria, debido al mayor costo que representa el uso de almidones ricos en amilosa (Luo *et al.*, 2020) Sin embargo, aún se requieren estudios sobre la caracterización de tales fragmentos, que permitan la formación del complejo almidón-lípido y además puedan ser resistentes a la digestión.

Otro método de procesamiento que se ha reportado, son los ciclos de calentamiento y enfriamiento, con el fin de aumentar la retrogradación del almidón, y posteriormente, los ácidos grasos pueden insertarse en la estructura semi-helicoidal, dando como resultado un almidón tipo 5, con complejos altamente ordenados (Chao *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2017).

Por otro lado, Santiago-Ramos *et al.*, (2015) mostraron que, durante el proceso de templado, que se tiene en la nixtamalización, además de formarse AR tipo 3 asociado a la gelatinización del almidón y tipo 4, asociado a la interacción del almidón con el hidróxido de calcio, que forman enlaces entrecruzados. El almidón de maíz es capaz de formar complejos amilosa-lípidos (AR-5), lo cual se confirma por las propiedades térmicas y estructurales. Los mismos autores reportan que dicho proceso de templado durante la nixtamalización puede modificar el almidón mediante enlaces de entrecruzamiento con moléculas de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , sin embargo, en este caso, se tendría la formación de AR tipo 4. En dicho estudio mencionan que existió un aumento de almidón resistente, asociado con el mejoramiento de las propiedades reológicas del producto final (tortilla). Sin embargo, dicho efecto no se menciona qué tipo de AR es el responsable del efecto.

Otro de los factores importantes a considerar es el tipo de ácido graso. Se debe considerar el largo de cadena, así como la insaturación del ácido graso. Los ácidos grasos de 8 a 12 carbonos pueden llegar a tener hasta un rendimiento mayor al 90% en la formación de complejos de almidón-lípidos, en comparación con ácidos grasos de cadenas más largas de 14 a 18 carbonos (Chao *et al.*, 2018). Lo anterior se atribuye a la formación de los complejos, es debido a que los ácidos grasos cortos favorecen su inclusión en la hélice de amilosa, (Chao *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2017).

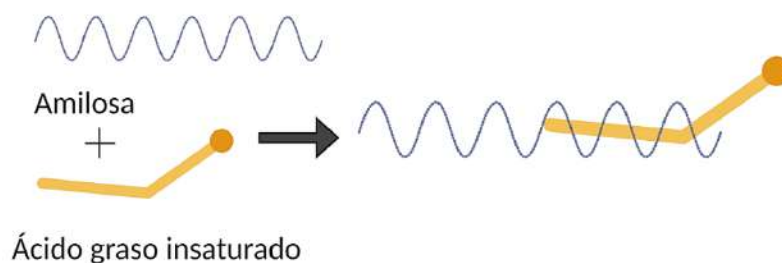
Por otra parte, Sun *et al.*, (2021) reportan el efecto de la longitud de cadena e insaturación del ácido graso, mencionan que existe una mayor estabilidad de complejos formados con almidón de maíz, si son utilizados ácidos grasos con un largo de cadena de 14 a 16 carbonos, lo cual provee una mayor resistencia a la digestión. Mientras que, el uso de ácidos grasos de cadenas más cortas de 10 a 12 carbonos, mostraron tener un mayor porcentaje de almidón de lenta digestión. Sin embargo, la digestión se realizó

únicamente por un método enzimático, sin dar seguimiento a lo que ocurre con el almidón y el ácido graso en el colon.

El grado de insaturación de los ácidos grasos ha mostrado presentar mayor resistencia a la digestión, en comparación con los saturados, pero se destaca que los ácidos grasos saturados son capaces de formar interacciones más fuertes con el almidón de maíz (Wang *et al.*, 2020).

Tales evidencias abren nuevas oportunidades de estudio en el área de alimentos, que permita la integración de ácidos grasos en una matriz alimentaria rica en almidón, para la formación de complejos que puedan proveer una resistencia a la digestión, sin embargo, aún se requiere conocer el tamaño de los fragmentos de almidón que puedan incrementar el contenido de AR tipo 5. Así como las propiedades estructurales que permitan su inclusión en una matriz alimentaria específica. Lo cual permitiría la elaboración de alimentos con parte grasa y evitar los efectos negativos del consumo de ácidos grasos saturados. Tienes oraciones muy largas que parecen párrafos.

El grado de insaturación también es un aspecto importante, ya que las insaturaciones proveen una ligera torsión en la estructura del ácido graso, lo cual crea un impedimento estérico para que la hélice de amilosa pueda envolver al ácido graso insaturado, como se muestra en la [Figura 12](#) (Putseys *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2020).



**Figura 12. Formación de un complejo de inclusión de amilosa-ácido graso insaturado** (elaboración propia)

Los efectos de la incorporación de diversos ácidos grasos en matrices alimentarias para la formación de complejos, han mostrado mejores resultados con ácidos grasos

saturados como ácido esteárico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico (Lesmes *et al.*, 2009; Okumus *et al.*, 2018).

Cervantes-Ramírez *et al.*, (2020) reportaron el uso de la extrusión para la formación de complejos de almidón-lípido. Los autores usaron almidón de maíz, así como ácido esteárico y oleico además de aceite de maíz. Los resultados mostraron mediante calorimetría diferencial de barrido la formación de complejos mayor en el ácido esteárico y ácido oleico, sin embargo, no se formó al usar aceite de maíz. Lo cual es evidencia de que la formación de AR-5 se favorece con ácidos grasos saturados. Sin embargo, los autores no cuantificaron el contenido de AR-5.

Todo lo anterior abre una ventana para seguir investigando los factores que contribuyen con la formación de AR-5, así como evaluar sus propiedades tecno funcionales y nutricionales. Además, es importante destacar que a pesar de los estudios que se han hecho en el tema, no se ha llegado a un consenso sobre los ácidos grasos que deban ser utilizados en la formación de complejos de inclusión. Sun *et al.*, (2021) (el 2021 ya no es reciente) observaron el efecto de la longitud de cadena e insaturación del ácido graso, en dicho estudio mostró que existe una mayor estabilidad de complejos formados con almidón de maíz, al utilizar ácidos grasos con un largo de cadena de 14 a 16 carbonos, lo cual provee una mayor resistencia a la digestión. Mientras que, el uso de ácidos grasos de cadenas más cortas de 10 a 12 carbonos, mostraron tener un almidón de lenta digestión. El efecto en el grado de insaturación es determinante, ya que los ácidos grasos insaturados muestran mayor resistencia a la digestión, en comparación con los saturados.

Tales evidencias abren nuevas oportunidades de estudio en el área de alimentos, que permita la integración de ácidos grasos en una matriz alimentaria rica en almidón, para la formación de complejos que puedan proveer una resistencia a la digestión, sin embargo, aún se requiere conocer el tamaño de los fragmentos de almidón que puedan incrementar la formación de AR tipo 5, así como las propiedades estructurales que permitan su inclusión en una matriz alimentaria específica. Lo cual permitiría la

elaboración de alimentos con parte grasa y evitar los efectos negativos del consumo de ácidos grasos saturados.

### **1.11 Tecnologías emergentes**

Se define como tecnología emergente a todas las tecnologías que son métodos alternativos o algunas veces complementarios a los métodos tradicionales en el procesamiento y/o conservación de alimentos.

Estas tecnologías tienen como objetivo realizar el procesamiento y/o conservación del alimento de manera más eficiente: menor consumo de energía que los tratamientos térmicos tradicionales, más uniforme, más rápido y menos agresivo para el producto (Butz y Tauscher, 2002; Castro-Muñoz, 2023).

#### **1.11.1 Extrusión**

En los últimos años, la ciencia de alimentos a buscado alternativas para el procesamiento de alimentos que sean adecuadas para la conservación de estos, la elaboración de ingredientes y que a su vez puedan tener un efecto benéfico en las propiedades funcionales y tecnofuncionales (Butz y Tauscher, 2002; Castro-Muñoz, 2023). Lo anterior debido al aumento de la población y en consecuencia el aumento en la demanda, que la producción mundial no puede abastecer a causa de la escasez generadas por el calentamiento global y todos los retos que este representa para producción mundial de alimentos (Galanakis, 2021).

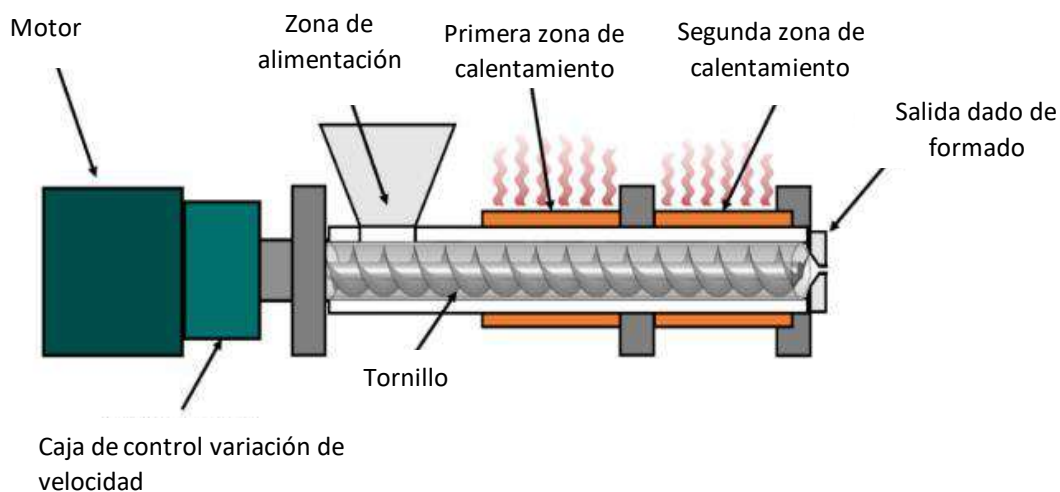
En ese sentido la ciencia de los alimentos ha tomado mano de las tecnologías emergentes para el procesamiento de alimentos, dentro de sus diferentes áreas, esto con el fin de disminuir el desperdicio, proceso de alimentos, así como la innovación en la formulación de alimentos e ingredientes. En el caso de los nuevos ingredientes se tiene un mayor reto, ya que es preciso que tales ingredientes puedan ser ampliamente utilizados en la industria, tengan una etiqueta limpia, así como proveer de beneficios a

la salud a los consumidores. Es por ello, que la elaboración de un ingrediente tan versátil como puede ser el alimón resistente tipo 5 usando tecnologías emergentes, puede ser una solución a dicho problema. Sin embargo, se requiere el estudio de las tecnologías adecuadas para su elaboración, así como las condiciones requeridas para ello.

Actualmente la comunidad científica ha innovado grandemente en dicha área, ya que se ha visto que una alternativa para el procesamiento de almidón y elaboración de ARes la extrusión y el calentamiento óhmico (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020; Morales-Sánchez *et al.*, 2023), ya que ambas tecnologías permiten la disminución del uso de agua durante el procesamiento, así como evitar el uso de agentes químicos y finalmente reducir los tiempos de procesamiento. Sin embargo, aún es necesario evaluar como influyen las condiciones de procesamiento de cada tecnología sobre la formación del ARtipo 5.

El proceso de extrusión es un proceso continuo y dinámico sumamente eficiente, ya que está compuesto de varias operaciones unitarias, como el mezclado, transporte, calentamiento y formado del producto. Dada la eficiencia que tiene el proceso de extrusión, es utilizado ampliamente en la industria de los alimentos, en donde ha mostrado ser un método efectivo para mejorar la accesibilidad de las proteínas, así como mejorar la digestibilidad del almidón, además de inactivar/eliminar compuestos antinutricios o bien liberar compuestos funcionales dentro de la matriz alimentaria (Ajita y Jha, 2017).

Debido a la complejidad del proceso y la infraestructura del equipo (Figura 13), se requiere el control de varios factores, como el volumen del alimento a procesar, la temperatura, velocidad de tornillo y el tipo de dado formado, además del tamaño de partícula y humedad que se usa durante el procesamiento de los alimentos (Šárka y Dvořáček, 2017). Por lo que, que uno de los factores más importantes es la configuración del tornillo, ya que es donde se llevará a cabo el cizallamiento de la muestra, permanencia y calentamiento de la misma, sin embargo, la configuración de las variables es determinante en el producto final (Panyoo y Emmambux, 2019).



**Figura 13. Diagrama de la estructura del equipo de extrusión** (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020).

Por otro lado, el proceso de extrusión ha mostrado gran eficacia en el procesamiento de alimentos a base almidones, ya que se ha visto que es capaz de fraccionar el almidón y asimismo llevar a cabo la gelatinización de éste. La temperatura y trabajo mecánico genera el rompimiento de los gránulos de almidón y liberar las moléculas de amilosa y amilopectinas causando la dextrinización de ambas moléculas (Šárka y Dvořáček, 2017). Tal fenómeno permite que las fracciones de almidón, formadas por el cizallamiento y a su vez la temperatura durante el proceso de extrusión, puedan interactuar con otros compuestos, como ácidos grasos libres permitiendo la formación de complejos almidón-lípido (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020).

Además de una despolimerización de la amilopectina, puede generar fragmentos de amilosa de menor peso molecular, así como la exposición de los grupos -OH, lo que puede ser un factor determinante para la interacción con otras moléculas presentes en el medio o bien con ácidos grasos. La extrusión ha sido usada para obtener almidones modificados químicamente como lo son almidones fosfatados, lo que permite aumentar el contenido de ARTipo IV (Escobar-Puentes *et al.*, 2019).

A pesar de que el proceso de extrusión, ha demostrado la capacidad para obtener AR con agentes químicos, la tendencia en la industria de los alimentos es obtener productos más naturales, sin el uso de agentes químicos (Panyoo y Emmambux, 2019).

Por lo que, es necesario evaluar el efecto de las variables de procesamiento en la formación de complejos de AR tipo 5, a través del proceso de extrusión. Por otro lado, es también necesario estudiar si tales complejos pueden obtenerse con fuentes de almidón que no sean ricos en amilosa. Es decir, evaluar el efecto del cizallamiento, fragmentos más pequeños para que puedan interaccionar con ácidos grasos libres. Así como también el efecto que puede tener en la salud humana el consumo de estos complejos o bien su efecto en su inclusión en matrices alimentarias. Lo anterior, con el fin de que los complejos formados puedan utilizarse eficazmente en la industria de los alimentos, para la elaboración de alimentos funcionales y entender los efectos benéficos a la salud al ser consumidos.

### **1.11.2 Calentamiento óhmico**

El calentamiento óhmico es una tecnología de calor estático, en alimentos, dada por el uso de electrodos que están en contacto con el alimento, tales electrodos son capaces de conducir energía eléctrica directa al alimento, generando calor de manera interna en el alimento, debido a la resistencia eléctrica, cuando la corriente eléctrica pasa a través de dicho alimento (Kaur y Singh, 2016).

Es decir, que el calentamiento óhmico se basa en la resistencia del material al campo eléctrico, por lo que es importante tener en consideración las variables del proceso, las cuales están divididas en dos secciones, factores del proceso y factores del material. Los factores de proceso son: intensidad del campo eléctrico, temperatura, tiempo de residencia, tipo de proceso, tipo de celda y tipo de electrodo; mientras que los factores de material son: composición química del alimento, tamaño de partícula, viscosidad, conductividad eléctrica del alimento (Li *et al.*, 2004; Morales-Sanchez *et al.*, 2009).



Para el uso de calentamiento óhmico en alimentos, la conducción de la energía eléctrica está en función de la cantidad de agua y electrolitos contenidos en los alimentos, que permiten el paso de la corriente eléctrica a través del alimento de tal manera que genera un calentamiento interno en el alimento, por lo que no depende de la transferencia de calor a través de un sistema sólido-líquido, además de que el calentamiento ha mostrado ser altamente eficiente, debido a que ignora la transferencia térmica convencional (Indiarto y Rezaharsamto, 2020; Knirsch *et al.*, 2010).

Por ello, el calentamiento óhmico es una forma rápida y uniforme de calentamiento, dada la creación de una fluctuación del reactor de campos eléctricos y tal fluctuación incrementa el movimiento dinámico de especies cargadas y provoca momentos dipolo; por lo que la energía generada es directamente proporcional al cuadrado del área utilizada por la conductividad del material de calentamiento (Indiarto y Rezaharsamto, 2020).

El procesamiento con calentamiento óhmico tiene como principal ventaja es el tiempo de procesamiento, ya que es extremadamente rápido, y puede darse hasta en segundos. Dichas condiciones, permiten que esta tecnología de calentamiento alcance altas temperaturas en cortos tiempos, por lo que además de acortar los tiempos de procesamiento, también aumenta la calidad del producto final. Otra ventaja es el control de parámetros, lo cual permite que el procesamiento sea además de rápido, sea preciso (Knirsch *et al.*, 2010).

Debido a las ventajas que el uso del calentamiento óhmico presenta, se ha utilizado en su aplicación en almidones puede generar cambios en sus propiedades térmicas, así como de viscosidad y digestibilidad, ya que el calentamiento óhmico en almidones genera una pérdida del orden molecular, lo que da lugar a una rápida gelatinización y a su vez tiene un efecto en las interacciones con otros componentes como lípidos y proteínas (Kaur y Singh, 2016).

Recientemente se ha estudiado el efecto del calentamiento óhmico en almidón de maíz con diferentes porcentajes de amilosa, en dichos estudios se ha visto que el calentamiento óhmico es capaz de generar la gelatinización del almidón y además modificar sus propiedades tecnofuncionales (Castro-Campos *et al.*, 2023; Morales-Sánchez *et al.*, 2023). Para el almidón de maíz con 30% de amilosa (aproximadamente), pudo observarse que un factor determinante es la proporción de agua que se utiliza para el procesamiento.

Esto se debe principalmente a que el almidón de maíz es un material no conductor, por lo que, al someterlo a un tratamiento con calentamiento óhmico, el agua funge como conductor de energía, por lo que la proporción de este elemento será determinante para la modificación en las propiedades tecnofuncionales del almidón, como la viscosidad, el grado de absorción de agua y solubilidad. Dentro de las principales modificaciones en el almidón se ha encontrado la hidrólisis, la cual, posteriormente, da lugar a un reordenamiento de las moléculas del almidón (Morales-Sánchez *et al.*, 2023) que a su vez puede generar un incremento en el contenido de almidón resistente. Sin embargo, en el almidón de maíz aún no se ha explorado este punto.

Por otro lado, en un almidón alto en amilosa se ha visto que es tratamiento con calentamiento óhmico, también es capaz de modificar sus propiedades tecnofuncionales como la viscosidad y el contenido de almidón resistente. Sin embargo, es importante destacar que la modificación que cada uno de los almidones sufre al tratarse con calentamiento óhmico está en función de las características químicas y estructurales de cada uno de ellos.

En el caso de un almidón alto en amilosa (70%), el tratamiento con calentamiento óhmico es capaz de modificar su microestructura, ya que esta es más compacta en comparación de un almidón con 30% de amilosa, por lo que la energía requerida para su modificación es mayor, siendo que su temperatura de gelatinización se alcanza hasta los 160°C, por lo que con tratamientos convencionales no se puede llegar a tal temperatura, en cambio el uso de calentamiento óhmico es posible lograr dicha temperatura en un sistema controlado, finalmente se observó que la modificación en su microestructura si tiene un efecto en el contenido de AR (Castro-Campos *et al.*, 2023).

De acuerdo con los hallazgos anteriores, se conoce que uso de calentamiento óhmico puede tener un impacto en la estructura y en la funcionalidad del almidón de maíz, por lo que se puede inferir que es posible el uso de esta tecnología sea factible para la obtención de almidón resistente, ya que se ha visto que las condiciones del calentamiento óhmico pueden generar una reorganización de las biomoléculas del almidón, lo que también puede dar lugar a interacciones del tipo almidón-almidón. Los hallazgos anteriores, son un parte del inicio de nuevos estudios de estas tecnologías para la obtención de diferentes tipos de almidón resistente, como puede ser ARtipo 5 formando interacciones del tipo almidón-lípido, sin embargo aún no se tiene información sobre el impacto de esta tecnología o bien las condiciones que se requieren para lograr dichas interacciones y estas a su vez puedan aumentar el contenido de ARtipo 5 (Kaur y Singh, 2016). Lo cual sería de gran impacto en la industria de los alimentos, ya que se trata de una tecnología eficiente, por sumamente controlada y rápida. Sin embargo, el uso de esta tecnología requiere estudios más detallados y enfocados en el impacto de esta tecnología en la formación de AR

tipo 5.

## **2 HIPÓTESIS**

La formación de complejos amilosa, amilopectina-lípido, para la obtención de AR tipo 5, se verá favorecida por la fragmentación de estos biopolímeros, mediante un proceso termo-mecánico o bien hidrólisis térmica por uso de calentamiento óhmico, así como por el tipo de ácidos grasos.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto de los parámetros del procesamiento de almidón de maíz, mediante tecnologías emergentes, como extrusión y calentamiento óhmico para obtener AR tipo 5.

#### **3.1.1 Objetivos específicos**

- Evaluar el efecto de temperatura, tiempo y el porcentaje de amilosa, en la formación de AR tipo 5 mediante un método térmico tradicional, así como determinar sus propiedades estructurales, térmicas; el contenido de almidón resistente, almidón de lenta y rápida digestión.
- Evaluar el efecto de la humedad y voltaje en la formación de AR tipo 5 al usar calentamiento óhmico y, así evaluar sus propiedades estructurales, térmica y el contenido de AR tipo 5.
- Evaluar el efecto de la humedad, temperatura y velocidad de tornillo, en la formación de AR tipo 5 al usar extrusión y, así evaluar sus propiedades estructurales, térmica y el contenido de AR tipo 5. .

## 4 MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Material biológico

En la [Figura 14](#) se muestra un esquema general de investigación. Se utilizó almidón comercial de maíz (*Globe* AA CODE: 03401037) de *Ingredion*® (Fabricante Ingredion, ciudad de México, México). Como ácido graso libre, se usó el ácido oleico (C18:1) y ácido esteárico (Sigma Aldrich).

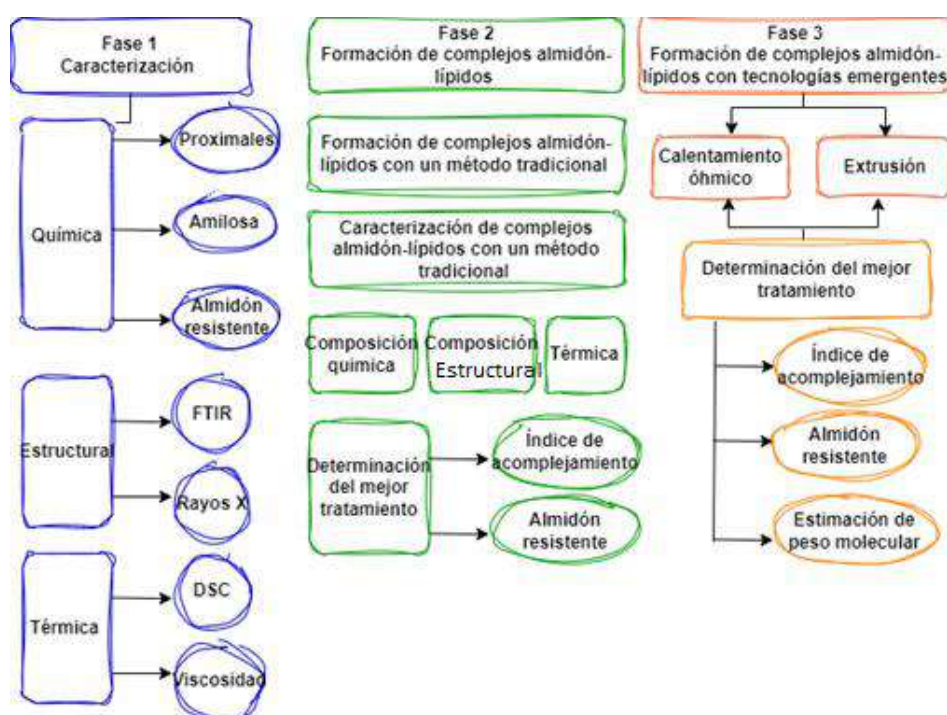


Figura 14. Esquema general de investigación, por etapas de estudio.

### 4.2 Caracterización química del almidón

El almidón fue sometido a un estudio proximal, donde se evaluó el contenido de humedad (método 44-19), cenizas (método 08-01.01), proteínas (método 46-13.01) y lípidos (método 30-25.01), de acuerdo con los métodos descritos por la AACC, (2002).

### **4.3 Determinación de amilosa y amilopectina**

Para la determinación de amilosa y amilopectina se realizó el kit K-Amyl (Megazyme International, Ltd., Wicklow, Irlanda). En el cual, se dispersó el almidón en dimetilsulfóxido (DMSO) y la adición de Con A para la precipitación de la amilopectina. Finalmente, la amilosa fue hidrolizada por amiloglucosidasa y  $\alpha$ -amilasa. Finalmente se midió la absorbancia a  $\lambda = 510$  nm, usando glucosa como estándar. El contenido de amilopectina se calculó como la resta de almidón total, menos el contenido de amilosa.

### **4.4 Determinación de almidón total**

La determinación de almidón total se realizó al almidón nativo utilizando el kit de Megazyme ® (Megazyme International Ireland, Ltd. Wicklow, Irlanda) basado en el método 76-13.01 de la AACC (AACC International, 2002).

### **4.5 Formación de complejos de almidón-lípido por un método tradicional**

Los complejos de amilosa-lípido se obtuvieron pesando 20 g de almidón de maíz disuelto en 30 mL de agua destilada. Por otro lado, se calentaron 220 mL de agua a la temperatura correspondiente (80 °C, 90 °C y ebullición), y se agregó la mezcla almidón-agua. Una vez alcanzada la temperatura, se añadió el ácido graso (ácido oleico) a una concentración del 10 % (p/p), previamente disuelto en 10 mL de etanol. La mezcla de almidón-agua-ácido graso se agitó continuamente durante (0, 15, 30 y 45 min). Por otro lado, una vez cumplido el tiempo, la mezcla se colocó en un baño de hielo para enfriar rápidamente.

La muestra obtenida se centrifugó a 9000 rpm durante 10 min para eliminar el exceso de agua. El precipitado obtenido se lavó con etanol para eliminar los ácidos grasos libres. Finalmente, las muestras se secaron a 40 °C durante 24 h. Finalmente, la muestra se molió con un molinillo de café para homogeneizar el tamaño de partícula y se almacenó en bolsas plásticas para su posterior análisis (Luo *et al.*, 2020).

#### 4.6 Formación de almidón resistente (AR) tipo 5 usando calentamiento óhmico

Se pesaron 200 g de almidón de maíz, se adicionó agua en proporción 1:1 (p/v). La mezcla se dejó reposar durante 20 min y se calentó hasta los 70 °C durante 5 min, con una agitación constante, posteriormente se agregó el ácido esteárico (10 % p/p, previamente disuelto en 10 mL de etanol. La mezcla final se colocó en un cocedor óhmico con una capacidad total de 100 g, equipado con dos electrodos de acero inoxidable en cada extremo del equipo, con celdas Nylamide (patente: MX/a/2007/016261).

Para el calentamiento óhmico, se utilizó la metodología descrita por Gaytán-Martínez *et al.*, (2012) y Ramírez-Jiménez *et al.*, (2019). El control de la temperatura se llevó a cabo por un termopar aislado tipo T ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ), mientras que el control del tiempo y temperatura se llevará a cabo a través de un controlador de rampa programable Watlow modelo 981 (Watlow Electric Manufacturing Co., St Louis, MO). Una vez obtenidas las muestras fueron secadas a 40 °C durante 12 h para ser molidas en un molino de café marca Krups de acero inoxidable (modelo GX410011V) y pasarse por una malla No. 60, para su posterior análisis. Los experimentos se realizaron con base en el diseño experimental mostrado en la [Tabla 3](#).

**Tabla 3. Diseño experimental para la formación de complejos almidón-lípido**

Tratamiento	Humedad (p/v)	Temperatura final (°C)	Variable independiente Ácido graso	Variable independiente Voltaje (V)
1	1:1	120	Sin ácido graso	100
2			Sin ácido graso	150
3			Ácido esteárico (18:0)	100
4			Ácido esteárico (18:0)	150

#### 4.7 Determinación de las propiedades eléctricas

Para conocer las propiedades eléctricas de cada muestra, se calculó la velocidad de calentamiento, como el incremento de la temperatura dividido entre el tiempo que dura el calentamiento óhmico. El potencial eléctrico o la generación de calor (P), y la conductividad eléctrica ( $\sigma$ ) se calculó usando la ecuación 1 y 2 respectivamente.

$$P = \frac{V^2}{R} = (V)(I) \quad \text{Eq. (1)}$$

$$\sigma = \frac{IL}{VA} \quad \text{Eq. (2)}$$

Donde  $\sigma$  es la conductividad eléctrica (Siemens/m); V es el voltaje eléctrico (V), I es la corriente eléctrica (Ampere); R es la resistencia eléctrica (Ohm), y es calculado como  $V/I$ ; L es la distancia entre los electrodos (m); A es el área de los electrodos ( $m^2$ ). Durante el calentamiento óhmico, el voltaje, la corriente y la temperatura fueron recolectados por una computadora en un intervalo de 2.5 s. Los experimentos se replicaron tres veces para todos los tratamientos.

#### 4.8 Obtención de almidón resistente (AR) tipo 5 mediante extrusión

La obtención de AR tipo 5, mediante extrusión se realizó a partir de 120 g de almidón de maíz a los cuales se les añadió 10% del peso del ácido esteárico, con una humedad determinada para cada tratamiento. Para ello, se colocó el 10% p/p del ácido esteárico en un vaso de precipitados, al cual se añadió el 50% del agua total. Posteriormente, se calentó hasta que lograr la fusión del ácido graso. Una vez que el ácido graso se fundió, se agregaron los 120 g de almidón de maíz y se homogenizó con una espátula durante 5 min. Pasados los 5 min se agregó el 50% del agua restante para alcanzar el porcentaje de humedad para cada tratamiento y se homogenizó por 5 min.



Una vez obtenidas las muestras, fueron procesadas por extrusión. Se alimentó manualmente cada muestra al extrusor ( Patente MX/a/2007/016262) de tornillo simple y se hizo salir a través de un dado con forma circular de aproximadamente 5 mm de diámetro (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020).

Para ellos se usó un diseño factorial, en el cual se evaluó velocidad del tornillo, humedad del alimento, temperatura (zona 2), obteniendo el diseño que se presenta en la [Tabla 4](#).

**Tabla 4. Diseño factorial para la obtención de almidón resistente (AR) tipo 5**

	Tratamiento	Velocidad de tornillo (rpm)	Humedad (%)	Temperatura (°C)
<b>Porción Factorial</b>	1	10	25	100
	2	20	25	100
	3	10	40	100
	4	20	40	100
<b>Porción Factorial</b>	5	10	25	120
	6	20	25	120
	7	10	40	120
	8	20	40	120
<b>Puntos centrales</b>	9	15	32.5	110
	10	15	32.5	110
<b>Puntos estrella</b>	11	7	32.5	110
	12	23	32.5	110
	13	15	20	110
<b>Puntos estrella</b>	14	15	45	110
	15	15	32.5	93

	16	15	32.5	127
<b>Puntos centrales</b>	17	15	32.5	110
	18	15	32.5	110

## 4.9 Caracterización de complejos almidón-lípido

### 4.9.1 Determinación del índice de complejamiento

El índice de complejamiento (IC) de los complejos de almidón-lípido se midió de acuerdo con el método descrito por Chao *et al.*, (2018). Las pastillas obtenidas de las mezclas de almidón y lípidos se pesaron (0.4 g) en tubos de falcón de 50 ml, posterior a eso se añadió agua destilada hasta un peso total de 5 g. Después se agitó con vórtex, las suspensiones homogéneas se calentaron en un baño de agua hirviendo con agitación ocasional durante 10 minutos o hasta que el almidón se gelatinizó por completo.

Después de enfrió a temperatura ambiente, y se añadieron 25 mL de agua destilada a las muestras gelatinizadas. Los tubos se agitaron nuevamente con vórtex durante 2 min, pasado el tiempo se centrifugaron las muestras a 3000 xg durante 15 min. Finalmente se transfirió una alícuota (500 µL) del sobrenadante a un tubo de ensayo y se mezcló con 15 mL de agua destilada y 2 mL de solución de yodo (2.0% KI y 1.3% I<sub>2</sub> en agua destilada). La absorbancia UV fue medida a 620 nm. Se utilizó almidón nativo como referencia y se comparó con cada una de las muestras analizadas. El IC se calculó según la fórmula:

$$CI (\%) = 100 X \frac{(Abs_{referencia} - Abs_{almidón-lípido})}{Abs_{referencia}}$$

Donde  $Abs_{referencia}$  es la absorbancia de la solución del almidón de referencia,  $Abs_{almidón-lípido}$  es la absorbancia de la mezcla de almidón-lípido.

#### **4.9.2 Perfil de viscosidad**

La determinación del perfil de viscosidad se realizó para cada una de las muestras obtenidas por las diferentes tecnologías. Dicha determinación se realizó por el método aprobado por AACC (método 61-02, 1995), con las modificaciones propuestas por Ménera-López *et al.* (2013). Para ello, se utilizó un reómetro (Anton Paar Physica Modelo MCR1-101, Austria).

Para cada muestra se pesaron 3 g, la cual se molió a un tamaño de partícula de 250 micras y se acondicionó con agua destilada hasta obtener un peso final de 21 g. Las muestras de almidones se sometieron a una rampa de calentamiento con agitación en el equipo. La rampa de calentamiento fue de 30 °C a Ebullición°C con una duración de 5.6 minutos y se mantuvo la temperatura a 92 °C (isoterma) por 5 minutos. Posteriormente el sistema se enfrió hasta 50°C con la misma razón de enfriamiento. Los resultados de viscosidad obtenidos se reportaron en centipoise (cP). Cada medición de viscosidad fue realizada por duplicado, donde se determinó: la temperatura de pasta (Tp), viscosidad máxima (Vmax), viscosidad mínima (Vmin), viscosidad final (Vf) y retrogradación (por la correlación con la diferencia de viscosidad final – viscosidad mínima) (Ménera-López *et al.*, 2013).

#### **4.9.3 Calorimetría diferencial de barrido**

Se utilizó un calorímetro diferencial de barrido (DSC Mettler Toledo modelo 821) para llevar a cabo los análisis térmicos, de acuerdo con el método reportado por (Mariscal-Moreno *et al.*, 2015; Santiago-Ramos *et al.*, 2014) con algunas modificaciones. El equipo se calibró con indio puro, utilizando un calor de fusión de 28.4 J/g y una temperatura de fusión de 156.66 °C.

El análisis se realizó para el almidón nativo, sin procesamiento. La muestra se molió y tamizó en malla 60 y se pesó en un crisol de aluminio de 40 µL, donde se colocaron 3.0

$\pm 0.1$  mg y se adicionaron 7  $\mu\text{L}$  de agua destilada, posteriormente el crisol de aluminio se selló herméticamente. Para el análisis, se sometió en el equipo a una rampa de calentamiento desde 30 a 110 °C con una tasa de calentamiento de 10°C/min. Un crisol de aluminio vacío se utilizó como referencia.

A partir de los termogramas, se reportaron: la temperatura de inicio de transición ( $T_0$ ), temperatura de pico ( $T_p$ ), temperatura final ( $T_e$ ) y la diferencia de entalpía de gelatinización ( $\Delta H$ ), así como la entalpía generada por la interacción amilosa-lípidos y el gráfico correspondiente.

Para el análisis térmico de los complejos formados, serán molidas y tamizadas las muestras en malla 60. Posterior a eso, se pesaron  $5.0 \pm 0.1$  mg de muestra, para llevarse a un 60% de humedad con agua destilada y se dejaron en reposo 1 hora. Las muestras se sometieron a una rampa de temperatura de 30 a 150°C con un incremento de 10°C/min.

A partir de los termogramas, se reportarán: la temperatura de inicio de transición ( $T_0$ ), temperatura de pico ( $T_p$ ), temperatura final ( $T_e$ ) y la diferencia de entalpía de gelatinización ( $\Delta H$ ), así como la entalpía generada por la interacción amilosa-lípidos y el gráfico correspondiente.

#### **4.10 Caracterización estructural del almidón nativo y los complejos almidón-lípido**

##### **4.10.1 Determinación de grupos funcionales (FTIR)**

La determinación de los grupos funcionales, del almidón nativo, así como los complejos de almidón-lípido, fueron evaluados de acuerdo con la metodología descrita por Cervantes-Ramírez *et al.*, (2020) por un espectrómetro IR Perkin Elmer (Spectrum Two model, Waltham-USA), equipado con un ATR, usando la ley de Lambert-Beer para calcular el coeficiente de absorción de algunas bandas específicos.

#### 4.10.2 Difracción de rayos X

Para las muestras de almidón se obtuvieron los patrones de difracción de rayos X. Los complejos de almidón-lípido se ajustaron a 7% de humedad, posteriormente serán molidos y tamizados en malla #60. Para el análisis de su estructura cristalina, para lo cual se utilizó un difractómetro Rigaku (modelo Ultima IV, Texas-USA), equipado con un detector D / tex Ultra operado a 35 Kv y 15 mA. Radiación de Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1.5405\ 128\ \text{\AA}$ ), con un barrido de 5 a 70 ° (escala 2  $\theta$ ) con un paso de 0.02 ° (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020).

#### 4.11 Análisis estadístico

Se usó un diseño unifactorial completamente aleatorio, por triplicado. Para analizar cada uno de los factores estudiados y se utilizó una ANDEVA de una vía (análisis de varianza) con un nivel de confianza del 95% y las medias fueron comparadas por el método de Tukey, para cada una de las variables estudiadas, en la formación de AR por el método tradicional.

Para evaluar el efecto de los factores en el proceso de formación de AR tipo 5 por calentamiento óhmico, así como la interacción entre dichos factores se utilizó una ANDEVA de dos vías, teniendo como variables independientes el voltaje, con dos niveles (100 y 150 V) y la presencia ácido esteárico, con dos niveles (presente o no presente) con un nivel de confianza del 95% y las medias fueron comparadas por el método de Tukey, con un nivel de confianza del 95%.

Para determinar el comportamiento para la obtención de AR tipo 5 por extrusión, se usó un diseño de superficie de respuesta en el cual se evaluaron 3 variables: velocidad del tornillo, humedad del alimento, temperatura (zona 2), el cual se llevó a cabo, de acuerdo con la [Tabla 4](#). El análisis de los resultados se llevó a cabo utilizando el programa estadístico Minitab 16.

## 5 Resultados y discusión

### 5.1 Caracterización química del almidón de maíz

En la [Tabla 5](#), se presenta la composición proximal del almidón de maíz. Se observa que el contenido de humedad varía entre  $8.8 \pm 1.0$  % para el almidón nativo, el contenido de lípidos fue de  $0.70 \pm 0.32$ %. Estos resultados son similares a los reportados en la literatura (Arendt y Zannini, 2013).

**Tabla 5. Composición proximal y química de almidón de maíz**

<i>Parámetro</i>	<i>Contenido (%)</i>
<i>Humedad</i>	$8.8 \pm 1.0$
<i>Cenizas</i>	$0.9 \pm 0.3$
<i>Lípidos</i>	$0.7 \pm 0.3$
<i>Proteínas</i>	$0.4 \pm 0.1$
<i>*CH</i>	$97.9 \pm 0.6$
<i>Amilosa</i>	$19.9 \pm 1.7$
<i>Amilopectina</i>	$77.9 \pm 1.7$
<i>*AR</i>	$4.8 \pm 0.5$
<i>*ANR</i>	$93.5 \pm 0.5$
<i>Almidón total</i>	$97.9 \pm 0.6$

\*CH: Carbohidratos totales por diferencia, \*AR: Almidón resistente, ANR: Almidón no resistente

Uno de los factores más relevantes del almidón es su composición química, ya que determina las propiedades fisicoquímicas del almidón, tales como la solubilidad, gelatinización, propiedades térmicas y la retrogradación (Zhu, 2018). Pero, también es necesario considerar el impacto de los componentes minoritarios, se ha informado que tienen un papel importante en las propiedades fisicoquímicas de los almidones (Zhu, 2018). En ese sentido, se ha reportado que un mayor contenido de proteínas en almidón se relaciona con una mayor capacidad de ligar agua. Así mismo, un mayor contenido en

Lípidos decrece la capacidad de ligar agua o su absorción (Vamadevan y Bertoft, 2015; Zhu, 2018).

En la [Tabla 5](#), también se presenta la composición de carbohidratos del almidón, se obtuvo un porcentaje del  $19.9 \pm 1.7$  % de amilosa y  $77.9 \pm 1.7$  % de amilopectina, tales valores, se encuentran dentro de los rangos reportados para el almidón de maíz (Schmiele *et al.*, 2019).

El almidón de maíz presenta un acomodo un acomodo cristalino tipo A (Ortorrómbico), este tipo de acomodo cristalino se ha asociado a una hidrólisis enzimática mayor. Por lo que, el almidón de maíz presenta un porcentaje de AR de  $4.8 \pm 0.5$  %. El porcentaje de AR depende de factores como: la fuente de almidón, el tamaño del gránulo, la forma del gránulo, el contenido de amilosa, la cristalinidad y también el tamaño de los poros en el gránulo afectan la resistencia del almidón (Ramawat, 2019).

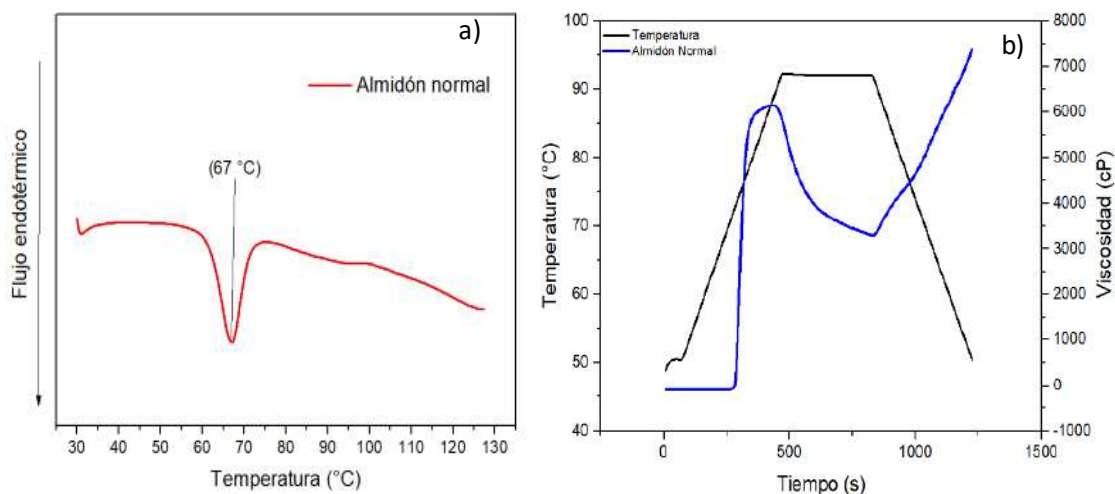
Finalmente, el porcentaje del almidón total es asociado a la variación en los componentes minoritarios, como son lípidos, proteínas y cenizas. Así como, a las modificaciones genéticas en la síntesis de almidón, que pueden variar el contenido total del mismo (Rodríguez-García *et al.*, 2021; Wilson *et al.*, 2018).

## **5.2 Propiedades térmicas y viscosidad de almidón de maíz**

El estudio de las propiedades térmicas del almidón de maíz se realizó mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), los resultados se muestran en la [Figura 15](#).

Se puede observar que el almidón de maíz presentó una transición endotérmica en con una temperatura inicial ( $T_0$ ) de  $59^\circ\text{C}$  temperatura final ( $T_f$ ) de  $72^\circ\text{C}$  y una temperatura pico ( $T_g$ ) de  $67^\circ\text{C}$ , así como una entalpía de  $4.19$  J/g, la gelatinización del almidón de maíz, oscila entre  $65$  y  $68^\circ\text{C}$  (Vamadevan y Bertoft, 2015).

La entalpía de la transición en el termograma está asociada con las proporciones de sus biomoléculas principales (amilosa/amilopectina). Dicha composición, tiene un impacto en la estructura cristalina, ya que existe un aumento de la temperatura y la absorción de agua dentro del gránulo, lo que provoca que este se hinche, hasta llegar a su máxima capacidad de absorción de agua, lo que genera un rompimiento en el gránulo, provocando la lixiviación de las cadenas de amilosa y amilopectina, además de modificar la morfología del gránulo de almidón (Sharanagat *et al.*, 2018).



**Figura 15. a) Propiedades térmicas y b) viscosidad de almidón de maíz.**

En el perfil de viscosidad (Figura 15b) se puede observar que el almidón presentó una gelatinización inicial de  $7.1 \pm 0.2$  cP. Otro parámetro que se observa en el perfil de viscosidad es la temperatura de pasta ( $T_p$ ), esta temperatura indica el comportamiento del almidón, ante un procesamiento térmico, así como la estabilidad de este (Quiroga, 2017).

Para el almidón presentó una  $T_p$  de  $72.4 \pm 0.3$  °C, para la viscosidad máxima ( $V_{max}$ ) se observó  $6724.5 \pm 94.54$ . La viscosidad máxima se asocia con la composición química del almidón, debido a que al contenido de amilosa y amilopectina presente en los almidones que son capaces de interactuar de manera distinta con las moléculas de agua, lo que se ve reflejado en la capacidad del gránulo de absorber agua (Quiroga, 2017).



## 5.3 Caracterización de complejos almidón-lípido por método tradicional

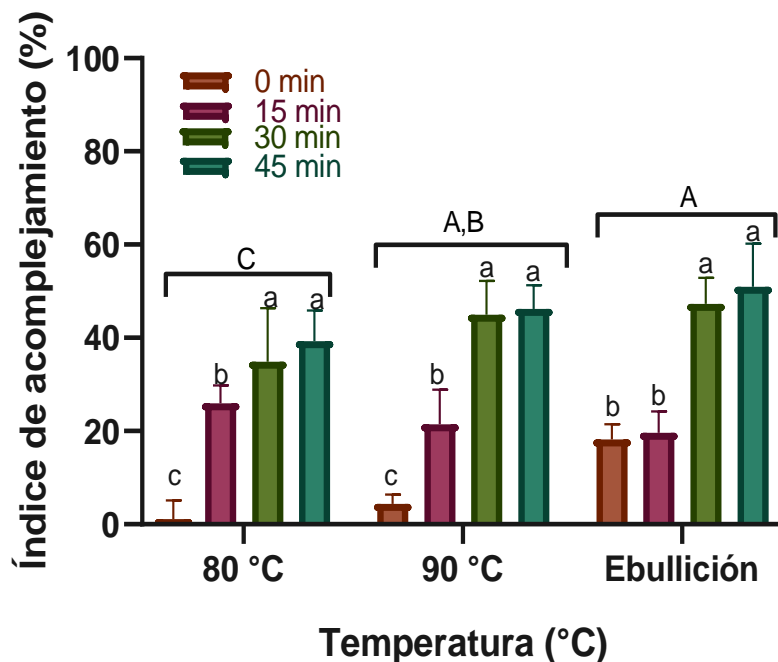
### 5.3.1 Índice de acomplejamiento

Los porcentajes obtenidos para el índice de complejamiento, del almidón de maíz a diferentes temperaturas y tiempos de calentamiento; se presentan en la Figura 16. Se puede observar que existe una tendencia al aumento proporcional del índice de complejamiento con el aumento de temperatura y el tiempo de calentamiento. Tal fenómeno puede ser asociado a que una mayor temperatura impacta en el grado de gelatinización del almidón, es decir, la lixiviación de los componentes del gránulo de almidón fue mayor, además temperatura elevadas, permite la abertura de cadena de amilosa, lo que permite que esta molécula pueda interactuar con los elementos presentes en el medio (Nishiyama *et al.*, 2010), en este caso el ácido graso. Por lo que, al tenerse mayor apertura de la hélice de amilosa, es posible una mayor formación de complejos almidón-lípidos

Por otro lado, tiempos de calentamiento prolongados, así como la agitación constante, genera una mayor interacción entre los componentes, asociada con la hidrólisis de cadenas amilopectina, así como la apertura de la hélice de amilosa. Fenómeno que puede facilitar la inclusión del ácido graso en la hélice de las cadenas de amilosa, mientras que para la molécula de amilopectina, la agitación constante puede generar una fragmentación aleatoria de sus ramificaciones, que puede reducirla a tamaños de cadena más cortos y en consecuencia puedan interactuar con el ácido graso y amilopectina.

La menor capacidad complejante de la amilopectina podría atribuirse a las longitudes de las cadenas que forman las ramas de amilopectina, lo cual genera un impedimento estérico (Wang *et al.*, 2016). Sin embargo, se ha reportado que la hidrólisis de la amilopectina tiene efecto significativo en el porcentaje de formación de complejos almidón-lípido (Lee *et al.*, 2021; Sun *et al.*, 2021b). Lo que se puede observar en los resultados encontrados, ya que a temperatura de ebullición y mayores tiempos de agitación el índice de complejamiento aumenta (Figura 16). Es decir, el control del tiempo y temperatura en el proceso de obtención de AR tipo 5, permite mayor interacción entre las moléculas derivadas de la hidrólisis de la amilopectina y el ácido graso (Figura 16). Lo cual impacta en el índice de complejamiento. Sin embargo, es necesario determinar

la distribución de la masa molecular, del almidón para relacionar con el índice de complejamiento.



**Figura 16. Índice de complejamiento de almidón-ácido oleico. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).**

Por otro lado, es importante destacar que el tipo de ácido graso es un factor determinante. Esto debido a que tanto el tamaño como el grado de insaturación pueden influir para incluirse en la hélice de amilosa (Chao *et al.*, 2018). El ácido oleico posee 18 carbonos además de una insaturación en carbono 9, dicha insaturación genera una torsión en la cadena, lo cual dificulta la formación de complejos almidón-lípidos debido al impedimento estérico por la insaturación que posee el ácido oleico graso. Sin embargo, la apertura de las cadenas de amilosa y las cadenas más externas de amilopectina, que poseen un tamaño 13 a 24 unidades de glucosa (Quiroga, 2017), por acción térmica y mecánica, facilita la inclusión del ácido graso de mayor tamaño con mayor facilidad.

Por otro lado, Lee *et al.*, (2021) reportaron que existe una mayor interacción entre la cavidad de amilosa y la cadena alifática de los ácidos grasos de menor tamaño (10 a 14 carbonos), debido a que tienen menor hidrofobicidad que los ácidos grasos de cadena larga (16 a 20 carbonos). Los autores reportaron la interacción del ácido láurico (12C), ácido mirístico (14C), ácido palmítico (16C), forman enlaces débiles, por lo que no son estables los complejos formados a partir de dichos ácidos grasos con el almidón. En cambio, observaron que, durante la formación del complejo, con ácidos grasos de una longitud de cadena larga (16 a 20 °C) forma enlaces más fuertes con la parte hidrófoba de la hélice de amilosa, dando como resultado, complejos más estables.

Con los resultados obtenidos en este trabajo se puede sugerir que el control de la temperatura y el tiempo de interacción del ácido graso con el almidón permiten la formación de complejos almidón-lípido. Siendo que una temperatura de 90°C y ebullición, con un tiempo de agitación de 45 min, incrementa el porcentaje de complejamiento.

### **5.3.2 Propiedades térmicas de complejos almidón-lípidos obtenidos con diferentes temperaturas y tiempos**

La caracterización térmica de los complejos formados con las diferentes temperaturas y tiempos de agitación del almidón de maíz se muestra en la Tabla 6. Se puede observar que los complejos formados sin agitación (Tiempo 0 min), muestran una transición endotérmica (63-80°C) en las tres temperaturas de procesamiento, lo que se asocia a su temperatura de gelatinización ([Tabla 6](#)).

Dentro de lo que se ha reportado, se sabe que existen dos tipos de interacción almidón-lípido, las cuales son clasificadas, según su orden estructural en tipo I y tipo II. Dichas interacciones se pueden identificar mediante DSC, en donde se han reportado transiciones endotérmicas para el tipo I de 90-110°C y para el tipo II de 110 a 130°C

(Tufvesson *et al.*, 2003). La formación de estos complejos está en función del tratamiento y temperatura de formación. Sin embargo, aún no se ha esclarecido las condiciones necesarias para que estos se formen (Wang *et al.*, 2020). Por otro lado, para el tiempo 0 min de agitación en los tratamientos se observan una transición endotérmica en un rango de 90 a 110 °C, asociado con la formación de complejos de inclusión de almidón-lípido tipo I, y una segunda transición en los rangos de 110 a 130°C son asociados a complejos de inclusión almidón-lípido tipo II (Tufvesson *et al.*, 2003).

En los complejos de almidón-lípido a 90°C con 0 min y 45 min de agitación se observó una transición endotérmica en un rango de 83 hasta 114 °C, para ambos tratamientos. La presencia de esta endoterma confirma la formación de los complejos almidón-lípido I, sin embargo, para el tratamiento con 90°C y 45 min de agitación, presentó una mayor entalpía, en comparación de los otros tratamientos, siendo de 1.82 J/g en 119°C. La presencia de dicha endoterma sugiere que la temperatura de 90°C y mayor tiempo de reacción (agitación constante), genera interacciones almidón-lípido más estables. Esto puede asociarse a que el tratamiento (90°C/min) se provoca la disrupción del gránulo de almidón, así como la lixiviación de sus biomoléculas, por lo que están disponibles para interactuar con el ácido graso, presente en el medio. Así mismo, la agitación constante puede promover la fragmentación de las cadenas más externas de la amilopectina (13 a 24 unidades de glucosa), que son capaces de interactuar con el ácido graso (Bertoft, 2018). Por lo que se puede asociar a que un mayor tiempo de interacción puede permitir una mayor cantidad de complejos y a su vez, pueden ser presentar una mayor estabilidad.

Para el tratamiento con 100°C y 0 min de agitación, se puede destacar que la presencia de dos endotermas, la primera en el rango de 113.96 °C con una entalpía de 1.88 J/g. La segunda endoterma observó a 127.95 °C con 0.62 J/g de entalpía. La presencia de estas endotermas se asocia a formación de complejos almidón-ácidos grasos. En ese sentido puede observarse que, en el tratamiento de 100°C con 0 min, la entalpía es mayor y esto es asociado a que existe una mayor formación de complejos almidón-lípidos tipo I. En cambio, para el tratamiento con 45 min, se observa una entalpía a 113.79

°C con una entalpia de 1.3 J/g, tales resultados indican la formación de almidón-lípido tipo II.

Lo anterior indica que la formación de complejos almidón-lípido son promovidos por la temperatura y la agitación constante. Siendo el mejor tratamiento el 90°C con 45 min, debido a que los 90 °C, están sobre la temperatura de gelatinización (70°C), por lo que es capaz de ayudar a la lixiviación de las cadenas de amilosa y amilopectina que con agitación constante puede llegar a promover un rompimiento aleatorio de las cadenas de amilopectina y a su vez promueve la apertura de las cadenas de amilosa y estas puedan interactuar con el lípido presente en el medio dando lugar a la formación de complejos amilosa-lípidos.

**Tabla 6. Propiedades térmicas de los complejos almidón-lípido**

Temperatura (°C)	Tiempo de agitación (min)	Gelatinización				Complejo almidón-lípido I				Complejo almidón-lípido II			
		T <sub>o</sub>	T <sub>p</sub>	T <sub>f</sub>	ΔH (J/g)	T <sub>o</sub>	T <sub>p</sub>	T <sub>f</sub>	ΔH (J/g)	T <sub>o</sub>	T <sub>p</sub>	T <sub>f</sub>	ΔH (J/g)
80	0	65.29	68.67	73.99	2.89	114.04	114.06	116.03	0.2	118.7	121.97	125.83	0.43
	45	ND				106.02	107.11	108.5	0.5	110.86	114.61	118.57	0.7
90	0	69.19	73.82	80.11	1.42	83.51	91.8	101.93	0.8	108.2	119.77	130.02	1.68
	45	ND				104.6	105.88	108.08	0.13	112.4	119.7	127.4	1.82
Ebullición	0	70.23	73.82	80.02	3.86	104.79	113.96	119.88	1.88	124.46	127.95	133.05	0.62
	45	ND				104.23	106.47	108.71	0.66	113.79	119.62	124.83	1.3

### 5.3.3 Cuantificación de AR de complejos amilosa/amilopectina-lípido por método tradicional

En la [Figura 17](#) se presentan los porcentajes de almidón de rápida, lenta digestión y AR formado a partir de los complejos almidón-lípido usando un calentamiento tradicional.

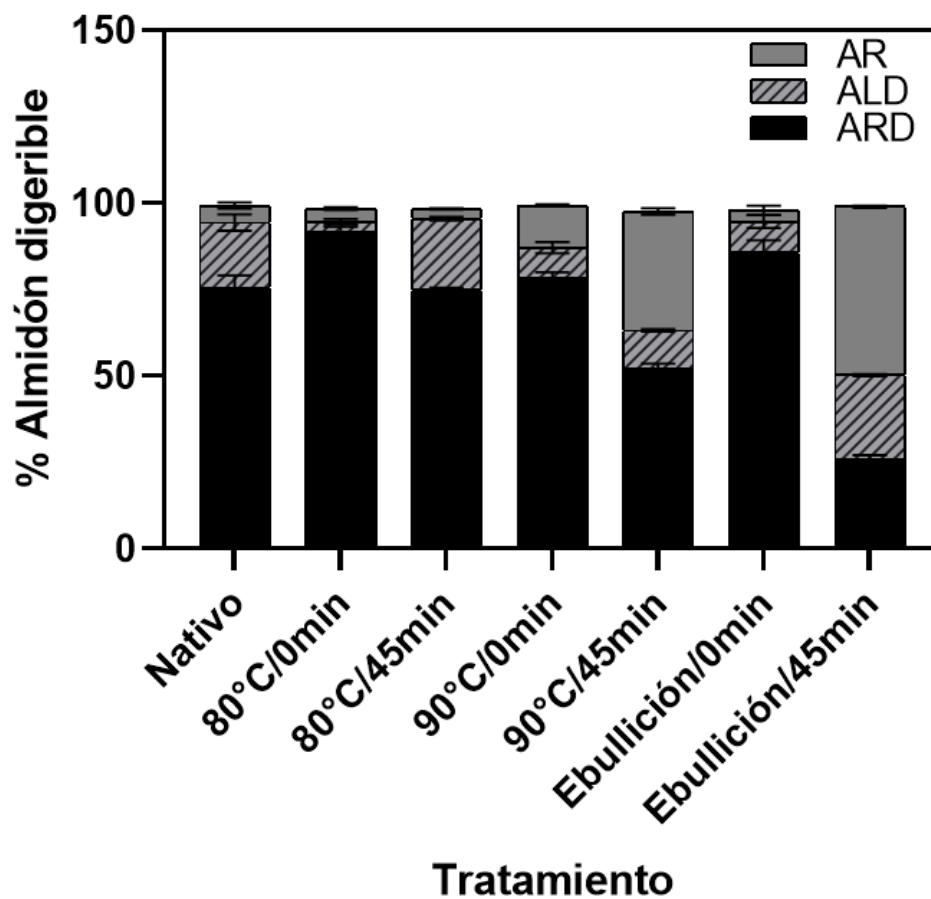


Figura 17. Contenido de AR en los diferentes tratamientos de formación de complejos almidón-lípido.

En la [Figura 17](#) se puede observar que en los tratamientos estudiados no hubo diferencias significativas entre los tratamientos con temperatura de 80°C, no mostraron diferencias en cuanto al contenido de almidón resistente, ya que se mantuvo en  $3.68 \pm 0.5$  %, aunque si se observó un aumento en el contenido de almidón de lenta digestión después de 45 min de tratamiento, para el tratamiento con 90°C y 0 min se encontró un mayor contenido de AR, de  $2.88 \pm 0.57$  % y en el tratamiento de 90°C y 45 min de agitación de  $2.86 \pm 1.09$  %. Para el tratamiento con temperatura de ebullición se encontraron diferencias significativas entre los tiempos de agitación, siendo que, en la temperatura de ebullición con 0 min, conservó un contenido de (AR) de  $3.25 \pm 1.39$  %, pero al incrementar el tiempo de agitación a 45 min, el contenido de AR incrementó hasta  $18.73 \pm 0.32$  % por lo que existe la formación de complejos almidón-lípido. Siendo la temperatura de ebullición en la que se obtuvo el mayor porcentaje de almidón resistente.

Los resultados anteriores muestran que el contenido de AR puede asociarse con la formación de complejos almidón-lípido. Debido a que los resultados obtenidos muestran que la formación de complejos almidón-lípidos está en función de la de la temperatura y el tiempo de agitación constante, ya que se observó el incremento en el contenido de AR. Esto debido a que los tratamientos de 90°C y ebullición con 45 min de agitación constante mostraron los mayores porcentajes de AR, en comparación con los demás tratamientos utilizados.

Por otro lado, los resultados obtenidos en DSC mostraron endotermas asociadas a los complejos de almidón-lípido tipo I y tipo II, sin embargo, los tratamientos a 90°C y a temperatura de ebullición con 45 min de agitación constante presentaron mayores entalpías, lo cual es posible asociar con el incremento en el contenido de AR de dichos tratamientos.

Por lo que la obtención de AR mediante la formación de complejos almidón-lípidos con el uso de diferentes temperaturas y tiempos de agitación constante, se debe a que el uso de temperatura por encima del punto de gelatinización ( $>70^\circ\text{C}$ ), permite el rompimiento de los gránulos de almidón y la lixiviación de las cadenas de amilosa y amilopectina que al agitar por 45 min de manera constante puede existir una fragmentación aleatoria de las cadenas de amilosa y amilopectina, sin embargo, debido a la estructura de la molécula de amilopectina se puede inferir



que son las ramificaciones más externas las que son más susceptibles a la fragmentación mecánica aleatoria, dada por el tiempo de agitación constante (Ai y Jane, 2017), lo que favorece la interacción entre dichos componentes con el ácido oleico, dando como resultado una mayor formación de complejos almidón-ácido oleico y en consecuencia mayor contenido de AR.

Finalmente, el uso de una tecnología tradicional, aunque se observa un aumento en el contenido de almidón resistente, no permite el control de la producción de AR tipo 5, por lo que el uso de tecnologías que permitan un mejor control de los parámetros y así como en un menor tiempo se verá favorecido y controlado la producción de AR tipo 5.

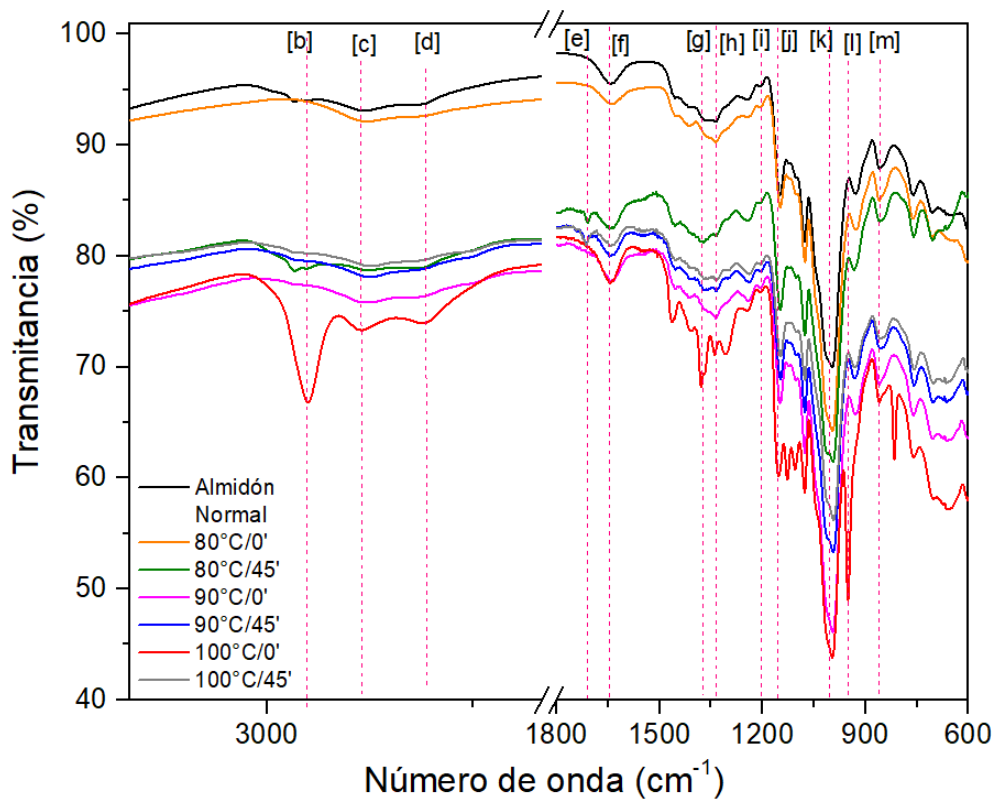
#### **5.3.4 Análisis estructural FTIR de complejos amilosa/amilopectina por método tradicional**

El análisis estructural de los complejos formados almidón-lípido, se analizaron utilizando espectroscopia infrarroja, usando la transformada de Fourier. Dichos resultados se muestran en la [Figura 18](#). El análisis presentado de FTIR por ATR, corresponde a los estiramientos dados naturalmente por los grupos funcionales que componen las moléculas (Krishnan *et al.*, 2021). Para el análisis estructural de los complejos almidón-lípido, se muestran los principales grupos funcionales que conforman los dichos complejos.

En los espectros obtenidos para los complejos almidón-lípido, se puede observar la presencia de las bandas  $2982^{[a]}$   $\text{cm}^{-1}$ , asociados a los estiramientos dados por la deformación del grupo  $-\text{CH}_2$ , correspondiente a la molécula del almidón, también se puede observar una banda en  $2970^{[b]}$  y  $2926^{[c]}$   $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a los estiramientos simétricos y asimétricos, dados por el grupo  $-\text{CH}_2$  (Warren *et al.*, 2016).

La banda a  $1715^{[e]}$   $\text{cm}^{-1}$ , se ha atribuido a la formación de complejos almidón-lípido. Anteriormente, se ha reportado que dicha banda se presenta con el complejamiento del almidón alto en amilosa y ácido oleico, por lo que una mayor intensidad puede asociarse a una mayor contenido de complejos almidón-lípidos (Marinopoulou *et al.*, 2016a.).

Por otro lado, se puede observar la presencia de bandas entre 1645 a 1710  $\text{cm}^{-1}$  se asocia con la vibración C=O, el espectro se observa la banda en 1645<sup>[f]</sup>  $\text{cm}^{-1}$  asociada al grupo carbonílico del ácido graso (Marinopoulou *et al.*, 2016a), además la región en 1642  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a la región amorfa del almidón (Kizil *et al.*, 2002). Por lo cual, un corrimiento a la derecha, es decir una menor longitud de onda en estas regiones se puede asociar a que el grupo carbonilo del ácido graso, este interactuando con otros elementos, en este caso, el almidón. Por lo que el corrimiento hacia la derecha de las bandas representativas al grupo carbonílico del ácido graso muestra una interacción con otras moléculas, en este caso con el almidón, por lo cual puede decirse que las moléculas de almidón y ácido oleico están formando interacciones entre sí.



**Figura 18. Espectros FTIR-ATR para complejos formados con ácido oleico**

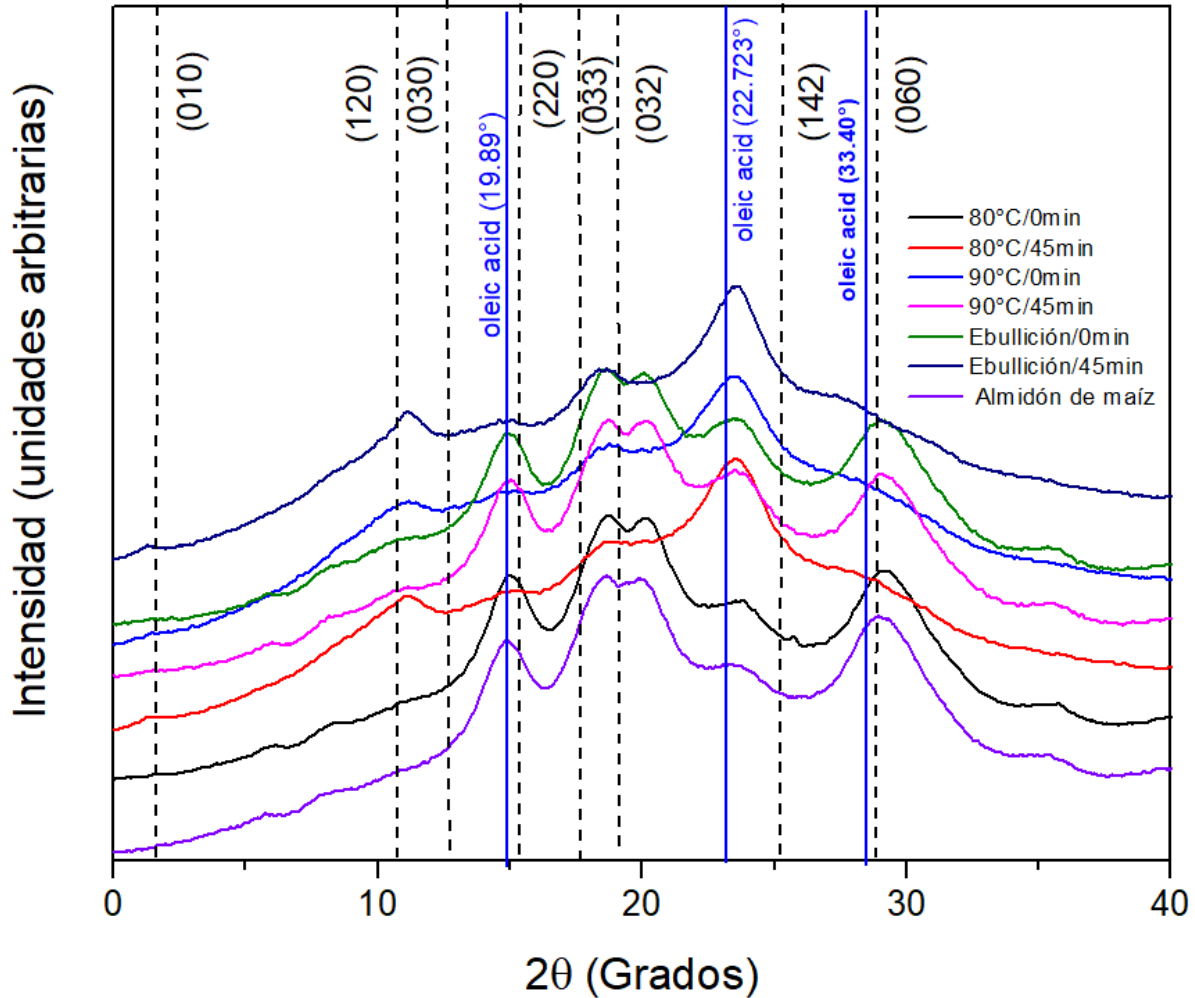
Por otro lado, también se observa bandas en las regiones de  $1465^{[g]}$   $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes al enlace  $-\text{CH}_2$  asociados a la cadena alifática del ácido graso, dicha banda se puede observar con mayor intensidad en el tratamiento de  $100^\circ\text{C}$  y  $0\text{min}$  (Figura 18), por lo cual puede decirse que existe ácido graso que no está interaccionando con las moléculas de almidón, lo cual corresponde con los resultados de AR.

Para la banda en  $1370^{[h]}$   $\text{cm}^{-1}$  corresponde a los enlaces C-O-H y la torsión  $-\text{CH}_2$ , asociados a la molécula de almidón, así también se pueden observar en  $115^{[k]}$ ,  $1075^{[l]}$  y  $990^{[m]}$   $\text{cm}^{-1}$ , las cuales corresponden al estiramiento de los enlaces C-O, C-C y C-O-C respectivamente. Dichas vibraciones corresponden a las formadas por los enlaces glucosídicos  $\alpha$ -1,4 de la cadena de amilosa. Las bandas anteriores corresponden a la “huella digital” del almidón (Kizil *et al.*, 2002; Warren *et al.*, 2016).

### 5.3.5 Caracterización cristalina por difracción de rayos X (DRX)

En la Figura 19, se muestran los patrones de difracción de rayos X, obtenidos para los complejos formados con ácido oleico. El almidón nativo mostró una estructura cristalina ortorrómbica (Figura 19), asociada al patrón cristalino tipo-A (Rodríguez-García *et al.*, 2021), ya que se observaron los picos principales en los ángulos asociados a un patrón tipo-A, siendo los ángulos a  $21.24^\circ$ ,  $11.72^\circ$ ,  $10.69^\circ$ .

Se puede observar que, para los tratamientos de  $80$ ,  $90$  y Ebullición con  $0\text{min}$  de agitación (Figura 19), no hubo cambios en la estructura cristalina. Sin embargo, para los tratamientos de  $80$  y Ebullición con  $45\text{min}$  de agitación se puede observar una disminución de la intensidad relativa en los planos (121), (040) y (033), además de un aumento de la intensidad relativa en el plano (310). Dichos cambios sugieren un daño en la estructura cristalina, dada por el tratamiento térmico (Cabrera-Ramírez *et al.*, 2021).



**Figura 19. Patrones de difracción de Rayos X para los complejos formados con almidón nativo y con ácido oleico**

Por otro lado, la aparición del pico en  $12^\circ$  en  $2\theta$  correspondiente al plano (111) y  $19^\circ$  dado por el plano (201), se ha asociada a la formación de complejos almidón-lípido (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020).

Los resultados obtenidos por rayos X, concuerdan con los resultados mostrados en el índice de complejamiento y DCS, en los cuales se puede observar que existe una mayor interacción entre los polímeros de amilosa y amilopectina con el ácido graso, obteniendo el mayor contenido de

almidón resistente. Ya que, al gelatinizar el almidón en conjunto con un mayor tiempo de agitación, puede existir una mayor interacción entre las moléculas de amilosa y el ácido oleico, la cual da lugar a un complejo de inclusión tipo-V.

#### 5.4 Caracterización de almidón tratado con calentamiento óhmico

Para la caracterización del almidón de maíz tratado con calentamiento óhmico, se evaluó el efecto del voltaje en las propiedades eléctricas del almidón de maíz con y sin ácido esteárico (Tabla 7).

**Tabla 7. Efecto de las condiciones de tratamiento en las propiedades eléctricas de almidón de maíz tratado por calentamiento óhmico**

Humedad (p:p)	Voltaje (V)	Razón de calentamiento (°C/min)	Intensidad de corriente (A)	Potencia (W)
1:1	100	0.065 ± 0.006a	0.482 ± 0.002b	47.93 ± 0.12b
	150	0.017 ± 0.004b	0.817 ± 0.004a	121.28 ± 0.33a

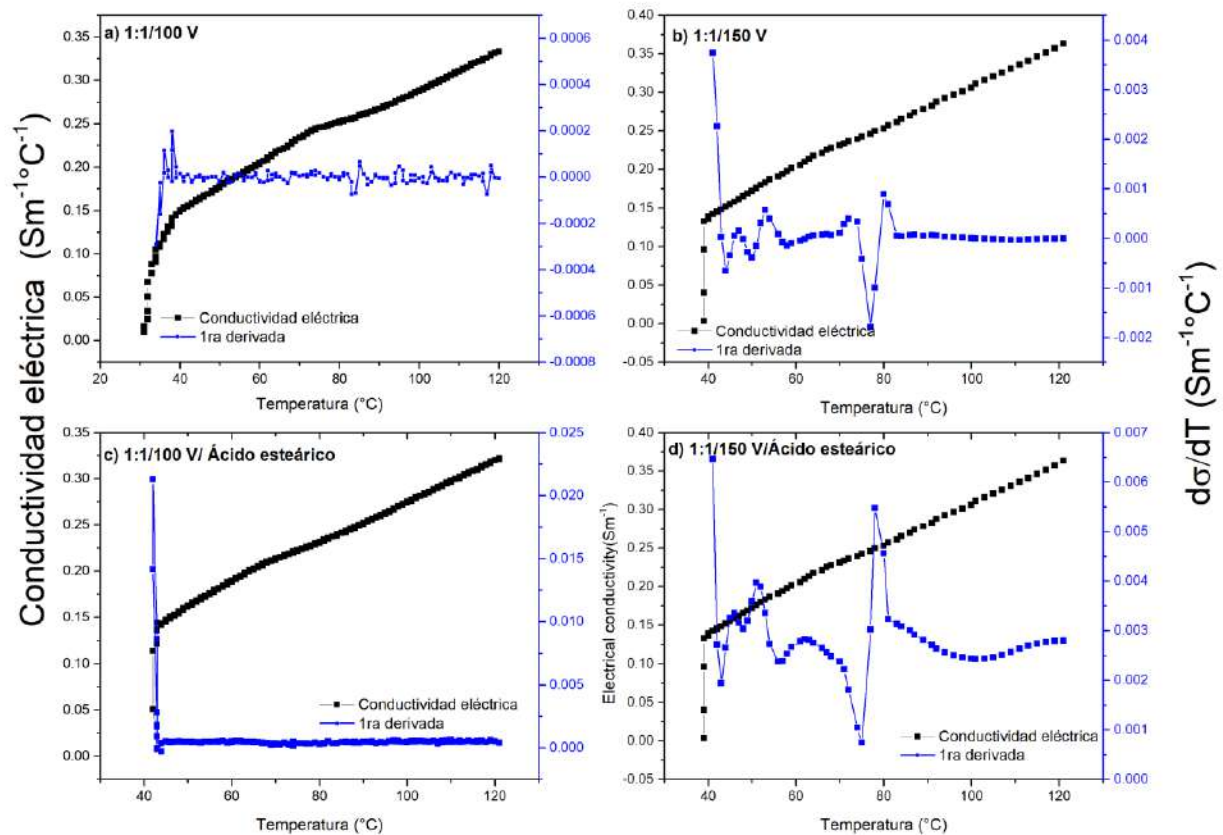
Se muestra la media ± desviación estándar de dos replicas. Letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

El uso del voltaje constante incrementa la temperatura del material, esto debido a que la aplicación del potencial, genera un incremento en la energía cinética de las moléculas del material, ya que se trata de un método estático, lo cual se traduce en un incremento constante y uniforme en la temperatura (Varghese *et al.*, 2014), por lo que al mantener la aplicación de corriente eléctrica por un tiempo, la temperatura continuará incrementando de manera exponencial, mientras que el almidón tenga agua para conducir la corriente eléctrica.

En la [Tabla 7](#), se puede observar que la velocidad de calentamiento aumenta de acuerdo con el voltaje aplicado, ya que un mayor voltaje genera un paso de mayor energía a través del alimento y en consecuencia aumenta energía cinética en las moléculas, generando un aumento en la temperatura interna del alimento (Knirsch *et al.*, 2010). Lo que puede provocar que el gránulo del almidón se genere una electroporación lo que promueve la lixiviación de las cadenas de amilosa y amilopectina (An y King, 2007). Por lo tanto, la electroporación puede genera un cambio de fase, asociado con la gelatinización del almidón.

En la [Figura 20](#), se muestra la conductividad eléctrica al aplicar 100 y 150 V, con una mezcla de almidón: agua 1:1, los cuales fueron llevados hasta 120°C. En las [Figuras 20a](#) y [20b](#), se puede observar la conductividad eléctrica que sigue una tendencia lineal, en función de la temperatura, pero cuando el material presenta un cambio, se tiene una ligera caída de la conductividad eléctrica. La conductividad eléctrica es la capacidad de un material para conducir la electricidad, dicho parámetro está dada por diversos factores, como la composición química del material, la concentración de iones y el tamaño de partícula, entre otros (Kaur y Singh, 2016).

Por lo que, al observar cambios en la conductividad eléctrica al tratar el almidón con calentamiento óhmico, se puede asociar a un cambio en el material, en este caso al almidón, tal cambio se puede asociar a la gelatinización de almidón. En [Figura 20](#), se puede observar un cambio en la conductividad eléctrica del almidón nativo de acuerdo con el voltaje aplicado. Debido a que el agua en el material disminuye la cantidad de solutos (almidón), por lo que la capacidad de transitar energía eléctrica cambia y en consecuencia la potencia del material incrementa, sin embargo, la temperatura incrementa, por lo que se genera la gelatinización del almidón.



**Figura 20. Cambio en la conductividad eléctrica del almidón de maíz tratado con voltaje de a)100 V y b)150 V, y el almidón de maíz con ácido esteárico tratado con voltaje de c) 100 V y d) 150 V**

Anteriormente Li *et al.* (2004), describieron que el cambio en la conductividad eléctrica del almidón, está directamente asociada con la gelatinización del mismo. Debido a que el cálculo de la primera derivada de la conductividad eléctrica permite visualizar los cambios máximos y/o mínimos que existen en la función de la conductividad eléctrica. Dichos cambios máximos y mínimos que se pudieron observar en el cálculo de la primera derivada de la conductividad

eléctrica, se puede observar que los cambios máximos en la conductividad eléctrica coinciden con la temperatura de gelatinización del almidón obtenida mediante DSC.

En la [Figura 20a y b](#) se muestra el incremento de la conductividad eléctrica, respecto con la temperatura. Como se ha mencionado anteriormente, los cambios en la conductividad eléctrica son asociados a un cambio en el material, por lo que, con el tratamiento a 100 V, existe una inflexión a los 81°C, mientras que al aumentar el voltaje (150 V), la inflexión se puede observar a una menor temperatura 78°C y más pronunciada. Esto se debe a que la aplicación del voltaje fue uniforme, por lo que la potencia tiende a aumentar de manera lineal, sin embargo, cuando existe un cambio en la potencia, este refleja un cambio en el material, que se asocia a la gelatinización del almidón

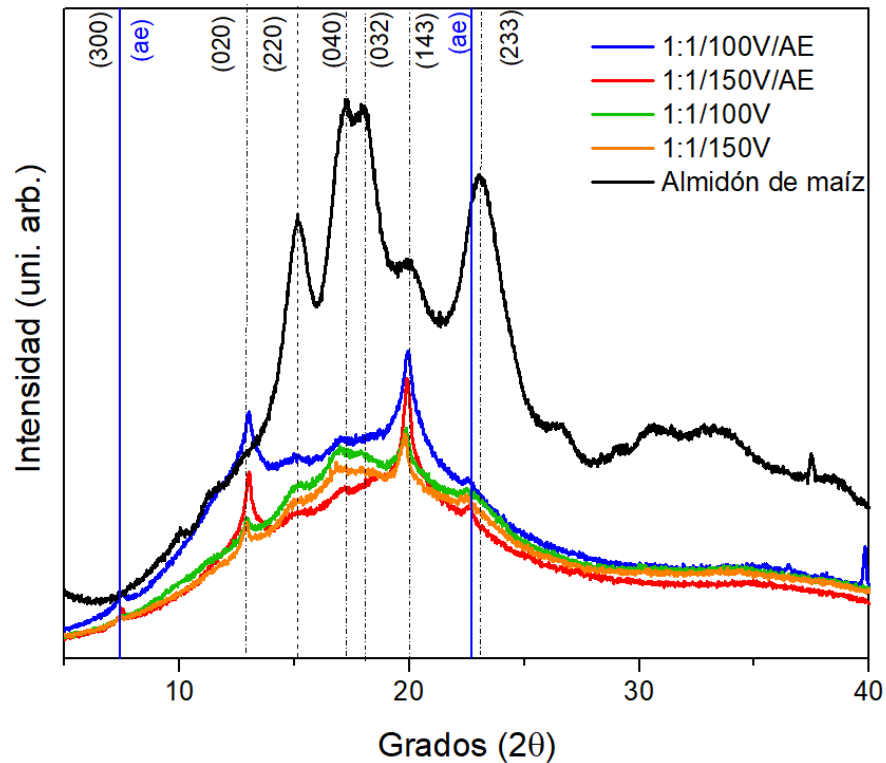
Por otro lado, al agregar el ácido esteárico, se puede observar que la conductividad eléctrica del material cambia. En el tratamiento con 100 V y ácido esteárico ([Figura 20 c](#)) no se observa un cambio drástico en la conductividad eléctrica, esto puede asociarse a la naturaleza del material, ya que ambos son materiales no conductores. De manera contraria, el tratamiento con 150 V, en donde se puede apreciar una inflexión en la conductividad eléctrica, por la mayor energía aplicada es posible observar el cambio en el material, lo que puede asociarse a la gelatinización, sin embargo, en este caso también se tiene la presencia de ácido esteárico, por lo que este cambio puede asociarse a la interacción del almidón con el ácido graso.

## **5.5 Análisis estructural por difracción de rayos X (DRX) de la formación de almidón de AR tipo 5**

Para el estudio estructural del almidón de maíz tratado por calentamiento óhmico, se realizó un análisis de difracción de rayos X, el cual se muestra en la [Figura 21](#). El almidón de maíz nativo, presenta un patrón de difracción tipo ortorrómbica, correspondiente con un patrón cristalino tipo-A, con picos principales en la escala  $2\theta$ , con ángulos en 10.52 °, 11.22 °, 15.14 °, 17.25 °, 18.21 ° y 26.67 ° (Rincón-Londoño *et al.*, 2016; Rodríguez-García *et al.*, 2021).



Para los tratamientos, se observaron cambios en el patrón de difracción de rayos X, por lo que puede asociarse a que la estructura cristalina del almidón de maíz fue afectada. pero no se observaron cambios en el patrón cristalino, entre los tratamientos. Esto puede deberse a que independientemente de la intensidad del voltaje usado en el tratamiento con calentamiento óhmico, el almidón de maíz es capaz de sufrir una gelatinización que afecta su estructura cristalina. Esto se debe a que el calentamiento óhmico, al pasar una corriente eléctrica a través del almidón incrementa la temperatura interna del material, en este caso, el almidón, que, en presencia del agua, lleva a un daño irreversible, es decir, la gelatinización del almidón, ya que pasa de un estado ordenado a un estado desordenado.



**Figura 21. Patrones de difracción de Rayos X para almidón de maíz sometido a calentamiento óhmico con y sin ácido esteárico**

Morales-Sánchez *et al.*, (2023), informan o reportan que el uso de calentamiento óhmico, en almidón de maíz es capaz de causar una gelatinización, la cual puede observarse por el cambio

en el perfil térmico del almidón de maíz, así como en el cambio en la intensidad de los picos presentes en el patrón de difracción de rayos X del almidón, después del tratamiento por calentamiento óhmico. En el presente estudio, se pudieron observar cambios en la estructura cristalina del almidón de maíz, después de ser sometido al calentamiento óhmico, tales cambios se pueden apreciar en la disminución de la intensidad de los picos, en el patrón de difracción, así como la aparición de nuevos picos en los planos (020) y (300), y el aumento de la intensidad del pico presente en el plano (143).

Es importante considerar que los picos antes mencionados, son asociados a la formación de un nuevo patrón cristalino, denominado tipo-V, que comúnmente se había asociado a un complejo almidón-lípido, sin embargo, de acuerdo con los estudios previos realizados con calentamiento óhmico, se mencionan que dichos cambios también pueden ser asociados a la gelatinización del almidón causada por el calentamiento óhmico, que produce un cambio en su estructura cristalina (Castro-Campos *et al.*, 2023; Flores-García *et al.*, 2024; Morales-Sánchez *et al.*, 2023).

Por otro lado, al incorporar el ácido graso, existe un incremento en la intensidad de los picos en el plano (300), correspondiente al ángulo  $3.034^\circ$ , y en  $22.013^\circ$ , que corresponde al patrón cristalino del ácido esteárico (PDF # 38-1923). Por lo que la incorporación del ácido graso también genera un cambio en el patrón cristalino del almidón, por lo que es posible inferir que las moléculas del ácido esteárico están interactuando con las moléculas del almidón, dando como resultado el cambio en el patrón cristalino.

Sin embargo, entre los diferentes voltajes no se observan diferencias en los patrones de difracción, por lo que puede decirse que la modificación del patrón cristalino, no está en función del voltaje utilizado en el calentamiento óhmico, pero el calentamiento sí es capaz de gelatinizar el almidón, llevando al almidón de un estado ordenado a uno desordenado (Xu *et al.*, 2020). Ya que, al generar un daño térmico en el gránulo de almidón, este libera las cadenas de amilosa y amilopectina al medio, lo que da lugar a una interacción entre el ácido esteárico y las biomoléculas del almidón (amilosa y amilopectina), formando interacciones almidón-ácido esteárico.

Es importante mencionar que con el uso de calentamiento óhmico tiene un efecto no térmico, en el cual, el paso de corriente energía eléctrica a través de los electrodos, puede dar lugar a la liberación de radicales carboxilo (-COOH), de la molécula de glucosa presente en las cadenas de amilosa y amilopectina, tales grupos carbonilos están disponibles para asociarse con otra de las moléculas de almidón que se encuentren en el medio formando interacciones amilosa-amilosa, amilosa-amilopectina o bien amilopectina-amilopectina (Flores-García *et al.*, 2024), lo cual también puede modificar su estructura cristalina.

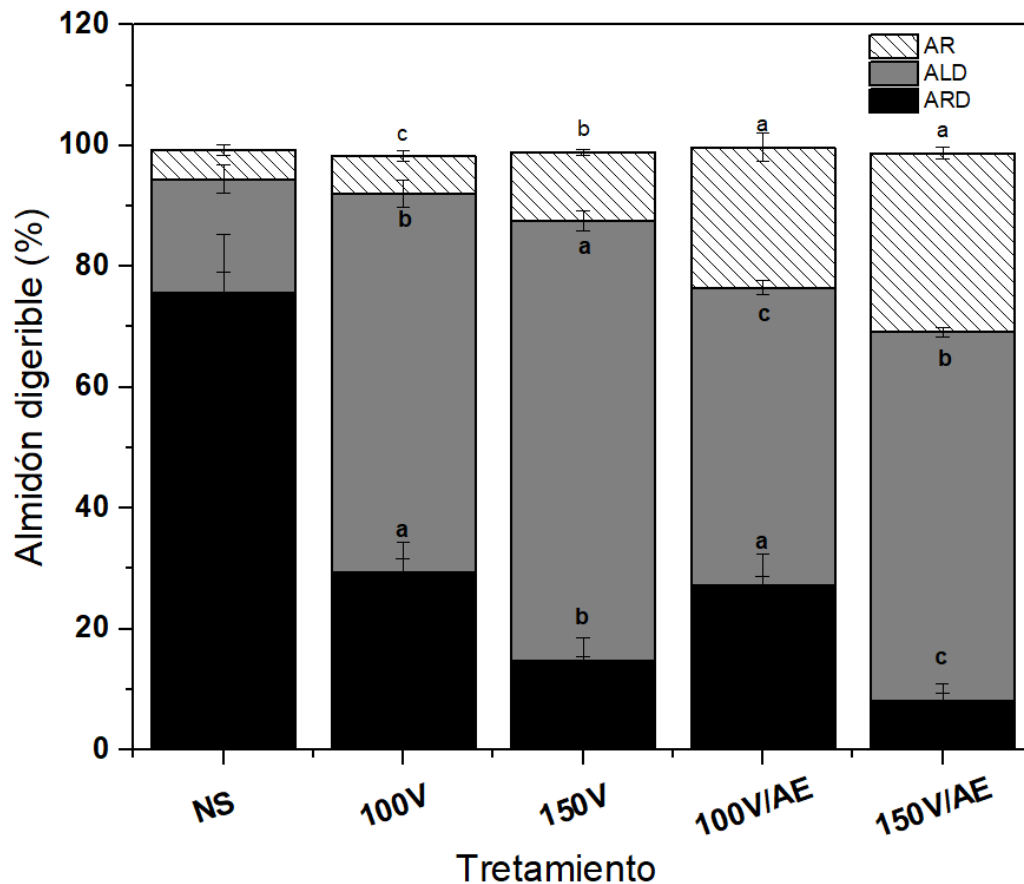
Finalmente, el uso de calentamiento óhmico para la formación de complejos almidón-ácido esteárico es un fenómeno complejo, ya que se deben considerar los efectos térmicos y no térmicos del proceso. Pero, si es posible su aplicación para formar interacciones del tipo almidón-ácido esteárico, pero es importante mencionar que la aparición de dos picos, no son evidencia de una nueva estructura cristalina, pero si el cambio en la estructura cristalina del material.

## 5.6 AR formado por calentamiento óhmico

La [Figura 22](#), describo los porcentajes de AR obtenidos por calentamiento óhmico. En dicha figura se pueden observar que las condiciones de procesamiento al usar calentamiento óhmico tienen efecto significativo en el contenido de almidón resistente.

Para los tratamientos sin ácido graso a 100 y 150 V, se presentó una disminución en el contenido de almidón de rápida digestión (ARD), de 92.4% hasta  $14 \pm 0.7$  % y  $11 \pm 2.2$  % respectivamente; en tanto que para el almidón de lenta digestión (ALD) se observó un aumento significativo para los tratamientos con 150 V a  $74 \pm 1.7$  % y  $56 \pm 2.1$  % para el tratamiento 100 V. En el caso del AR se observó un aumento significativo de  $1.60 \pm 0.25$  % a  $11.37 \pm 0.01479$  %, para el tratamiento con 150 V, mientras que para el tratamiento con 100 V aumentó un  $6.16 \pm 0.87$  %. En tanto, el ARD no presentó diferencias significativas con y sin la adición de ácido graso al aplicar 100 V.

A pesar de que la proporción de ALD fue menor al adicionar el ácido graso tanto en 100 como en 150 V, se puede observar una mayor formación de AR en ambos voltajes respecto a cuando no se adiciona el ácido graso.



**Figura 22. Contenido de almidón de resistente en los diferentes voltajes usando calentamiento óhmico en diferentes voltajes, AE= ácido esteárico. ARD: Almidón de rápida digestión; ALD: Almidón de lenta digestión; AR: almidón resistente**

Entonces se puede decir que el calentamiento óhmico permite la formación de AR tipo 3, o bien existe un incremento en el contenido de almidón de lenta digestión, mientras que, al incorporar ácido graso al sistema, las biomoléculas del almidón (amilosa y amilopectina) interactúan con el ácido esteárico y forman AR tipo 5. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en

el contenido de almidón resistente, respecto al voltaje utilizado, mostrando que el tratamiento de 150 V con ácido esteárico incrementa el porcentaje de almidón resistente, asociado a la formación de AR-5

La formación de complejos almidón-ácido estérico, usando calentamiento óhmico, se trata de un fenómeno complejo, ya que se ha visto que se pueden encontrar dos efectos de manera simultánea, un efecto térmico o un efecto no térmico (Flores-García *et al.*, 2024).

En cuanto al efecto térmico, se ha mencionado que el uso de calentamiento óhmico en almidón de maíz, es capaz de generar una gelatinización del almidón (Castro-Campos *et al.*, 2023; Morales-Sánchez *et al.*, 2023), debido al incremento de la temperatura interna, causada por el paso de corriente eléctrica a través del almidón, lo que puede sugerir que la formación de AR tipo 5, pueda darse en dos pasos.

En un primer paso, el incremento de la temperatura interna lleve al gránulo de almidón a una disrupción, y en consecuencia sean lixiviadas las moléculas de amilosa y amilopectina y estas se vuelven disponibles para la interacción con los otros componentes en el medio y segundo la formación del complejo almidón-ácido estérico, mediante el ensamblaje del ácido esteárico con las moléculas de amilosa y amilopectina.

La disponibilidad de las moléculas de amilosa y amilopectina, puede explicarse mediante un fenómeno llamado electroporación, el cual es generado al aplicar un potencial eléctrico y este es directamente proporcional al aumento de corriente eléctrica que se aplica al almidón, lo que genera un incremento en la energía interna de las molécula, e incrementa la vibración de dichas moléculas y a su vez la temperatura del sistema (Li *et al.*, 2004), por lo que el granulo de almidón incrementa su capacidad de absorción de agua y da lugar a la gelatinización, por lo que las cadenas de amilosa y amilopectina son liberadas al medio.

Por lo que, al estar libres en el medio las moléculas de amilosa y amilopectina, y al estar presente ácido graso en el sistema, las biomoléculas del almidón que se encuentran disponibles en el medio son capaces de interactuar con el ácido esteárico y formar AR tipo 5.

Por otro lado, (Flores-García *et al.*, 2024) reportaron que el efecto no térmico del calentamiento óhmico, en el almidón, es la generación de una electrolisis del agua, que esta genera radicales  $\cdot\text{OH}$  y estos son capaces de reaccionar con los grupos carbonilo ( $-\text{COH}$ ) de la molécula de glucosa, y dichos grupos funcionales; de manera simultánea, pueden generar enlaces del tipo  $-\text{COOH}$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , además de poder interactuar con otras moléculas de almidón, generando interacciones del tipo almidón-almidón, que obstruyen el sitio activo de las enzimas, por lo que incrementa su resistencia a la digestión lo que se pudiera asociar al incremento en el contenido de almidón de lenta digestión y AR en el tratamiento con 150 V, sin el uso de ácido estérico.

En resumen, el tratamiento con calentamiento óhmico es capaz de generar una interacción entre el almidón y el ácido esteárico, así como almidón-almidón, como resultado un incremento en el contenido de almidón de lenta digestión y AR total. Por lo que este AR puede originarse de dos formas: mediante la formación de complejos almidón-ácido esteárico, dando lugar a la formación de AR tipo 5, o bien la interacción almidón-almidón, es decir exista un incremento en el almidón de lenta digestión o bien se dé la formación de AR tipo 3.

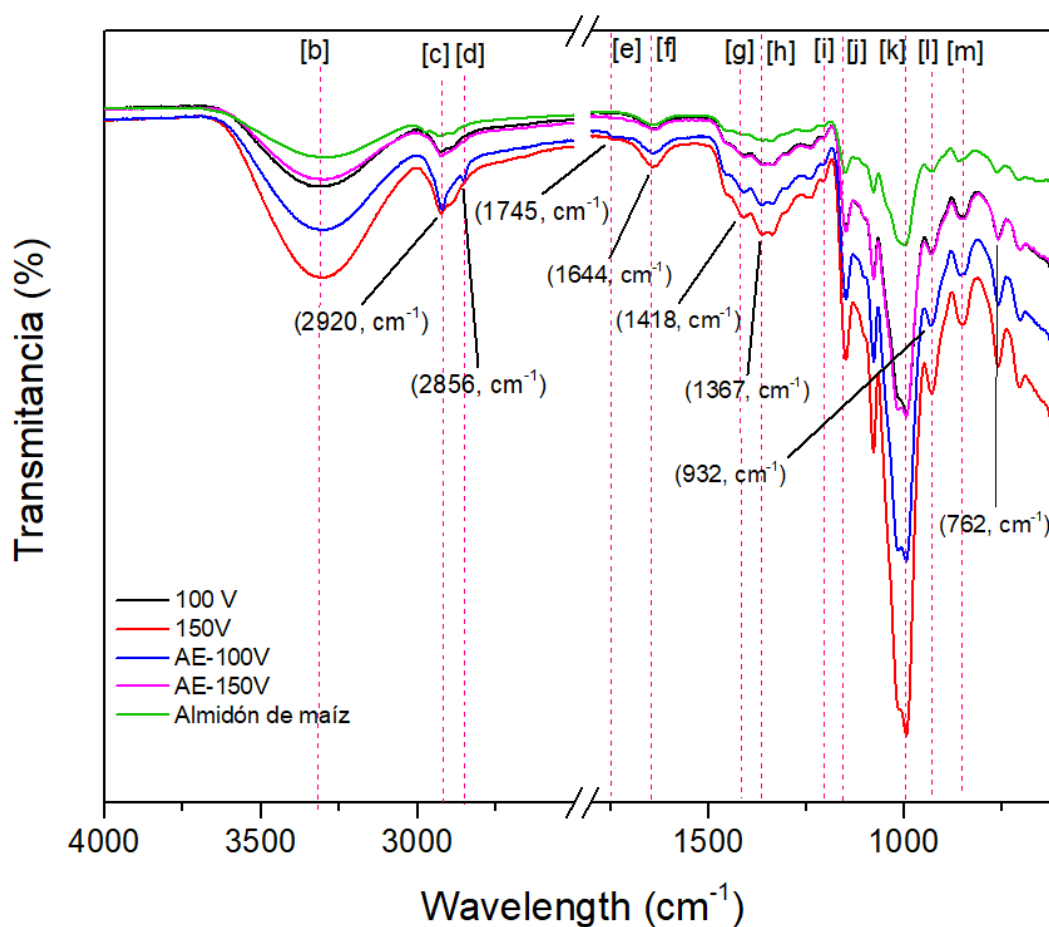
### **5.6.1 Análisis de complejos almidón-lípido por Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)**

Para el análisis de los complejos formados por calentamiento óhmico con almidón y ácido esteárico, se realizó un estudio por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier, tales resultados se muestran en la [Figura 23](#).

En la [Figura 23](#) se puede observar las bandas principales asociadas a un almidón de maíz en su forma nativa, se pueden observar las bandas de  $3664\text{-}3005\text{ cm}^{-1}$  [b], y  $2920\text{ cm}^{-1}$  [c], tales bandas corresponden a los estiramientos de las moléculas  $-\text{OH}$  (hidroxilo) (asociado al contenido de agua presente en el almidón) y los estiramientos de las moléculas  $-\text{CH}$  o del enlace  $-\text{CH}_2$ , de las moléculas de glucosa respectivamente (Marinopoulou *et al.*, 2016a).

Por otra parte, para los tratamientos con calentamiento óhmico, se pueden observar dos bandas principales asociadas a la estructura del ácido graso, la banda observada a  $2856\text{ cm}^{-1}$  [d], está

asociada con el estiramiento del  $-CH_2$ , perteneciente a la cadena alifática de la molécula del ácido graso, también se han identificado la banda  $1720\text{ cm}^{-1}$ , como parte del estiramiento del grupo carbonilo ( $C=O$ ) proveniente del ácido graso, en este caso, el ácido esteárico (Sun *et al.*, 2019). También se puede observar la banda  $1644\text{ cm}^{-1}$  asociada con el estiramiento del grupo  $C=O$ , proveniente de los grupos amida, los cuales pertenecientes a proteínas presentes en el almidón de maíz (Castro-Campos *et al.*, 2021), por lo que un incremento en la intensidad o bien el desplazamiento a números de onda menores, son asociados a una interacción del ácido graso con el almidón o bien una modificación en sus estructura.



**Figura 23. Caracterización de los grupos funcionales del almidón de maíz y su interacción con ácido esteárico, tratado con calentamiento evaluando diferentes voltajes.**

Estudios anteriores con calentamiento óhmico, han mostrado que el uso de campos eléctricos para el tratamiento con almidones genera una modificación en su estructura, ya que es capaz de generar una hidrólisis provocando la liberación de grupos carbonilo ( $1644\text{ cm}^{-1}$ ) (Flores-García *et al.*, 2024). Los grupos carbonilo cuando son liberados buscan su reacomodo, teniendo como resultado la formación de enlaces del tipo COOH (Castro-Campos *et al.*, 2023; Flores-García *et al.*, 2024; Morales-Sánchez *et al.*, 2023).

Tal fenómeno se puede observar, que para el tratamiento con 100 V y ácido esteárico, se observa el incremento de la banda a  $2856\text{ cm}^{-1}$ , perteneciente al estiramiento del grupo  $-\text{CH}_2$ , perteneciente a la cadena alifática del ácido graso, es decir, el ácido esteárico remanente. Sin embargo, en con el tratamiento a 150 V, se puede observar que esta banda ( $2856\text{ cm}^{-1}$ ), ya no está presente, pero se puede observar un incremento en la banda  $2920\text{ cm}^{-1}$ , por lo que todo el ácido graso se ha integrado con el almidón, lo cual se confirma con la presencia de la banda  $1745\text{ cm}^{-1}$ , asociada con una interacción del ácido graso con el almidón. Dado lo anterior, un mayor voltaje genera una mayor modificación en la estructura del almidón, siendo que existen mayores grupos disponibles para la interacción con el ácido graso, por lo que existe una mayor interacción almidón-lípido.

Por otro lado, el incremento en las bandas a  $1418$  y  $1367\text{ cm}^{-1}$ , son asociados con la formación de enlaces glucosídicos. El incremento de dichas bandas posterior a los tratamientos, indica que existe una mayor cantidad de enlaces glucosídicos. Este incremento puede asociarse a un reordenamiento de las moléculas del almidón, que es provocado por el proceso de hidrólisis causado por el tratamiento con calentamiento óhmico (Flores-García *et al.*, 2024).

Finalmente, los resultados muestran que existen dos fenómenos principales, por un lado, se da una hidrólisis causada por el uso de campos eléctricos, lo cual provoca el rompimiento del gránulo, y se observa con el incremento en la intensidad de las banda a  $1644\text{ cm}^{-1}$  y a su vez las cadenas de amilosa y amilopectina se rompan debido al calentamiento óhmico, dicha hidrólisis genera la liberación de grupos carbonilo, que al re-asociarse se pueden formar dos tipos de interacciones almidón-almidón incrementando los enlaces glucosídicos ( $1418$  y  $1367\text{ cm}^{-1}$ ) o

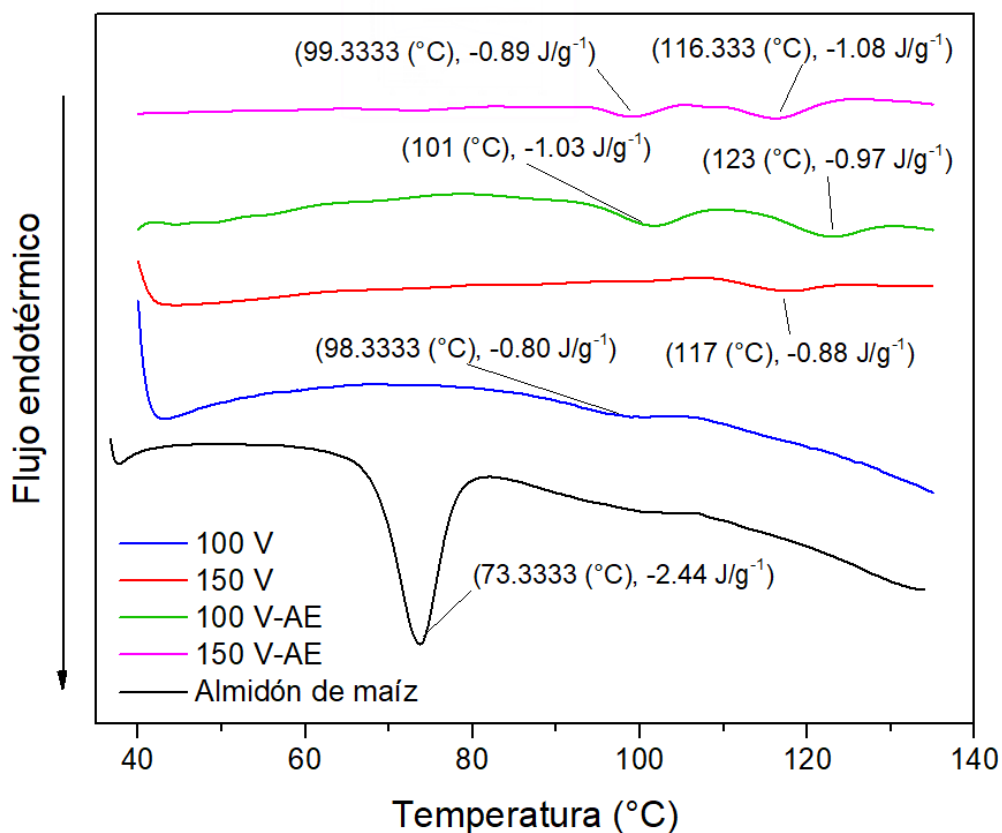


almidón-lípido ( $1745\text{ cm}^{-1}$ ), lo cual tiene un impacto en su digestibilidad, ya que incrementa el contenido de almidón resistente, consistente con los resultados obtenidos de la cuantificación de AR (Figura 22).

### **5.6.2 Análisis de térmico de los complejos almidón-lípido formados por calentamiento óhmico**

Para el estudio térmico de la formación de complejos almidón-lípido se realizó un estudio por calorimetría diferencial de barrido (DSC), los resultados se muestran en la Figura 24. Se observan las transiciones térmicas de los tratamientos realizados para el almidón de maíz tratado con calentamiento óhmico usando diferentes voltajes.

Para el almidón de maíz sin tratamiento (línea negra), se observa una transición a  $73\text{ }^{\circ}\text{C}$ , con una entalpía de  $2.44\text{ J/g}$ , tal transición, se asocia a la temperatura de gelatinización del almidón de maíz (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020), pero al someterlo al tratamiento con calentamiento óhmico en ausencia del ácido graso, se observa que no aparece tal endoterma, en cambio, se observar una endoterma a los  $98^{\circ}\text{C}$ . Tales cambios se asocian al calentamiento óhmico, ya que este tiene genera un calentamiento interno de la moléculas del almidón, en donde el agua es el agente conductor de energía, por lo que el granulo se puede hinchar y en consecuencia, produce la gelatinización del almidón liberando las cadenas de amilosa y amilopectina (Castro-Campos *et al.*, 2023). Por otro lado, es importante considerar los efectos no térmicos del calentamiento óhmico, en donde se ha reportado en estudios anteriores, que la aplicación de campos eléctricos es capaz de generar radicales del tipo  $\text{-COH}$ , mediante un proceso de electrolisis, tales radicales son capaces reacomodarse generando nuevos enlaces, entre las moléculas de amilosa y amilopectina, que pueden ser más estables y resistentes térmicamente (Flores-García *et al.*, 2024), por lo que en almidón de maíz procesado con calentamiento óhmico, dicha interacción almidón-almidón puede observarse en la endoterma a  $98.33\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 24. Termogramas de la interacción de almidón de maíz con ácido esteárico, en los diferentes voltajes usando calentamiento óhmico**

Tal fenómeno, también puede observarse al incrementar el voltaje del calentamiento óhmico, ya que con 150 V, se observa una endoterma a 117 °C, sin embargo se puede observar como el uso de un mayor voltaje genera una mayor electrolisis, es decir, generar mayor cantidad de radicales y en consecuencia mayor interacción entre las moléculas de amilosa y amilopectina, por lo que el reacomodo de tales moléculas genera interacciones térmicamente más estables (Flores-García *et al.*, 2024).

En los tratamientos con ácido esteárico, se puede observar que existen dos endotermas a los 101 °C y 123°C para el tratamiento a 100 V, la presencia de dichas endotermas muestra la interacción almidón-ácido esteárico. Estudios anteriores de la interacción de los complejos

almidón-ácido graso, muestran que existen dos tipos de interacción, complejos tipo I (90 - 110°C) y complejos tipo II (110 – 130 °C) (Tufvesson *et al.*, 2003).

Sin embargo, es necesario considerar que el uso de calentamiento óhmico, ya que se ha observado que el calentamiento óhmico, genera dos modificaciones en el almidón, la primera dada por el efecto térmico, donde produce la gelatinización, mientras que el efecto no térmico del calentamiento óhmico produce una hidrólisis de las moléculas de amilosa y amilopectina al ser liberadas por efecto de la gelatinización, generando fracciones más pequeñas, por lo que estas se reasocian con sí mismas dando lugar a complejos almidón-almidón (Flores-García *et al.*, 2024) y a su vez estas moléculas también interaccionan con el ácido graso presente formando complejos almidón-ácido esteárico al generar.

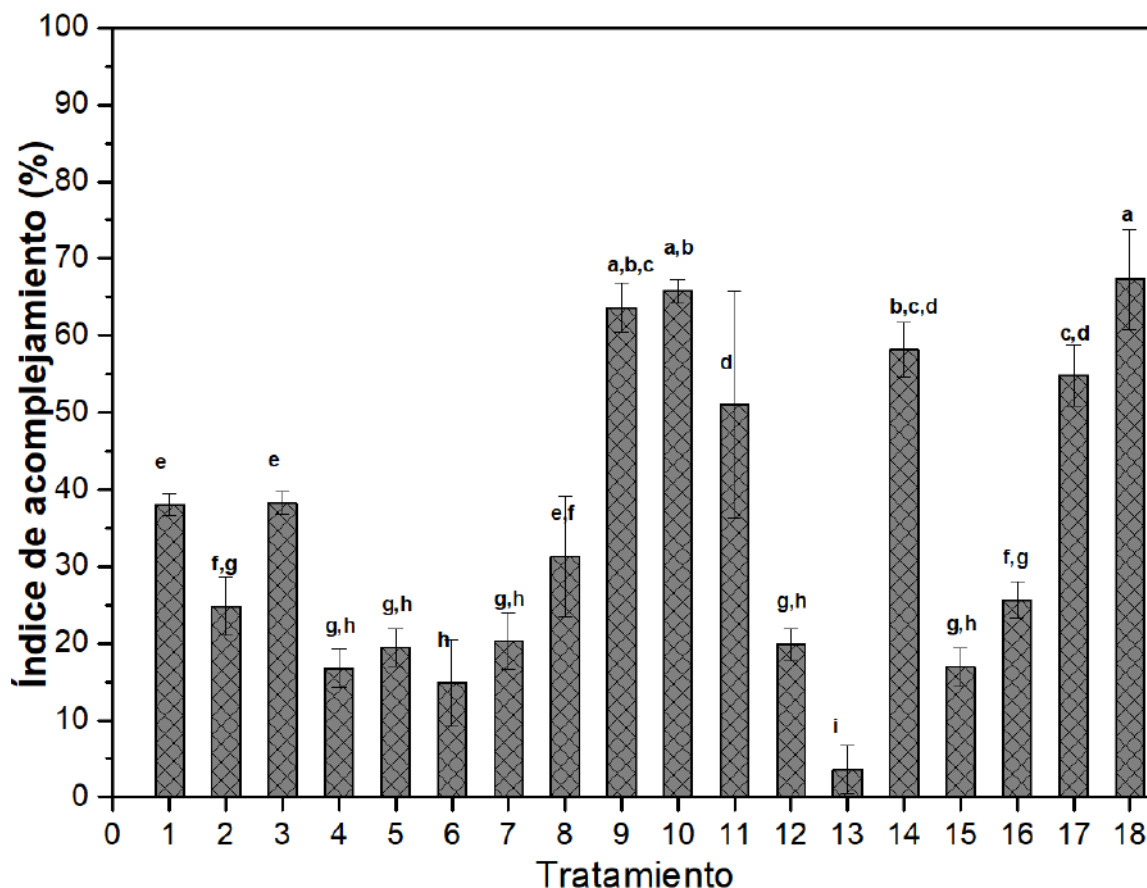
Por lo que la endoterma a 101°C puede asociarse a los complejos tipo II, mientras que la endoterma a 123°C puede asociarse a complejos tipo II. Para el tratamiento con 150V, se pueden observar también dos endotermas a 99°C y a 116°C, tales endotermas muestran la presencia de complejos almidón-lípido del tipo I y tipo II. Lo cual muestra que en ambos voltajes se puede observar la formación de complejos almidón lípido, pero se obtienen tipos de complejos, es decir complejos almidón-lípido tipo I para el tratamiento con 100 V y complejos almidón-lípido tipo II para el tratamiento tipo II.

Los resultados obtenidos, muestran que el uso de calentamiento óhmico es capaz de generar interacciones almidón-almidón y almidón-acido esteárico. Por lo que con el uso de esta tecnología es posible obtener un mayor porcentaje de AR tipo V, lo cual es consistente con los resultados obtenidos en el análisis de FTIR (Figura 23) y la cuantificación de AR (Figura 22), siendo el calentamiento óhmico una alternativa viable para el tratamiento de almidón de maíz e incrementar su contenido de almidón resistente, adicionando ácido esteárico.

## **5.7 Formación de AR tipo 5 por extrusión**

### **5.7.1 Índice de complejamiento de complejos amilosa-lípidos por extrusión**

El índice de complejamiento es una medición indirecta sobre la interacción de las moléculas de amilosa/amilopectina con los ácidos grasos (Tabla 4). En la [Figura 25](#), se muestran los resultados para los 18 tratamientos realizados por extrusión.



**Figura 25. Índice de complejamiento del AR obtenido por extrusión. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).**

Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ), tales diferencias pueden atribuirse a que las variables evaluadas en los tratamientos de extrusión (temperatura, humedad y velocidad de tornillo) tuvieron un efecto significativo sobre el índice de complejamiento.

Anteriormente, se ha reportado que pueden formarse complejos amilosa-lípidos por el método de extrusión, mediante almidón de maíz (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020). En dicho estudio, los autores atribuyen la formación del complejo amilosa-lípido al efecto que tiene en conjunto de la temperatura y el cizallamiento, durante el proceso de extrusión, ya que ambos permiten la gelatinización del almidón.

Durante el proceso de extrusión, la muestra pasa a través del tornillo, donde es calentada y el agua presente se integra en dicha muestra. En este caso, el almidón mientras es sometido a un calentamiento continuo, absorbe el agua en el medio, permitiendo que los gránulos de almidón se hinchen y, en consecuencia, el almidón se gelatiniza, es decir, existe un rompimiento del gránulo de almidón y provoca que las moléculas de amilosa y amilopectina se lixivien. Durante el proceso de extrusión, también de manera simultánea existe un cizallamiento, dado por el giro continuo del tornillo, lo cual puede producir una hidrólisis, es decir un rompimiento de las moléculas lixiviadas del almidón (amilosa y amilopectina), ya que el giro del tornillo provoca un cizallamiento un daño mecánico en la estructura molecular de las cadenas de amilosa y de amilopectina. Tal proceso, da lugar fragmentos de menos tamaño, de las moléculas de amilosa y amilopectina, por lo que se encuentran disponibles para interactuar con los ácidos grasos (Gutiérrez y Tovar, 2021; Lau *et al.*, 2016; Rosicka-Kaczmarek *et al.*, 2017; Santiago-Ramos *et al.*, 2017).

Anteriormente, se ha informado que la hidrólisis de la amilopectina puede ser un factor determinante en la formación de complejos almidón-lípido. Ya que se ha reportado, que, si la molécula de amilopectina es sometida a un proceso de hidrólisis enzimática, los fragmentos formados son capaces de ensamblarse con las moléculas del ácido graso presente en el medio (Lee *et al.*, 2021; Sun *et al.*, 2021b). Tal fenómeno se pudo observar en los resultados obtenidos, ya que el índice de complejamiento muestra que existe una interacción almidón-ácido esteárico, utilizando un proceso de extrusión controlado. Sin embargo, los resultados muestran que la configuración de los parámetros de la extrusión: humedad, temperatura y velocidad de tornillo, si tienen un efecto significativo en el porcentaje de interacción almidón-ácido esteárico (Figura 25).

En los resultados se puede observar que los tratamientos 9, 10 y 11, mostraron los mayores porcentajes de interacción, en comparación con el resto de los tratamientos, siendo de 60%, tales tratamientos se procesaron con la siguiente configuración: 15 rpm 32.5 % de humedad y una

temperatura de 110 °C para el tratamiento 11 se utilizó una velocidad de tornillo de 7 rpm, 32.5 % de humedad y 110 °C de temperatura en la zona 2 del extrusor, además se observó que el tratamiento 14 (15 rpm, 45 % humedad y 110 °C), dichos tratamientos mostraron un índice de complejamiento alrededor de 60%. Se puede observar que en los tratamientos que mostraron un mayor índice de complejamiento, tienen en común el uso de alta humedad y temperaturas por encima de los 100 °C, en la segunda zona de calentamiento del extrusor.

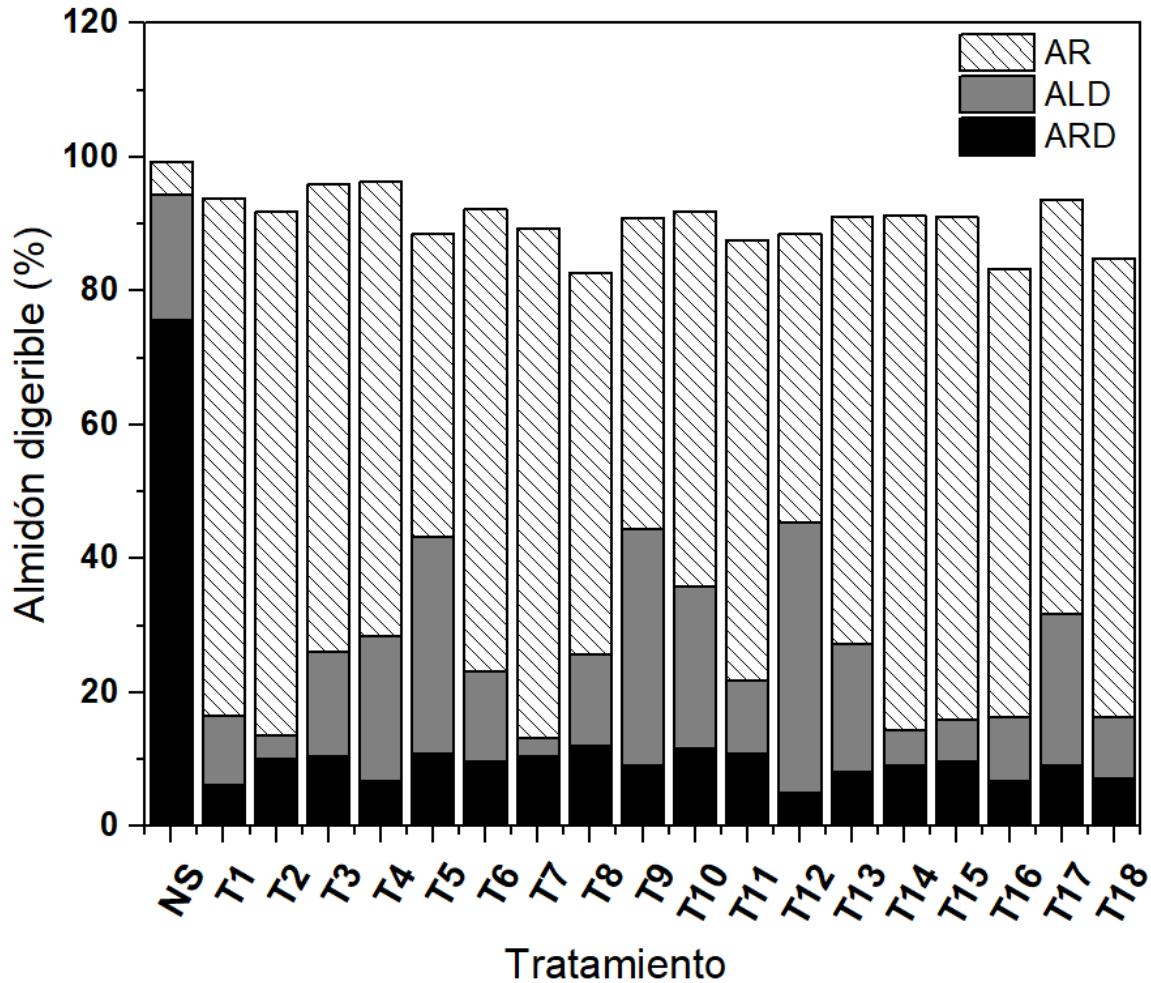
Tales condiciones indican de manera preliminar que puede ser la humedad y el calentamiento factores determinantes para la obtención de una mayor interacción entre las moléculas del almidón y el ácido graso y en consecuencia se tendrá un mayor contenido de almidón resistente. Por lo que se puede inferir que la correcta configuración de los parámetros en el proceso de extrusión se podrá obtener una mayor cantidad de AR tipo 5, siendo los principales factores el porcentaje de humedad y la temperatura de calentamiento. Por lo que el uso de parámetros controlados permite determinar la mayor obtención de complejos amilosa-ácido esteárico.

### **5.7.2 Contenido de almidón resistente, de lenta y rápida digestión**

En la [Figura 26](#) se presentan los porcentajes de almidón resistente AR (AR), almidón de lenta digestión (ALD) y almidón de rápida digestión (ARD), obtenidos a partir del tratamiento con extrusión y los complejos formados de amilosa/amilopectina-ácido esteárico procesado con diferentes condiciones de extrusión, de acuerdo con el diseño factorial obtenido (Tabla 4). Se puede observar que el almidón de maíz, en su forma nativa tiene un porcentaje de ARD mayor al 90% y AR de 1.6%. Pero al agregar el ácido esteárico, después del proceso de extrusión se observó una disminución significativa del porcentaje de ARD, tal disminución se observó que puede estar en función de las condiciones de extrusión, es decir el porcentaje de humedad, la temperatura y la velocidad de tornillo.

Por otro lado, también se observó un incremento significativo del contenido de AR, ya que se obtuvo un porcentaje de hasta en un 60% de AR, con el uso de extrusión, dependiendo de las condiciones de extrusión. Se puede hipotetizar que, dependiendo de las condiciones de extrusión, permiten la gelatinización del almidón, además de la generación de fragmentos con menores

pesos moleculares. Tales fragmentos son capaces de interactuar con el ácido graso, repercutiendo en el contenido de AR.



**Figura 26. Contenido de almidón resistente, almidón de lenta y rápida digestión obtenido mediante extrusión.**

En los resultados se puede observar que los porcentajes de AR obtenidos están en función del de los tratamientos, ya que cada tratamiento presentó variaciones en tales porcentajes de AR. Estas variaciones pueden estar asociadas al complejo procesamiento que presenta el proceso de extrusión, ya que, durante este proceso, se llevan a cabo operaciones unitarias de manera

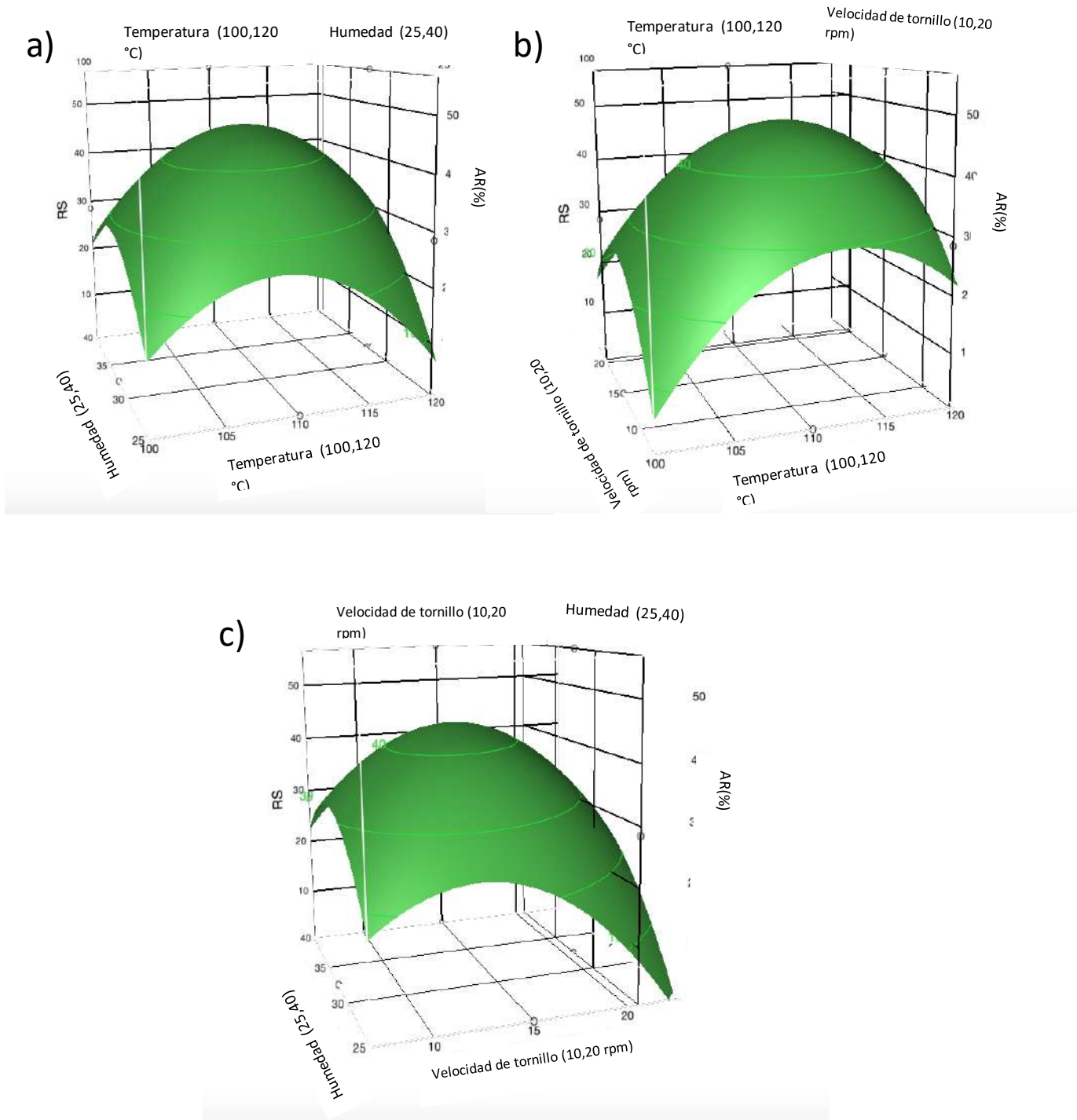
simultánea, tales como el calentamiento, cizallamiento y formado de la muestra, por lo que es un proceso dinámico y complejo.

En ese sentido, Cervantes-Ramírez *et al.*, (2020), han estudiado la viabilidad de esta tecnología para la formación de complejos amilosa-lípidos, teniendo como fuente de almidón, almidón de maíz con un 30% amilosa y 70% de amilopectina. En dicho estudio, se reportó que, durante el proceso de extrusión, se llevan a cabo operaciones unitarias de manera simultánea, el almidón de maíz es capaz de gelatinizarse y sufrir un daño mecánico que permita su interacción con los componentes en el medio y en consecuencia su ensamblaje con el ácido esteárico, formando complejos amilosa-lípido. En el estudio antes mencionado, los autores comprobaron la formación de complejos amilosa-lípido mediante, estudios de DSC y de FTIR, en los cuales se observó dicha interacción, además de que se pudo observar que es posible la formación de estos complejos a partir de un almidón de maíz nativo (30 % de amilosa). Sin embargo, no determinaron la cantidad de AR formado por tal interacción o bien determinar las condiciones de extrusión que permitieran mayor interacción.

La formación de complejos almidón-lípido, es de suma importancia en la industria de los alimentos, ya que es usado ampliamente como aditivo, sin embargo, su obtención se realiza a partir de almidones altos en amilosa, debido a que el tamaño molecular y distribución de la molécula de amilosa, permiten un ensamblaje más eficaz con el ácido graso, pero el uso de almidones altos en amilosa incrementa el costo de producción de dicho ingrediente, por lo que este tipo de procesamiento es una gran alternativa para la industria de los alimentos, pero es necesario el estudio de las condiciones adecuadas para la producción de estos complejos.

En la [Figura 27](#) se presentan las gráficas de superficie respuesta del contenido de almidón resistente, respecto a las variables independientes (velocidad de tornillo, humedad y temperatura). De acuerdo con el análisis estadístico, se observó que el factor que tiene efecto es la temperatura y la interacción de la temperatura con la humedad del alimento ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, la velocidad del tornillo mostró tener un efecto significativo, además de una interacción con el porcentaje de humedad ( $p < 0.05$ ).





**Figura 27. Superficie respuesta para la formación de AR tipo 5, obtenido por extrusión**

En ese sentido, se ha reportado que la molécula de amilopectina tiene una menor capacidad complejante debido a las longitudes de las cadenas que forman las ramas de amilopectina, lo que genera un impedimento estérico (Wang *et al.*, 2016). Sin embargo, el proceso de extrusión al gelatinizar el almidón y de manera simultánea reducir el tamaño molecular de sus componentes principales, en este caso la amilopectina (70%) y amilosa (30%), permite que los fragmentos de menor peso molecular, provenientes de las moléculas de amilopectina y amilosa. Dicho fenómeno se puede asociar a que la formación de fracciones más pequeñas de amilosa/amilopectina dado por el cizallamiento y el efecto de la temperatura, genera una abertura de hélice, permitiendo la inclusión del ácido graso (Luo *et al.*, 2020).

Por otro lado, es necesario, establecer la configuración de dichos parámetros que permitan una mayor interacción de las moléculas del almidón con el ácido esteárico. Para ello, se realizó un análisis de superficie respuesta, que permitiera observar el efecto de los parámetros de extrusión en la formación de complejos almidón-ácido esteárico y en consecuencia el incremento del AR tipo 5.

En ese sentido se puede observar (Figura 26 o 27?) que al tener una alta velocidad de tornillo se requiere una menor humedad y temperatura (<120°C) para incrementar el contenido de almidón resistente, en la cual se muestran los tratamientos con el mayor porcentaje de almidón resistente. En el caso del tratamiento 2 se observa como al utilizar una menor temperatura es necesaria una mayor velocidad de tornillo y cuando la temperatura aumento debe utilizarse una menor temperatura, como se puede observar en el tratamiento 7. Lo anterior, puede asociarse al tiempo de residencia del alimento y que una mayor velocidad de tornillo genera un mayor cizallamiento, dado como resultado una mayor dextrinización y en consecuencia una mayor interacción con el ácido graso (Luo *et al.*, 2020).

Por lo anterior se puede decir que el tamaño de las moléculas generado por alta temperatura y humedad, así como la cizalla, permiten la inclusión del ácido graso, incrementando el contenido de AR. Es decir, la formación de AR tipo 5, puede darse por dos fenómenos, por una parte, puede ser un efecto térmico, en donde se lleva a cabo una hidrólisis dada por un mayor porcentaje de humedad y mayor temperatura, generando así la gelatinización del almidón, lo que permite la

lixiviación de las cadenas de amilosa y amilopectina, y a su vez estas puedan estar disponibles para la interacción con el ácido esteárico presente.

Otro efecto que pudo observarse es el efecto mecánico, ya que se puede tener un fraccionamiento de las moléculas de amilosa y amilopectina, por el cizallamiento dado por el giro del tornillo, por lo que una mayor velocidad de tornillo y menor porcentaje de humedad genera un mayor efecto de cizalla en la muestra y en consecuencia existe una reducción del peso molecular por efecto mecánico y estas moléculas de menor tamaño son capaces de ensamblarse con el ácido graso.

En cambio, cuando existe una menor velocidad de tornillo y una mayor temperatura, se verá un efecto térmico, ya que al ser más lento el giro del tornillo, el tiempo de residencia de la muestra será mayor, por lo que el efecto térmico será mayor dando lugar la gelatinización del almidón y un daño térmico a las moléculas de amilosa y amilopectina, que con un baja velocidad de tornillo, son fraccionadas mecánicamente y esto permite su reducción de tamaño molecular y en consecuencia la formación de complejos amilosa-lípido, obteniéndose una mayor cantidad de almidón resistente. Por lo que de acuerdo con los resultados obtenidos en la [Tabla 8](#) se muestran los tratamientos que mostraron el mayor porcentaje de almidón resistente.

Finalmente puede decirse que la obtención de AR tipo 5 a partir de una fuente de almidón de maíz nativo (30%) es posible usando extrusión y realizando la configuración correcta de los parámetros de extrusión (velocidad de tornillo, porcentaje de humedad y temperatura). Lo que representa una gran alternativa para la obtención de este ingrediente a partir de materias primas asequibles y de manera eficiente, lo que reduce los costos de producción, además de evitar el uso de agentes químicos, por lo que es un alimento natural que puede dar múltiples beneficios a la salud humana.

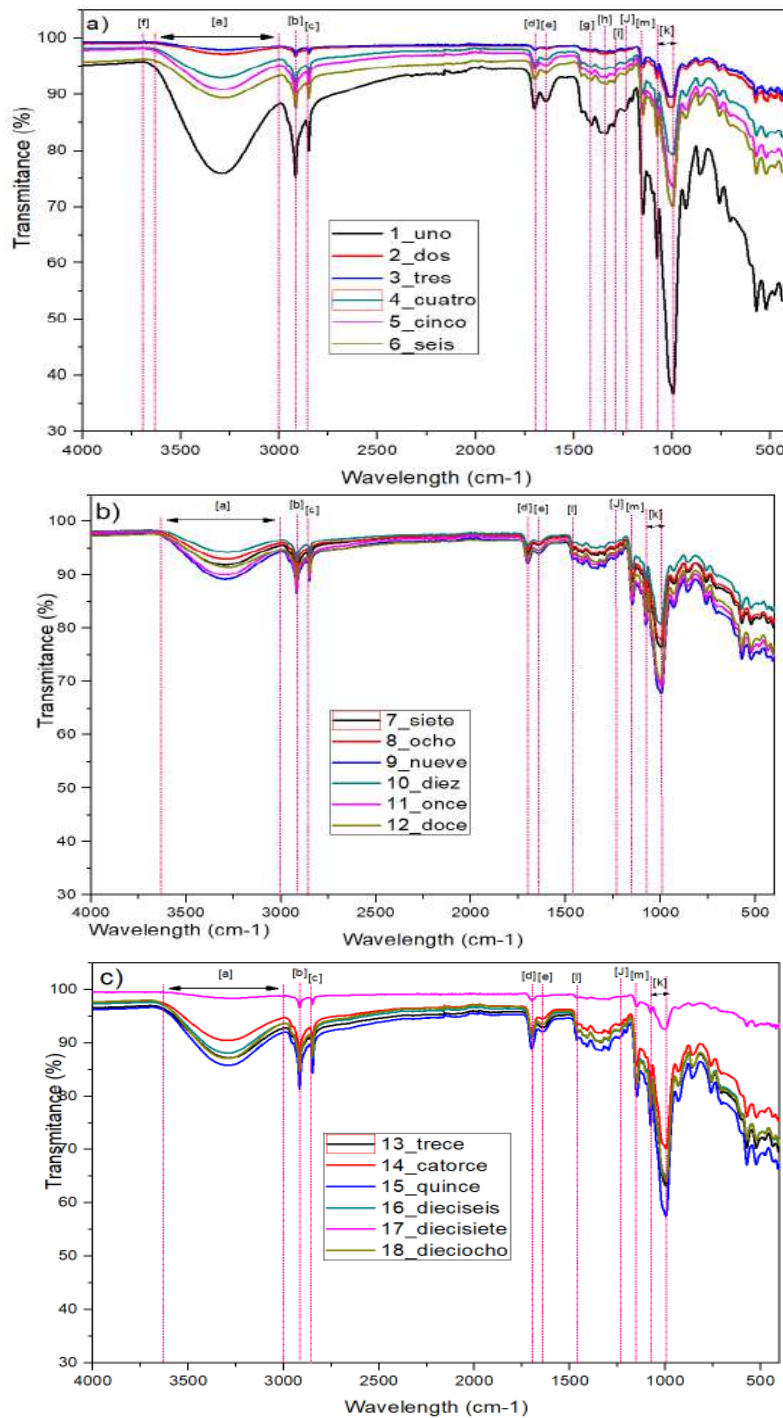
**Tabla 8. Tratamientos con el mayor porcentaje de AR tipo 5**

Tratamiento	Velocidad de tornillo (rpm)	Humedad (%)	Temperatura (°C)	AR(%)
<b>Almidón nativo</b>				4.6 ± 0.2
<b>T8</b>	20	40	120	29.21 ± 0.7 <sup>d</sup>
<b>T10</b>	15	32.5	110	60.49 ± 1.2 <sup>a</sup>
<b>T11</b>	7	32.5	110	37.1 ± 1.1 <sup>c</sup>
<b>T14</b>	15	45	110	44.17 ± 1.4 <sup>b</sup>

Se muestra la media ± desviación estándar de dos replicas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).

### 5.7.3 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

En la [Figura 28 \(revisa la numeración de tus figuras\)](#) se muestran los espectros obtenidos para los tratamientos con extrusión para la obtención de AR-V. Se puede observar que el almidón de maíz en su forma nativa muestra bandas específicas como la de 3660-3040  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento del grupo hidroxilo (-OH), la banda débil en 2917  $\text{cm}^{-1}$  relacionada a los estiramientos de -CH o de -CH<sub>2</sub>, las bandas consecutivas en 1078, 995  $\text{cm}^{-1}$  del doblamiento del (-COH), es importante además que la banda en 995  $\text{cm}^{-1}$  corresponde al doblamiento del (-COH) del carbono 6 asociado a la formación de puentes de hidrogeno, lo que lo hace sensible a la humedad (Priyan *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2021).



**Figura 28. Espectros FTIR-ATR de complejos formados con ácido esteárico con almidón de maíz a partir del uso de extrusión, de los 18 tratamientos a) Tratamiento 1, 2, 3, 4, 5, 6; b) Tratamiento 7, 8, 9, 10, 11, 12 y c) Tratamiento 13, 14, 15, 16, 17 y 18**

Para los tratamientos se puede observar la presencia de las bandas en 2845 y 1715  $\text{cm}^{-1}$  que se han asociado con la formación de los complejos amilosa-lípido corresponden a la vibración asimétrica de los grupos metilo del ácido graso y de grupo carbonilo respectivamente, el grupo carbonilo en almidones nativos aparece en 1700  $\text{cm}^{-1}$ , este desplazamiento es índice de la formación del complejo por que se atribuye a la interacción por puentes de hidrogeno del grupo carbonilo del ácido graso con la amilosa (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020; Marinopoulou *et al.*, 2016).

De acuerdo con los resultados obtenidos en FTIR, se muestra que en todos los tratamientos existen una interacción entre las biomoléculas del almidón y el ácido esteárico, sin embargo, no se muestra una tendencia con el porcentaje de AR formado, a partir de cada tratamiento. Por lo que se requiere un análisis del efecto de cada uno de los parámetros.

Para los tratamientos se puede observar la presencia de las bandas en 2845 y 1715  $\text{cm}^{-1}$  que se han asociado con la formación de los complejos amilosa-lípido corresponden a la vibración asimétrica de los grupos metilo del ácido graso y de grupo carbonilo respectivamente, el grupo carbonilo en almidones nativos aparece en 1700  $\text{cm}^{-1}$ , este desplazamiento es índice de la formación del complejo por que se atribuye a la interacción por puentes de hidrogeno del grupo carbonilo del ácido graso con la amilosa (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020; Marinopoulou *et al.*, 2016).

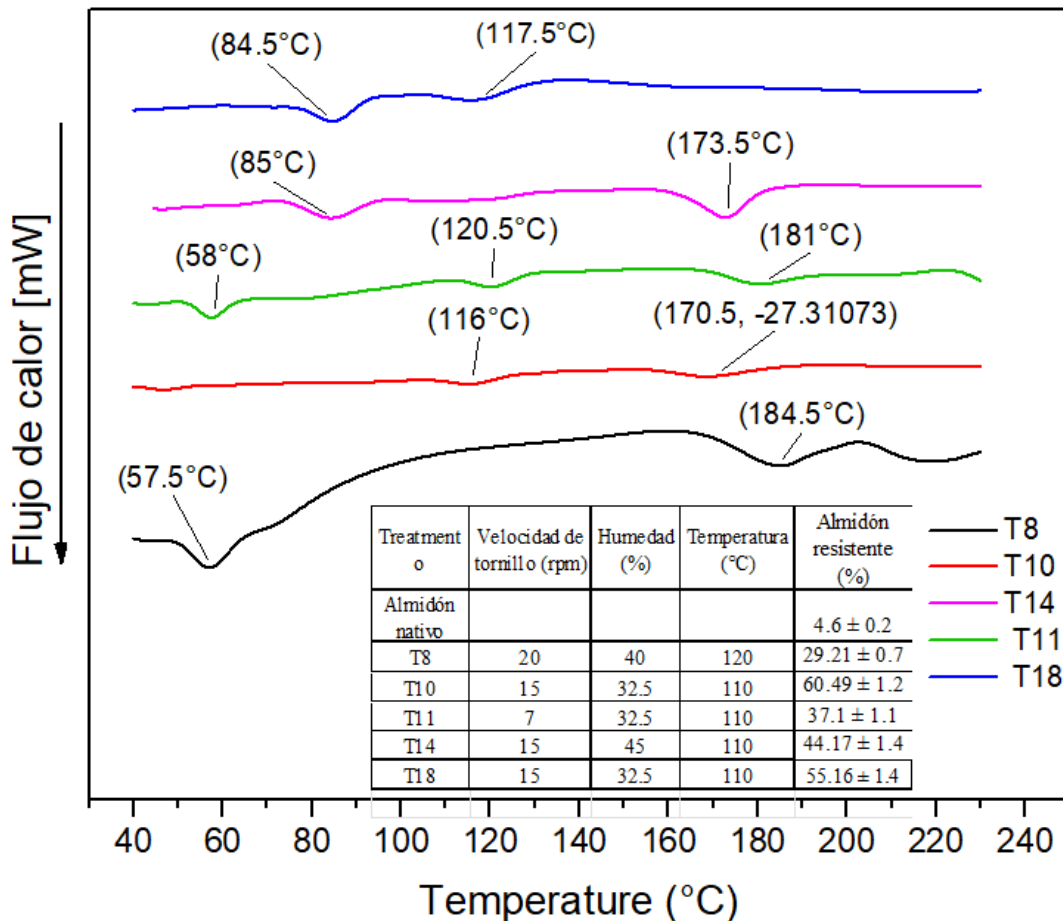
De acuerdo con los resultados obtenidos en FTIR, se muestra que todos los tratamientos existen una interacción entre las biomoléculas del almidón y el ácido esteárico, sin embargo, no se muestra una tendencia con el porcentaje de AR formado, a partir de cada tratamiento. Por lo que se requiere un análisis del efecto de cada uno de los parámetros.

## **5.8 Propiedades térmicas del AR tipo 5 obtenido por extrusión**

De acuerdo con los resultados obtenido previamente, se observó que el mayor porcentaje de AR se tiene al incrementar la temperatura final del extrusor y al incrementar el porcentaje de humedad

de la muestra. En la [Figura 29](#) se muestran los termogramas correspondientes a los tratamientos 2 (20 rpm, 25% humedad, 100°C); 7 (10rpm, 40% humedad, 120°C); 8 (20rpm,40% humedad, 120°C) y 15 (15 rpm, 32% humedad, 93°C), los cuales mostraron el mayor porcentaje de almidón resistente.

En la [Figura 28](#), se observa que los tratamientos presentan un pico endotérmico en un rango de 58 a 63°C, dicha transición está asociada al punto de fusión del ácido esteárico (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020).



**Figura 28. Propiedades térmicas de los complejos amilosa/amilopectina-ácido esteárico mediante extrusión**

Existen dos tipos de interacción almidón-lípido, las cuales son clasificadas, según su orden estructural en tipo I y tipo II. Dichos complejos se pueden estudiar mediante DSC, en donde se han reportado transiciones endotérmicas para el tipo I de 90-110°C y para el tipo II de 110 a 130°C (Tufvesson *et al.*, 2003).

En el tratamiento 2 (20 rpm, 25% humedad, 100°C) se presenta una transición endotérmica de T<sub>0</sub> a 136.6 °C y T<sub>f</sub> de 160.2 °C y una T<sub>p</sub> a 150 °C, con  $\Delta H$  de 25.26 J/g. Dicha transición puede asociarse a la formación de complejos de amilosa/amilopectina-lípido tipo II.

Para el tratamiento 8, se observó una transición endotérmica a T<sub>0</sub> a 157.6 °C, T<sub>p</sub> a 172.5 °C y T<sub>f</sub> a 184.82 con  $\Delta H$  de 11.97 J/g. Dicha transición también puede asociarse a la formación de complejos de amilosa/amilopectina-lípido tipo II. Exponer el almidón a una alta temperatura por tiempos cortos, dado por una baja velocidad de tornillo (<20rpm), provoca la disrupción del gránulo de almidón, así como la lixiviación de sus biomoléculas, mientras que una mayor velocidad de tornillo (20rpm) puede promover la fragmentación de la amilopectina, generando fragmentos de menor peso molecular, de manera aleatoria (Roman *et al.*, 2018), tales fragmentos son capaces de interactuar con el ácido graso. Como se muestra en el tratamiento 8 y 14, con una temperatura de 120 y 110°C respectivamente.

Se ha informado que el proceso de extrusión es capaz de fraccionar de manera aleatoria las cadenas de amilosa y amilopectina, provocando una reducción en su tamaño molecular (Roman *et al.*, 2018), además se ha estudiado la formación de complejos amilosa-lípido, usando un proceso de extrusión de alta humedad (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020), en donde se observó que es posible la interacción entre las biomoléculas del almidón (amilosa y amilopectina) y el ácido esteárico, sin embargo, no había aún no se había estudiado el efecto de los parámetros de extrusión para una mayor obtención de complejos almidón-lípidos.

Los análisis presentados en este estudio muestran que la formación de complejos almidón-lípido es posible mediante el uso de extrusión y que la configuración de los factores de extrusión



(velocidad de tornillo, humedad y temperatura) son determinantes para una mayor obtención de complejos y en consecuencia una mayor cantidad de almidón resistente. Lo cual pudo confirmarse con los resultados de la cuantificación de AR y los termogramas de DSC, ya que se puede confirmar la interacción entre el almidón y el ácido graso que son los responsables de la formación de AR tipo 5.

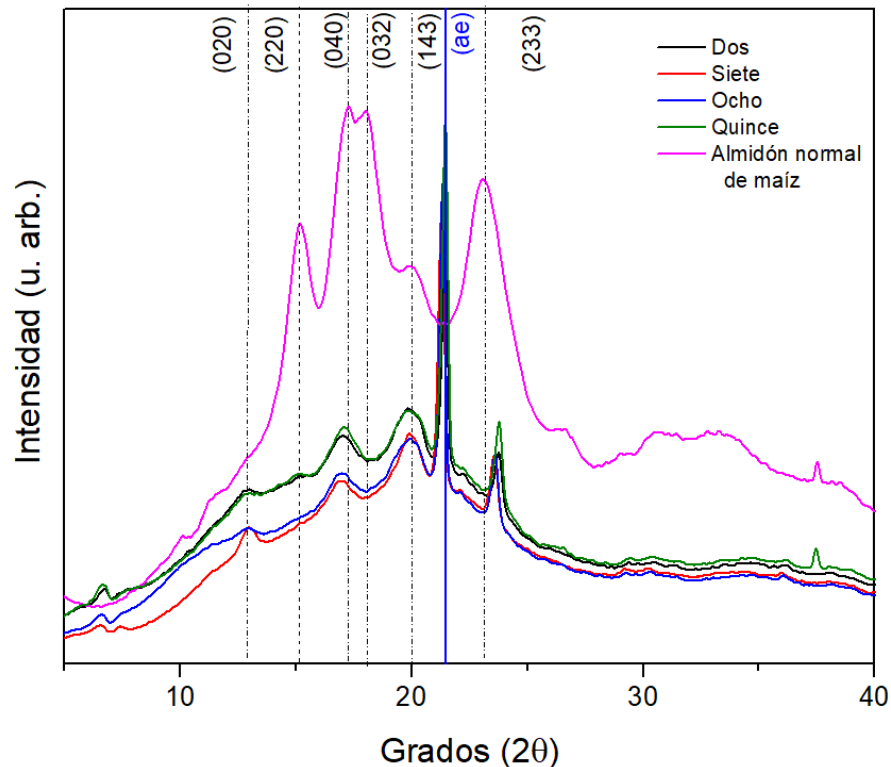
Finalmente, los resultados de este estudio muestran que la obtención de AR tipo 5, es posible mediante el uso de fuentes más asequibles como el almidón de maíz, usando tecnologías económicas, como la extrusión. Siendo esta una gran alternativa para la obtención de este ingrediente para la industria alimentaria.

### **5.9 Caracterización cristalina por difracción de rayos X (DRX) para AR5 formado por extrusión**

En la [Figura 29](#), se muestran los patrones de difracción almidón nativo de maíz y los complejos de amilosa/amilopectina-ácido esteárico con extrusión. El almidón nativo de maíz mostró una estructura cristalina ortorrómbica, asociada al patrón cristalino tipo-A, el cual presenta ángulos característicos en  $15.8734^\circ$ ,  $17.6732^\circ$  y  $23.4654^\circ$  en  $2\theta$  (Rodríguez-García *et al.*, 2021).

Se puede observar que, para los tratamientos 2 (20 rpm, 25% humedad,  $100^\circ\text{C}$ ); 7 (10rpm, 40% humedad,  $120^\circ\text{C}$ ); 8 (20rpm,40% humedad,  $120^\circ\text{C}$ ) y 15 (15 rpm,32% humedad,  $93^\circ\text{C}$ ), mostraron un mayor porcentaje de almidón resistente.

Además, dichas muestras presentaron cambios en su estructura cristalina, en donde se puede apreciar que existe una disminución de la intensidad relativa en los planos (220), (040) y (032), así como un aumento de la intensidad relativa en el plano (143). Dichos cambios sugieren un daño en la estructura cristalina, dada por el tratamiento térmico (Cabrera-Ramírez *et al.*, 2021).



**Figura 29. Patrones de difracción de Rayos X para los complejos formados con almidón de maíz y ácido esteárico, mediante extrusión**

Cabrera-Ramírez *et al.*, (2021) reportan que el proceso de extrusión es capaz de modificar la estructura cristalina del almidón, ya que, de manera general, una reducción en la intensidad del patrón de difracción de rayos X, se asocia con un daño en la estructura del granulo, en el caso de la extrusión es asociado a la gelatinización que el granulo de almidón sufre durante este procesamiento.

Por otro lado, también se observó un pico en 12.0142° en 2θ correspondiente al plano (020) y 20° dado por el plano (143), los cuales se ha reportado que corresponden a la formación de la estructura cristalina tipo-V, asociada a la formación de complejos almidón-lípido. También se pudo observar la presencia de un pico a 3° correspondiente al plano (300), el cual es difractado por el ácido esteárico en una escala de 2θ. Sin embargo, se debe destacar que la aparición de un pico

no asegura la generación de una nueva estructura, sino una modificación en la estructura cristalina (Cervantes-Ramírez *et al.*, 2020).

Tales resultados indican que existe una clara evidencia de una modificación estructural posterior al tratamiento de extrusión, y que existe una interacción entre amilosa/amilopectina-ácido esteárico, lo cual da lugar al incremento en el porcentaje de almidón resistente. Esto debido a que los resultados obtenidos a lo largo del estudio de la formación de almidón resistente, mediante extrusión, se observa una disminución en la intensidad del patrón de difracción de rayos X, por lo que se puede inferir que la estructura del gránulo de almidón sufrió una modificación irreversible, es decir fue gelatinizado y esto dio lugar a la liberación de sus biomoléculas (amilosa y amilopectina), por lo que están disponibles para ensamblarse con las moléculas de ácido graso (Gutiérrez y Tovar, 2021), lo que finalmente genera la modificación final de la estructura cristalina, sin embargo, aún no existe evidencia suficiente para la afirmación de una nueva estructura cristalina.

Finalmente, en este estudio se pudo observar que es posible decir que la obtención de AR tipo 5 mediante el uso de extrusión es una tecnología viable, además del uso de fuente asequibles como el almidón de maíz, permiten la obtención de este ingrediente a un menor costo, lo cual tiene beneficios en la industria alimentaria, así como para el consumidor, ya que se obtiene un ingrediente a bajo costo, pero con beneficios a la salud humana.

## Conclusiones

La formación de complejos almidón-lípido, resultante de la interacción de ácidos grasos con moléculas de amilosa y amilopectina, varía en función del método de tratamiento y las condiciones específicas de cada proceso. Las tecnologías emergentes como el calentamiento óhmico ofrecen una alternativa prometedora para la producción de ingredientes alimentarios, permitiendo procesos más económicos, rápidos y con menores requerimientos de agua.

En tratamientos convencionales, el contenido de almidón resistente (AR) depende del tiempo de interacción y la temperatura de tratamiento. La mayor cantidad de AR se obtuvo a temperaturas de ebullición, aunque este método requiere tiempos prolongados (45 min) debido a la necesidad de agitación constante y temperaturas superiores a 90°C, siendo un método efectivo, pero requiere tiempos prolongados.

Por otro lado, un proceso dinámico como la extrusión, es crucial el control de los parámetros como humedad, temperatura y velocidad de tornillo, para obtener el mayor porcentaje de AR tipo 5. La presente investigación mostró que las condiciones óptimas para la formación de AR en la extrusión fueron una temperatura final de 110-120°C, 40% de humedad y una velocidad de tornillo de 10-15 rpm.

En tratamientos estáticos como el calentamiento óhmico, la intensidad del voltaje es determinante, ya que la energía eléctrica induce efectos térmicos y no térmicos en el almidón. El efecto térmico provoca una rápida gelatinización y liberación de amilosa y amilopectina, facilitando su interacción con el ácido esteárico. El efecto no térmico causa la ruptura de la estructura granular del almidón, liberando radicales carbonilos que interactúan con otras moléculas de amilosa y amilopectina o con el ácido esteárico, aumentando el contenido de almidón resistente, lo cual presenta una alternativa innovadora para la formación de AR tipo-5.

Por lo que los hallazgos en el presente estudio representan una innovación significativa en la industria alimentaria, para el desarrollo nuevos productos. Ya que el uso de tecnologías dinámicas controladas como la extrusión o bien tecnologías emergentes como calentamiento óhmico permite la obtención de ingredientes o suplementos que pueden enfocarse en el control glucémico, aprovechando los efectos del AR tipo 5, atendiendo las necesidades de la población con diabetes o bien, aquellas en riesgo de desarrollar resistencia a la insulina.

Además, el desarrollo de nuevos ingredientes basados en la formación de AR tipo 5 pueden contribuir a la mejora de la salud digestiva, promoviendo el crecimiento de bacterias beneficiosas en el intestino.

Por lo que el uso de tecnologías emergentes controladas permite la innovación de productos alimentarios con beneficios para la salud humana.

## 6 Referencias

- AACC, 2000. Approved Method of the AACC, ninth ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul
- Acosta-Estrada, B.A., Lazo-Vélez, M.A., Nava-Valdez, Y., Gutiérrez-Urbe, J.A., Serna-Saldívar, S.O., 2014. Improvement of dietary fiber, ferulic acid and calcium contents in pan bread enriched with nejayote food additive from white maize (*Zea mays*). *J. Cereal Sci.* 60, 264–269. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.04.006>
- Ai, Y., Jane, J.L., 2017. Understanding Starch Structure and Functionality, *Starch in Food: Structure, Function and Applications: Second Edition*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100868-3.00003-2>
- Ajita, T., Jha, S.K., 2017. Extrusion cooking technology: Principal mechanism and effect on direct expanded snacks – An overview. *Int. J. Food Stud.* 6, 113–128. <https://doi.org/10.7455/ijfs/6.1.2017.a10>
- An, H.J., King, J.M., 2007. Thermal characteristics of ohmically heated rice starch and rice flours. *J. Food Sci.* 72, C084–C088. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00239.x>
- Bello-Perez, L.A., Hoyos-Leyva, J.D., 2017. Development of Foods High in Slowly Digestible and Resistant Starch, *Starch in Food: Structure, Function and Applications: Second Edition*. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100868-3.00022-6>
- Bemiller, J.N., 2019. Carbohydrate Chemistry for Food Scientists, Chapter 6 Starches: Molecular and Granular Structures and properties. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812069-9.00006-6>
- Bertoft, E., 2018. Analyzing Starch Molecular Structure, in: *Starch in Food*. Elsevier, pp. 97–149. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100868-3.00002-0>
- Bertoft, E., 2017. Understanding starch structure: Recent progress. *Agronomy* 7. <https://doi.org/10.3390/agronomy7030056>
- Bertoft, E., 2013. On the building block and backbone concepts of amylopectin structure. *Cereal Chem.* 90, 294–311. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-01-13-0004-FI>

- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., Ball, S., 1998. Starch granules: Structure and biosynthesis. *Int. J. Biol. Macromol.* 23, 85–112. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(98\)00040-3](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(98)00040-3)
- Butz, P., Tauscher, B., 2002. Emerging technologies: Chemical aspects. *Food Res. Int.* 35, 279–284. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00197-1)
- Cabrera-ramírez, Á.H., Rodríguez-garcía, M.E., Cabrera-ram, A.H., Cervantes-ram, E., Morales-s, E., 2021. Effect of Extrusion on the Crystalline Structure of Starch during RS5 Formation Effect of Extrusion on the Crystalline Structure of Starch during RS5 Formation. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2010013>
- Castro-Campos, F.G., Cabrera-Ramírez, A.H., Morales-Sánchez, E., Rodríguez-García, M.E., Villamiel, M., Ramos-López, M., Gaytán-Martínez, M., 2021. Impact of the popping process on the structural and thermal properties of sorghum grains (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Food Chem.* 348, 129092. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129092>
- Castro-Campos, F.G., Morales-Sánchez, E., Cabrera-Ramírez, Á.H., Martínez, M.M., Rodríguez-García, M.E., Gaytán-Martínez, M., 2023. High amylose starch thermally processed by ohmic heating: Electrical, thermal, and microstructural characterization. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 87, 103417. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2023.103417>
- Castro-Muñoz Roberto, 2023. Emerging Processes for Sustainable Processing of Food Ingredients and Products. *Foods* 12, 10–12.
- Cervantes-Ramírez, Cabrera-Ramírez, A., Morales-Sánchez, E., Rodríguez-García, M.E., Reyes-Vega, M. de la L., Ramírez-Jiménez, A.K., Contreras-Jiménez, B., Gaytán-Martínez, M., 2020. Amylose-lipid complex formation from extruded maize starch mixed with fatty acids. *Carbohydr. Polym.* In Press, 116555. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116555>
- Cervantes-Ramírez, J.E., Cabrera-Ramírez, A.H., Morales-Sánchez, E., Rodríguez-García, M.E., Reyes-Vega, M. de la L., Ramírez-Jiménez, A.K., Contreras-Jiménez, B.L., Gaytán-Martínez, M., 2020. Amylose-lipid complex formation from extruded maize starch mixed with fatty acids. *Carbohydr. Polym.* 246, 116555. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116555>
- Chang, F., He, X., Huang, Q., 2013. The physicochemical properties of swelled maize starch

- granules complexed with lauric acid. *Food Hydrocoll.* 32, 365–372.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.01.021>
- Changsheng, L., Yongcai, H., Huang, R., Wu, Y., Wang, W., 2018. The genetic architecture of amylose biosynthesis in maize kernel. *Plant Biotechnol. J.* 16, 688–695.  
<https://doi.org/10.1111/pbi.12821>
- Chao, C., Yu, J., Wang, Shuo, Copeland, L., Wang, Shujun, 2018. Mechanisms Underlying the Formation of Complexes between Maize Starch and Lipids. *J. Agric. Food Chem.* 66, 272–278. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05025>
- Chen, Y.F., Kaur, L., Singh, J., 2017. Chemical Modification of Starch, *Starch in Food: Structure, Function and Applications: Second Edition.* Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100868-3.00007-X>
- dos Santos Alves, L.A.A., Lorenzo, J.M., Gonçalves, C.A.A., Santos, B.A. dos, Heck, R.T., Cichoski, A.J., Campagnol, P.C.B., 2016. Production of healthier bologna type sausages using pork skin and green banana flour as a fat replacers. *Meat Sci.* 121, 73–78.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.001>
- Duggan, E., Noronha, N., O’Riordan, E.D., O’Sullivan, M., 2008. Effect of resistant starch on the water binding properties of imitation cheese. *J. Food Eng.* 84, 108–115.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.04.028>
- Escobar-Puentes, A., Rincón, S., García-Gurrola, A., Zepeda, A., Calvo-López, A.D., Martínez-Bustos, F., 2019. Development of a third-generation snack with type 4 resistant sorghum starch: Physicochemical and sensorial properties. *Food Biosci.* 32, 100474.  
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100474>
- Fässler, C., Gill, C.I.R., Arrigoni, E., Rowland, I., Amadó, R., 2007. Fermentation of resistant starches: Influence of in vitro models on colon carcinogenesis. *Nutr. Cancer* 58, 85–92.  
<https://doi.org/10.1080/01635580701308232>
- Flores-García, F.M., Morales-Sánchez, E., Gaytán-Martínez, M., de la Cruz, G.V., Méndez-Montealvo, M.G. del C., 2024. Effect of electric field on physicochemical properties and resistant starch formation in ohmic heating processed corn starch. *Int. J. Biol. Macromol.* 266. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131414>



- Fuentes-Barría, H., Muñoz, D., Aquilera, R., González, C., 2018. Artículo de Revisión / Review Article. *Rev. Chil. Nutr.* 45, 178–182. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182018000300178>
- Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M.J., Sánchez-Zapata, E., Pérez-Álvarez, J.A., 2010. Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Res. Int.* 43, 931–942. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.02.004>
- Galanakis, C.M., 2021. Functionality of food components and emerging technologies. *Foods* 10, 1–26. <https://doi.org/10.3390/foods10010128>
- Gaytán-Martínez, M., Figueroa, J.D.C., Vázquez-Landaverde, P.A., Morales-Sánchez, E., Martínez-Flores, H.E., Reyes-Vega, M.L., 2012. Caracterización fisicoquímica, funcional y química de harinas nixtamalizadas de maíz obtenidas por calentamiento óhmico y proceso tradicional. *CYTA - J. Food* 10, 182–195. <https://doi.org/10.1080/19476337.2011.606478>
- Gutiérrez, T.J., Tovar, J., 2021. Update of the concept of type 5 resistant starch (RS5): Self-assembled starch V-type complexes. *Trends Food Sci. Technol.* 109, 711–724. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.078>
- Haralampu, S.G., 2000. Resistant starch - a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydr. Polym.* 41, 285–292. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00147-2](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00147-2)
- Hu, X., Huang, Z., Zeng, Z., Deng, C., Luo, S., Liu, C., 2020. Improving resistance of crystallized starch by narrowing molecular weight distribution. *Food Hydrocoll.* 103, 105641. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105641>
- Hung, P. Van, Lam, N., Thi, N., Phi, L., 2015. Resistant starch improvement of rice starches under a combination of acid and heat-moisture treatments. *FOOD Chem.* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.002>
- Indiarto, R., Rezaharsanto, B., 2020. A review on ohmic heating and its use in food. *Int. J. Sci. Technol. Res.* 9, 485–490.
- Joye, I.J., 2018. Starch, in: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, pp. 146–151. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00661-9>
- Kaur, N., Singh, A.K., 2016. Ohmic Heating: Concept and Applications—A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 56, 2338–2351. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.835303>

- Khatun, A., Waters, D.L.E., Liu, L., 2019. A Review of Rice Starch Digestibility: Effect of Composition and Heat-Moisture Processing. *Starch/Staerke* 71, 1–14.  
<https://doi.org/10.1002/star.201900090>
- Khoozani, A.A., Birch, J., Bekhit, A.E.A., Science, F., 2018. Resistant Starch Preparation Methods, in: *Encyclopedia of Food Chemistry*. Elsevier, pp. 1–5.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22491-8>
- Kizil, R., Irudayaraj, J., Seetharaman, K., 2002. Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3912–3918.  
<https://doi.org/10.1021/jf011652p>
- Knirsch, M.C., Alves dos Santos, C., Martins de Oliveira Soares Vicente, A.A., Vessoni Penna, T.C., 2010. Ohmic heating - a review. *Trends Food Sci. Technol.* 21, 436–441.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.06.003>
- Krishnan, V., Mondal, D., Thomas, B., Singh, A., Praveen, S., 2021. Starch-lipid interaction alters the molecular structure and ultimate starch bioavailability: A comprehensive review. *Int. J. Biol. Macromol.* 182, 626–638. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.030>
- Lau, E., Zhou, W., Henry, C.J., 2016. Effect of fat type in baked bread on amylose-lipid complex formation and glycaemic response. *Br. J. Nutr.* 115, 2122–2129.  
<https://doi.org/10.1017/S0007114516001458>
- Lee, H.S., Kim, K.H., Park, S.H., Hur, S.W., Auh, J.H., 2020. Amylose-lipid complex as a fat replacement in the preparation of low-fat white pan bread. *Foods* 9, 1–12.  
<https://doi.org/10.3390/foods9020194>
- Lesmes, U., Cohen, S.H., Shener, Y., Shimoni, E., 2009. Effects of long chain fatty acid unsaturation on the structure and controlled release properties of amylose complexes. *Food Hydrocoll.* 23, 667–675. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.04.003>
- Li, F.-D., Li, L.-T., Li, Z., Tatsumi, E., 2004. Determination of starch gelatinization temperature by ohmic heating. *J. Food Eng.* 62, 113–120. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00199-7](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00199-7)
- Liu, G., Gu, Z., Hong, Y., Cheng, L., Li, C., 2017. Structure, functionality and applications of debranched starch: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 63, 70–79.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.004>

- Liu, S., Reimer, M., Ai, Y., 2020. In vitro digestibility of different types of resistant starches under high-temperature cooking conditions. *Food Hydrocoll.* 107, 105927.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105927>
- Luo S, Zeng Z, Mei Y, Huang K, Wu J, Liu C, H.X., 2020. Improving ordered arrangement of the short-chain amylose-lipid complex by narrowing molecular weight distribution of short-chain amylose. *Carbohydr. Polym.* 116544. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116359>
- Luo, S., Zeng, Z., Mei, Y., Huang, K., Wu, J., Liu, C., Hu, X., 2020. Improving ordered arrangement of the short-chain amylose-lipid complex by narrowing molecular weight distribution of short-chain amylose. *Carbohydr. Polym.* 240, 116359.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116359>
- Manthey, F.A., 2015. Starch: Sources and Processing, 1st ed, Encyclopedia of Food and Health. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00658-9>
- Marinopoulou, A., Papastergiadis, E., Raphaelides, S.N., 2016a. An investigation into the structure, morphology and thermal properties of amylo maize starch-fatty acid complexes prepared at different temperatures. *Food Res. Int.* 90, 111–120.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.035>
- Marinopoulou, A., Papastergiadis, E., Raphaelides, S.N., Kontominas, M.G., 2016b. Morphological characteristics, oxidative stability and enzymic hydrolysis of amylose-fatty acid complexes. *Carbohydr. Polym.* 141, 106–115.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.062>
- Mariscal-Moreno, R.M., de Dios Figueroa Cárdenas, J., Santiago-Ramos, D., Rayas-Duarte, P., Veles-Medina, J.J., Martínez-Flores, H.E., 2017. Nixtamalization Process Affects Resistant Starch Formation and Glycemic Index of Tamales. *J. Food Sci.* 82, 1110–1115.  
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.13703>
- Mariscal-Moreno, R.M., Figueroa-Cárdenas, J. de D., Santiago-Ramos, D., Rayas-Duarte, P., 2019. Amylose lipid complexes formation as an alternative to reduce amylopectin retrogradation and staling of stored tortillas. *Int. J. Food Sci. Technol.* 54, 1651–1657.  
<https://doi.org/10.1111/ijfs.14040>
- Mariscal Moreno, R.M., Figueroa, J.D.C., Santiago-Ramos, D., Villa, G.A., Sandoval, S.J.,

- Rayas-Duarte, P., Véles-Medina, J.J., Martínez Flores, H.E., 2015. The effect of different nixtamalisation processes on some physicochemical properties, nutritional composition and glycemic index. *J. Cereal Sci.* 65, 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.06.016>
- Martinez, M.M., 2021. Starch nutritional quality : beyond intraluminal digestion in response to current trends. *Curr. Opin. Food Sci.* 38, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.024>
- Martinez, M.M., Snelson, M., Jong, J., Manolas, D., Kok, S., Louise, A., Stern, R., Kellow, N.J., Heard, K.J., Cornier, M., Marden, T., Higgins, J.A., Wang, Y., Chen, J., Song, Y., Zhao, R., Xia, L., Chen, Y., Cui, Y., Rao, Z., Zhou, Y., 2019. nutrients Metabolic Effects of Resistant Starch Type 2 : A Systematic Literature Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Curr. Opin. Food Sci.* 38, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.024>
- Morales-Sánchez, E., Gaytán-Martínez, M., Rodríguez-García, M.E., Millan-Malo, B.M., Cabrera-Ramírez, A.H., 2023. Behavior of Pasting Properties of Ohmic-Heated Corn Starch Versus Moisture and Temperature Applied. *Starch/Staerke* 2200245, 1–9. <https://doi.org/10.1002/star.202200245>
- Morales-Sanchez, E., Vazquez-Landaverde, P.A., Gaytan-Martinez, M., Huerta-Ruelas, J.A., 2009. Electrical conductivity of heated cornstarch-water mixtures. *J. Food Process Eng.* 32, 817–827. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2008.00246.x>
- Mudgil, D., Barak, S., 2013. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *Int. J. Biol. Macromol.* 61, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.06.044>
- Niot, I., Poirier, H., Tran, T.T.T., Besnard, P., 2009. Intestinal absorption of long-chain fatty acids: Evidence and uncertainties. *Prog. Lipid Res.* 48, 101–115. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2009.01.001>
- Nishiyama, Y., Mazeau, K., Morin, M., Cardoso, M.B., Chanzy, H., Putaux, J.L., 2010. Molecular and crystal structure of 7-fold V-amylose complexed with 2-propanol. *Macromolecules* 43, 8628–8636. <https://doi.org/10.1021/ma101794w>
- Okumus, B.N., Tacer-Caba, Z., Kahraman, K., Nilufer-Erdil, D., 2018. Resistant starch type V

- formation in brown lentil (*Lens culinaris* Medikus) starch with different lipids/fatty acids. *Food Chem.* 240, 550–558. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.157>
- Öztürk, S., Mutlu, S., 2019a. Physicochemical Properties, Modifications, and Applications of Resistant Starches, *Starches for Food Application*. Chapter 8. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809440-2.00008-3>
- Öztürk, S., Mutlu, S., 2019b. Physicochemical Properties, Modifications, and Applications of Resistant Starches, *Starches for Food Application*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809440-2.00008-3>
- Öztürk, S., Mutlu, S., 2018. Physicochemical Properties, Modifications, and Applications of Resistant Starches, *Starches for Food Application*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809440-2.00008-3>
- Panyoo, A.E., Emmambux, M.N., 2019. Effects of Screw Configuration, Screw Speed, and Stearic Acid Addition on the Functional Properties and Structural Characteristics of Maize Starch Extrudates. *Starch/Staerke* 71, 1–10. <https://doi.org/10.1002/star.201800149>
- Pérez-Herrera, A., Cruz-López, M., 2019. Childhood obesity: Current situation in Mexico. *Nutr. Hosp.* 36, 463–469. <https://doi.org/10.20960/nh.2116>
- Pérez, S., Bertoft, E., 2010. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. *Starch/Staerke* 62, 389–420. <https://doi.org/10.1002/star.201000013>
- Preiss, J., 2017. *Plant Starch Synthesis, Starch in Food: Structure, Function and Applications: Second Edition*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100868-3.00001-9>
- Priebe, M.G., Eelderink, C., Wachters-Hagedoorn, R.E., Vonk, R.J., 2017. Starch Digestion and Applications of Slowly Available Starch, *Starch in Food: Structure, Function and Applications: Second Edition*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100868-3.00021-4>
- Priyan, V.V., Shahnaz, T., Kunnumakkara, A.B., Rana, V., Saravanan, M., Narayanasamy, S., 2020. Antioxidant, Anti-inflammatory and Biosorption Properties of Starch Nanocrystals In Vitro Study: Cytotoxic and Phytotoxic Evaluation. *J. Clust. Sci.* 2020 325 32, 1419–1430. <https://doi.org/10.1007/S10876-020-01905-5>

- Putseys, J.A., Lamberts, L., Delcour, J.A., 2010. Amylose-inclusion complexes: Formation, identity and physico-chemical properties. *J. Cereal Sci.* 51, 238–247.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.01.011>
- Quiroga Ledezma, C.C., 2017. Starch Interactions With Native and Added Food Components, *Starch in Food: Structure, Function and Applications: Second Edition*. Elsevier Ltd.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100868-3.00020-2>
- Raigond, P., Ezekiel, R., Raigond, B., 2015. Resistant starch in food: A review. *J. Sci. Food Agric.* 95, 1968–1978. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6966>
- Ramawat, K.G., 2019. *Bioactive Molecules in Food - Reference Series in Phytochemistry*.
- Ramírez-Jiménez, A.K., Rangel-Hernández, J., Morales-Sánchez, E., Loarca-Piña, G., Gaytán-Martínez, M., 2019. Changes on the phytochemicals profile of instant corn flours obtained by traditional nixtamalization and ohmic heating process. *Food Chem.* 276, 57–62.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.166>
- Rincón-Londoño, N., Millan-Malo, B., Rodríguez-García, M.E., 2016. Analysis of thermal pasting profile in corn starch rich in amylose and amylopectin: Physicochemical transformations, part II. *Int. J. Biol. Macromol.* 89, 43–53. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.057>
- Rodríguez-García, M.E., Hernández-Landaverde, M.A., Delgado, J.M., Ramírez-Gutiérrez, C.F., Ramírez-Cardona, M., Millan-Malo, B.M., Londoño-Restrepo, S.M., 2021. Crystalline structures of the main components of starch. *Curr. Opin. Food Sci.* 37, 107–111.  
<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.002>
- Roman, L., Gomez, M., Hamaker, B.R., Martínez, M.M., 2018. Shear scission through extrusion diminishes inter-molecular interactions of starch molecules during storage. *J. Food Eng.* 238, 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.06.019>
- Rosicka-Kaczmarek, J., Kwaśniewska-Karolak, I., Nebesny, E., Komisarczyk, A., 2017. The Functionality of Wheat Starch. *Starch Food Struct. Funct. Appl. Second Ed.* 325–352.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100868-3.00008-1>
- Santiago-Ramos, D., Figueroa-Cárdenas, J. de D., Vélez-Medina, J.J., Mariscal-Moreno, R.M., 2017. Changes in the thermal and structural properties of maize starch during nixtamalization and tortilla-making processes as affected by grain hardness. *J. Cereal Sci.*

74, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.01.018>

Santiago-Ramos, D., Figueroa-Cárdenas, J. de D., Véles-Medina, J.J., Mariscal-Moreno, R.M., Reynoso-Camacho, R., Ramos-Gómez, M., Gaytán-Martínez, M., Morales-Sánchez, E., 2015. Resistant Starch Formation in Tortillas from an Ecological Nixtamalization Process. *Cereal Chem. J.* 92, 185–192. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-08-14-0170-R>

Santiago-Ramos, D., Figueroa-Cárdenas, J.D.D., Mariscal-Moreno, R.M., Ramos-Gomez, M., Gaytán-Martínez, M., Morales-Sánchez, E., 2014. Resistant Starch Formation in Tortillas From an Ecological 5, 1–32.

Šárka, E., Dvořáček, V., 2017. New processing and applications of waxy starch (a review). *J. Food Eng.* 206, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.006>

Schmiele, M., Sampaio, U.M., Pedrosa Silva Clerici, M.T., 2019. Basic Principles, Starches for Food Application. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809440-2.00001-0>

Sharanagat, V.S., Suhag, R., Anand, P., Deswal, G., Kumar, R., Chaudhary, A., Singh, L., Singh, O., Mani, S., Kumar, Y., Nema, P.K., 2018. Physico-functional, thermo-pasting and antioxidant properties of microwave roasted sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *J. Cereal Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.11.013>

Singh, J., Dartois, A., Kaur, L., 2010. Starch digestibility in food matrix: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 21, 168–180. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.12.001>

Snelson, M., Jong, J., Manolas, D., Kok, S., Louise, A., Stern, R., Kellow, N.J., 2019. nutrients Metabolic Effects of Resistant Starch Type 2 : A Systematic Literature Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials.

Sun, S., Hong, Y., Gu, Z., Cheng, L., Li, Z., Li, C., 2019. An investigation into the structure and digestibility of starch-oleic acid complexes prepared under various complexing temperatures. *Int. J. Biol. Macromol.* 138, 966–974. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.166>

Sun, S., Jin, Y., Hong, Y., Gu, Z., Cheng, L., Li, Z., Li, C., 2021a. Effects of fatty acids with various chain lengths and degrees of unsaturation on the structure, physicochemical properties and digestibility of maize starch-fatty acid complexes. *Food Hydrocoll.* 110, 106224. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106224>

- Sun, S., Jin, Y., Hong, Y., Gu, Z., Cheng, L., Li, Z., Li, C., 2021b. Effects of fatty acids with various chain lengths and degrees of unsaturation on the structure, physicochemical properties and digestibility of maize starch-fatty acid complexes. *Food Hydrocoll.* 110, 106224. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106224>
- Tacer-caba, Z., Nilufer-erdil, D., 2019. Resistant Starch, *Encyclopedia of Food Chemistry*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22407-4>
- Tester, R.F., Karkalas, J., Qi, X., 2004. Starch—composition, fine structure and architecture. *J. Cereal Sci.* 39, 151–165. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.12.001>
- Tufvesson, F., Wahlgren, M., Eliasson, A.C., 2003. Formation of amylose-lipid complexes and effects of temperature treatment - Part 1. Monoglycerides. *Starch/Staerke* 55, 61–71. <https://doi.org/10.1002/star.200390018>
- Vamadevan, V., Bertoft, E., 2014. Structure-function relationships of starch components. *Starch/Staerke* 67, 55–68. <https://doi.org/10.1002/star.201400188>
- Varghese, K.S., Pandey, M.C., Radhakrishna, K., Bawa, A.S., 2014. Technology, applications and modelling of ohmic heating: a review. *J. Food Sci. Technol.* 51, 2304–2317. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0710-3>
- Vázquez-Morales, E., Calderon-Ramos, G.Z., Arias-Rico, J.J.C., Ruvalcaba Ledezma, L.A., Rivera Ramírez, E., Carlos, R.M.J., 2019. Sedentary lifestyle, feeding, obesity, alcohol and tobacco consumption as risk factors for the development of type 2 diabetes. *J. Negat. No Posit. Results* 4, 1011–1021. <https://doi.org/10.19230/jonnpr.3068>
- Walsh, S.K., Lucey, A., Walter, J., Zannini, E., Arendt, E.K., 2022. Resistant starch—An accessible fiber ingredient acceptable to the Western palate. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 21, 2930–2955. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12955>
- Wang, Chao, C., Cai, J., Niu, B., Copeland, L., Wang, S., 2020. Starch–lipid and starch–lipid–protein complexes: A comprehensive review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 19, 1056–1079. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12550>
- Wang, L., Wang, W., Wang, Y., Xiong, G., Mei, X., Wu, W., Ding, A., Li, X., Qiao, Y., Liao, L., 2018. Effects of fatty acid chain length on properties of potato starch–fatty acid complexes under partially gelatinization. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1489842> 21, 2121–



2134. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1489842>

Wang, S., 2020. Starch Structure, Functionality and Application in Foods, Starch Structure, Functionality and Application in Foods. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-0622-2>

Wang, Shujun, Li, C., Copeland, L., Niu, Q., Wang, Shuo, 2015. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 14, 568–585. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12143>

Wang, Shujun, Wang, J., Yu, J., Wang, Shuo, 2016. Effect of fatty acids on functional properties of normal wheat and waxy wheat starches: A structural basis. *Food Chem.* 190, 285–292. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.086>

Wang, Shujun, Zheng, M., Yu, J., Wang, Shuo, Copeland, L., 2017. Insights into the Formation and Structures of Starch-Protein-Lipid Complexes. *J. Agric. Food Chem.* 65, 1960–1966. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05772>

Wang, Y., Chen, J., Song, Y., Zhao, R., Xia, L., Chen, Y., Cui, Y., Rao, Z., Zhou, Y., 2019. Effects of the resistant starch on glucose , insulin , insulin resistance , and lipid parameters in overweight or obese adults : a systematic review and meta-analysis. *Nutr. Diabetes.* <https://doi.org/10.1038/s41387-019-0086-9>

Warren, F.J., Gidley, M.J., Flanagan, B.M., 2016. Infrared spectroscopy as a tool to characterise starch ordered structure - A joint FTIR-ATR, NMR, XRD and DSC study. *Carbohydr. Polym.* 139, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.066>

Wilson, J.D., Zhu, L., Smith, B.M., Ioerger, B.P., Tilley, M., Bean, S.R., 2018. Starch and Protein Chemistry and Functional Properties, Sorghum and Millets. AACCI. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811527-5.00006-x>

Xu, J., Blennow, A., Li, X., Chen, L., Liu, X., 2020. Gelatinization dynamics of starch in dependence of its lamellar structure, crystalline polymorphs and amylose content. *Carbohydr. Polym.* 229, 115481. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115481>

Zaman, S.A., Sarbini, S.R., 2015. The potential of resistant starch as a prebiotic. *Crit. Rev. Biotechnol.* 1–7. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.993590>

Zeeman, S.C., Kossmann, J., Smith, A.M., 2010. Starch: Its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61, 209–234.

<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112301>

Zhao, W., Sugunan, A., Gillgren, T., Larsson, J.A., Zhang, Z. Bin, Zhang, S.L., Nordgren, N., Sommertune, J., Ahniyaz, A., 2021. Surfactant-free stabilization of aqueous graphene dispersions using starch as a dispersing agent. *ACS Omega* 6, 12050–12062.

<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.1c00699>

Zhu, F., 2018. Relationships between amylopectin internal molecular structure and physicochemical properties of starch. *Trends Food Sci. Technol.* 78, 234–242.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.024>