

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“Caracterización estructural de almidón resistente tipo V  
obtenido por extrusión”**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**JUAN ELIEL CERVANTES RAMÍREZ**

**DIRIGIDA POR**

**Dra. MARCELA GAYTÁN MARTÍNEZ**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2019.**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“Caracterización estructural de almidón resistente  
tipo V obtenido por extrusión”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**JUAN ELIEL CERVANTES RAMÍREZ**

**DIRIGIDA POR**

**Dra. MARCELA GAYTÁN MARTÍNEZ**

**SINODALES**

**Dra. MARCELA GAYTÁN MARTÍNEZ  
DIRECTOR**

**Dra. AUREA KARINA RAMÍREZ JIMÉNEZ  
SINODAL**

**Dra. MA GUADALUPE FLAVIA LOARCA PIÑA  
SINODAL**

**Dra. ROCIO CAMPOS VEGA  
SINODAL**

## **Agradecimientos**

Gracias a Dios, el Uno y Único. Porque sin ti nada sería. Por todo lo que me das y no me das.

Para mis papás que me han apoyado en todos los aspectos de mi vida, por darme las herramientas para desarrollarme como persona, por ser mi soporte y mi inspiración para ser una persona de bien. Por la educación, valores y el amor que me han dado incondicionalmente. Por su comprensión en mis momentos difíciles, y por estar siempre dispuestos a ayudarme. Las palabras no alcanzan para dimensionar el amor y agradecimiento que les tengo. Mis logros son sus logros.

Para mis hermanos que los quiero mucho y han sido mi ejemplo a seguir, por aguantar mis momentos de estrés, por apoyarme en mis momentos más complicados, y porque crecí siguiendo sus pasos llegando a ser la persona que soy hoy, muchas gracias por ser los mejores hermanos que pude tener.

Para mis amigos que han estado conmigo tantos años, y con lo que he vivido muchas cosas buenas y no tan buenas, por la paciencia, por sus palabras, por los momentos especiales que llegué a vivir con cada uno: Elliott, Marco, Eugenio, Saúl, Diego, Allison, Mayorie, Bettina, Monse, Natanael, Sandra, Jeni, Charly, Pao, Karen, Alan, Pedro, Alondra, Ady, Vanegas, Yoko, Kike, Tamara. Con cada uno de ustedes ha tenido una gran importancia en mi vida y siempre se los agradeceré.

Le agradezco a la Dra. Marcela Gaytán Martínez por otorgarme la confianza de realizar el proyecto, la paciencia, el tiempo y el conocimiento que me ha brindado durante la carrera.

Agradezco a mis sinodales, a la Dra. Rocío Campos, Dra. Aurea Karina Ramírez, y Dra. Flavia Loarca, por sus observaciones, transmitir sus conocimientos y acompañarme a lo largo de mi formación profesional y mi proyecto de tesis.

Agradezco al CICATA por abrirme las puertas para realizar el proyecto. Especialmente al Dr. Eduardo Morales por sus observaciones y apoyo con el equipo

durante mi estancia. A Ceci por el apoyo e instrucción en el laboratorio y hacer el trabajo más ameno.

Agradezco a la UNAM Campus Juriquilla (CFATA) por abrirme las puertas para realizar parte del proyecto. Especialmente al Dr. Mario Enrique Rodríguez por su disposición, apoyo y observaciones del proyecto. A la Dra. Brenda Contreras por su tiempo, atención y gran ayuda. A la M. C. Alicia del Real por su apoyo en el laboratorio de SEM y a la Dra. Beatriz Millán por su apoyo en el laboratorio de DRX.

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	
1. ANTECEDENTES	1
1.1 Generalidades del almidón	1
1.1.1 Amilosa	6
1.1.2 Amilopectina	7
1.2 Propiedades del almidón	9
1.2.1 Gelatinización	9
1.2.2 Retrogradación	10
1.3 Digestibilidad del almidón	11
1.3.1 Factores que afectan la digestibilidad del almidón	12
1.4 Índice glucémico	13
1.5 Almidón resistente	14
1.5.1 Beneficios a la salud del almidón resistente	15
1.5.2 Tipos de almidón resistente	16
1.5.3 Almidón resistente tipo V	17
1.5.3.1 Estructura del almidón resistente tipo V	18
1.5.3.2 Tipos de almidón resistente tipo V	18
1.5.3.3 Estabilidad térmica del complejo lípido-amilosa.	19
1.5.4 Preparación de almidón resistente mediante tratamiento térmico	19
1.6 Principios de la extrusión	20
1.6.1 Usos de la extrusión	20
1.7 Microestructura de almidones por DRX (difracción de rayos X)	21
2. HIPÓTESIS	26
3. OBJETIVOS	27

3.1 Objetivo general	27
3.2 Objetivos específicos	27
4. METODOLOGÍA	28
4.1 Materiales	28
4.2 Métodos	28
4.2.1 Elaboración de muestras	28
4.2.2 Procesamiento de muestras por extrusión	29
4.2.3 Determinación de las propiedades térmicas	29
4.2.4 Perfil de viscosidad	30
4.2.5 Difracción de rayos X	30
4.2.6 Espectroscopia infrarroja (FT-IR)	30
4.2.7 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	30
4.3 DISEÑO EXPERIMENTAL	31
4.3.1 Análisis estadístico	31
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
5.1 Determinación de las propiedades térmicas	32
5.2 Perfil de viscosidad	36
5.3 Difracción de rayos X (DRX)	43
5.4 Espectroscopia infrarroja (FT-IR)	48
5.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	51
6. CONCLUSIONES	57
7. BIBLIOGRAFÍA	59

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Diámetro promedio del gránulo y contenido de amilosa de almidón	3
2	Composición de gránulos de almidón	4
3	Propiedades térmicas de gelatinización	10
4	Índice glucémico en diferentes cantidades de almidón y almidón resistente	14
5	Propiedades térmicas del almidón extrudido adicionado con diferentes ácidos grasos	32
6	Efecto de los lípidos en el perfil de viscosidad de almidones extrudidos	38

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Micrografías de gránulos de diferentes tipos de almidón	2
2	Niveles estructurales del almidón en un grano de cereal	4
3	Estructura lineal elemental de amilosa	6
4	Estructura elemental de la amilopectina	7
5	Acomodo interno de las moléculas de amilosa en el gránulo de almidón	8
6	Ilustración esquemática de la interacción molecular lípido-amilosa	17
7	Patrones de difracción de rayos X de almidones con diferentes contenidos de amilosa/amilopectina	22
8	Patrones de difracción tipo A y V	24
9	Perfil de viscosidad de almidones extrudidos adicionados con diferentes ácidos grasos	39
10	Difracción de rayos X de almidones extrudidos adiciones de diferentes ácidos grasos	45
11	Espectroscopia de infrarrojo de almidones extrudidos adicionados de diferentes ácidos grasos	49
12	Microestructura de almidones nativos y extrudidos sin adición de lípidos	52
13	Microscopía electrónica de barrido de almidón de maíz adicionado de diferentes ácidos grasos	53
14	Microscopía electrónica de barrido de almidón de arroz adicionado de diferentes ácidos grasos	54
15	Microscopía electrónica de barrido de almidón de papa adicionado de diferentes ácidos grasos	55

## RESUMEN

El almidón puede presentar cambios estructurales cuando se somete a tratamiento: químico, enzimático o térmico. Debido a las características del proceso, durante la extrusión se llevan a cabo reacciones entre los componentes del almidón y otras sustancias (intrínsecas o extrínsecas), como el acomplejamiento de lípidos con la amilosa denominado almidón resistente tipo V. En el presente trabajo, se procesaron tres diferentes tipos de almidón con tres diferentes lípidos (aceite de maíz, ácido esteárico y ácido oleico) a diferentes concentraciones (0, 5 y 10%) con el fin de observar los cambios estructurales de los componentes. Los resultados observados en calorimetría de barrido diferencial y difracción de rayos X, mostraron que el ácido esteárico y oléico tuvieron mayor capacidad de formar almidón resistente tipo V, mientras que utilizando aceite de maíz no se observó un aumento en los niveles de almidón resistente tipo V. Además, a través de microscopía electrónica de barrido y perfil de viscosidad, se observó un efecto protector del ácido esteárico sobre la superficie de los gránulos, confiriéndoles la incapacidad de absorber agua, resultando en una considerable disminución de los picos máximos de viscosidad con respecto a los otros tratamientos. Por otro lado, las muestras tratadas con ácido oleico y aceite de maíz presentaron efectos sobre la morfología y viscosidad máxima bastante similares entre sí. La extrusión posee potencial de ser utilizado como método de obtención de almidón resistente tipo V, por lo que, son necesarios estudios de optimización de proceso y aplicación en el área alimenticia.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 Generalidades del almidón

El almidón es un polisacárido de reserva encontrado en plantas, tallos, raíces, semillas y frutas entre otras plantas superiores. Es un polisacárido muy importante y abundante en la naturaleza. Se encuentra en forma de gránulos simples, los cuales pueden variar sus características químicas y físicas (como tamaño, forma, temperatura de gelatinización, entre otras) según su procedencia botánica (Bertoft, 2017).

El almidón está compuesto por unidades de glucosa, las cuales a su vez están entrelazadas entre sí para formar una mezcla de dos polímeros: amilosa y amilopectina. Las unidades de glucopiranosil están unidas casi en su totalidad por  $\alpha$ -D-(1-4)-glucosídicas. Por un lado, la amilosa se ha considerado históricamente como un polímero lineal debido a sus características. Sin embargo, actualmente se sabe que en la estructura de la amilosa existen una cierta cantidad de ramificaciones que implican enlaces  $\alpha$ -D-(1-6)-glucosídicos en sus puntos de ramificación. Por otro lado, la amilopectina es un polímero de alto peso molecular, y a diferencia de la amilosa este es altamente ramificado. El polímero contiene entre un 5 y 6 % de enlaces  $\alpha$ -D-(1-6)-glucosídicas en los puntos de ramificación. Se sabe que el gránulo es parcialmente cristalino mostrando un patrón de difracción a los rayos X (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1999; Bertoft, 2017).

Los gránulos de almidón tienen diferentes tamaños y su morfología varía en formas como ovalada, elipsoidal, esférica, entre otras, esto depende de la fuente (tipo de cereal) (Figura 1). La relación de amilosa:amilopectina varía según la procedencia o naturaleza de la fuente de almidón (Cuadro 1), lo cual tiene impacto significativo en las propiedades del gránulo, así como en las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón (Du y col., 2014). Los almidones de alto contenido de amilosa permiten obtener geles más firmes y en forma rápida. Además, estos almidones son más resistentes a la cocción debido a la estructura cristalina. Solo hay

hinchazón a temperatura elevada y si se mantiene moderada no hay gran aumento de la viscosidad. Los almidones ricos en amilosa se utilizan para preparar películas comestibles (recubrimiento de píldoras farmacéuticas). Los almidones que tienen concentraciones inferiores al 23% de amilosa dan una elevada viscosidad y aún en frío retrogradan muy poco (Díaz, 2010).

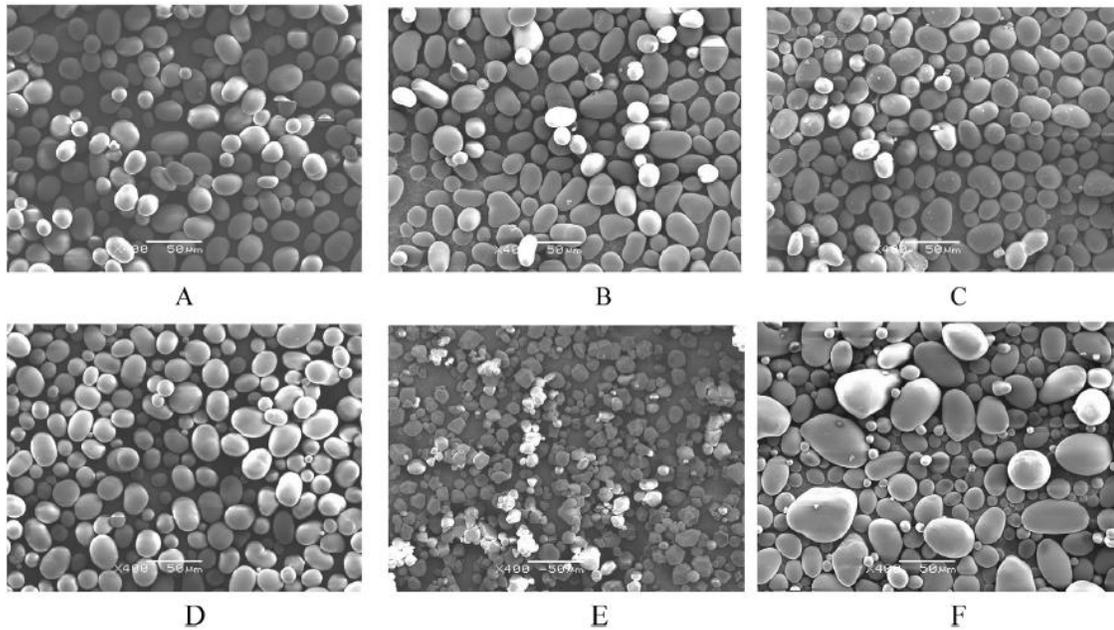


Figura 1. Micrografías de los gránulos de diferentes tipos de almidón. (A) Frijol pinto (B) frijol rojo (C) frijol negro (D) frijol Navy (E) maíz (F) papa (Du y col., 2014).

Sin embargo, existen modificaciones genéticas que permiten la obtención de variedades tipo “waxy” (de maíz ceroso) que contienen 100% de amilopectina. Los almidones de maíz ceroso y altos en amilosa tienen numerosas aplicaciones tanto en la industria de alimentos como en otras áreas. Los almidones cerosos son utilizados en la industria de alimentos como emulsificadores, espesantes y estabilizadores de congelación-descongelación. Su aplicación industrial es como aditivo en el proceso de fabricación de papel y textiles (Beckles & Thitisaksakul, 2014a, 2014b).

El almidón de alta amilosa es utilizado en productos donde se desea obtener geles muy firmes, y tener pérdida de agua, como en algunas variedades de dulces.

También, es utilizado para la formación de películas o recubrimientos, debido a su fragilidad son utilizados en almidones que fritos o rebozados, incluidos productos congelados que deben ser recalentados en el microondas, por mencionar algunas de sus múltiples aplicaciones (Kramer, 2009).

Cuadro 1. Diámetro de gránulo y contenido de amilosa en almidón obtenido de diferentes fuentes.

<b>Fuente de almidón</b>	<b>Tamaño de distribución de partícula (µm)</b>	<b>Media del diámetro del gránulo (µm)</b>	<b>Contenido de amilosa (%)</b>
<b>Papa</b>	11.5 – 120.2	45.1 ± 0.2	24.3 ± 0.3
<b>Maíz</b>	5.0 – 45.7	16.3 ± 0.1	31.5 ± 1.1
<b>Frijol pinto</b>	10.0 – 60.3	26.0 ± 0.1	32.0 ± 0.6
<b>Frijol rojo</b>	11.5 – 60.3	27.4 ± 0.2	32.4 ± 0.9
<b>Frijol negro</b>	10.0 – 60.3	25.3 ± 0.1	45.4 ± 0.8
<b>Frijol Navy</b>	10.0 – 60.3	26.6 ± 0.1	43.2 ± 1.4

(Du y col., 2014)

La Figura 2 muestra la formación del almidón en la semilla desde sus componentes básicos de amilosa y amilopectina iniciando en las cadenas iniciales (estructura nivel 1) hasta la estructura final en el endospermo (estructura nivel 6). Las estructuras nivel 3 y 4 muestran las capas laminares con lámina amorfa y lámina cristalina que forman el gránulo. La mayoría de los puntos de ramificación están situados en las lamelas amorfas, mientras que las cadenas externas están presentes en las láminas cristalinas que forman hélices dobles (Gous y Fox, 2017).

El almidón es la principal fuente de carbohidratos digeribles en la dieta humana. La glucosa, producto de la digestión de almidón, juega un papel importante en la energía del metabolismo. Es sabido que los alimentos con cantidades similares de almidón pueden inducir diferentes niveles de glucosa e insulina postprandial en sangre después del consumo (Patel y col., 2014).

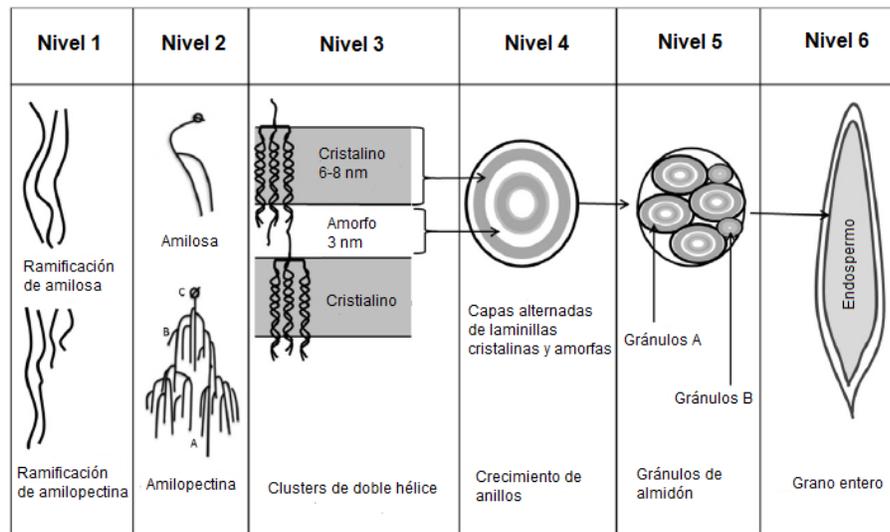


Figura 2. Niveles estructurales del almidón en un grano de cereal. Tomado con modificaciones de Gous y Fox, (2017).

El Cuadro 2 muestra la composición de diferentes gránulos de almidones nativos. La cantidad de agua absorbida por los gránulos de almidón depende de la humedad relativa y la temperatura de la atmósfera del sitio de almacenamiento (Swinkels, 1985).

Cuadro 2. Composición promedio de los gránulos de almidón de diferentes fuentes.

Componentes del almidón (% base seca)	Almidón de papa	Almidón de maíz	Almidón de trigo	Almidón de tapioca	Almidón de maíz ceroso
<b>Humedad en 65% HR y 20°C</b>	19	13	13	13	13
<b>Lípidos</b>	0.05	0.7	0.8	0.1	0.15
<b>Proteínas</b>	0.06	0.35	0.4	0.1	0.25
<b>Cenizas</b>	0.4	0.1	0.2	0.2	0.1
<b>Fósforo</b>	0.08	0.02	0.06	0.01	0.01
<b>Cantidad de sustancias de sabor y color</b>	Bajo	Relativamente alto	Relativamente alto	Bajo	Medio

(Swinkels, 1985)

El almidón de cereales contiene moléculas lipídicas en su estructura en la forma de fosfolípidos y ácidos grasos libres, los cuales están asociados a la fracción de amilosa. La presencia de complejos de lípidos en los gránulos de almidón se observa como un núcleo hidrofóbico situado en el interior de las cadenas de amilosa. El almidón contiene aproximadamente 0.6% de proteína asociada con la molécula. Los lípidos y las proteínas en los gránulos de almidón pueden aumentar su funcionalidad. Por ejemplo, en trigo, la proteína asociada a sus gránulos es de interés debido a que está relacionada con una mayor dureza de grano. El almidón también contiene relativas pequeñas cantidades (<0.4%) de minerales (calcio, magnesio, fósforo, potasio y sodio) (Alcazár-Alay y Meireles, 2015).

La absorción de agua y consecuente hinchazón del gránulo de almidón contribuye a la separación de la fase amilopectina-amilosa y la pérdida de su cristalinidad. Cuando las moléculas de almidón son calentadas en exceso en solución acuosa, la estructura semicristalina se rompe y las moléculas de agua se asocian por puentes de hidrógeno a los grupos hidroxil expuestos de las moléculas de amilosa y amilopectina. Esta asociación causa hinchamiento e incrementa el tamaño y solubilidad del gránulo (Kadam y col., 2015).

En alimentos, las funciones del almidón como agente estructural radican en su introducción durante el proceso de manufactura. Se utiliza principalmente como modificador de textura, viscosidad, adhesión, retención de agua, formación de agua y películas. En las formulaciones de la industria de panificación, el almidón es uno de los componentes responsables de la estructura y propiedades de los productos finales. Otros procesos industriales incluyen almidón en pequeñas cantidades como un aditivo alimentario o un agente espesante y gelificante (Alcazár-Alay y Meireles, 2015).

El carbohidrato de reserva de las plantas, se utiliza a menudo en forma granular y, por lo tanto, se incluye en la industria de la confitería como un polvo de moldeo para las diversas formas de dulces, que pueden ser reutilizadas muchas veces. El almidón también se utiliza en la preparación de diversos tipos de pasta en la preparación de

fideos y los destinados a extrusión y en la formulación de alimentos instantáneos y alimentos fritos (Alcazár-Alay y Meireles, 2015).

### 1.1.1 Amilosa

La amilosa es un polímero lineal conformado casi enteramente por enlaces  $\alpha$ -1,4 en sus unidades D-glucopiranosil, sin embargo, tiene algunos enlaces  $\alpha$ -1,6, estos representan menos del 1% (Figura 3). La localización de la amilosa no se ha definido con exactitud, aunque se sabe que forma una estructura de hélice, teniéndose tres principales posibilidades de distribución en el gránulo de almidón: 1) laminillas amorfas, 2) anillos de crecimiento amorgo ó 3) interdistribuido o co-cristalizado con moléculas de amilopectina.. El contenido de amilosa varía con la fuente botánica del almidón y es afectado por las condiciones del clima y suelo durante el desarrollo del grano (Abas, 2012).

Los almidones con alto contenido de amilosa, se utilizan como películas comestibles, dulces y bioplásticos. También tienen beneficios para la salud debido a su baja digestibilidad, por lo que es ideal como un sistema de administración de fármaco de colon (Beckles & Thitisaksakul, 2014a, 2014b).

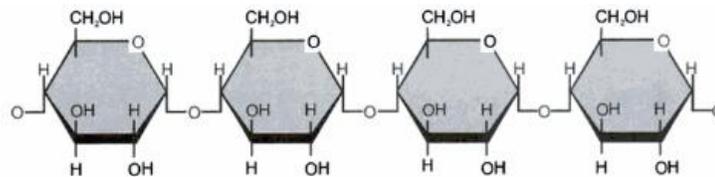


Figura 3. Estructura lineal elemental de amilosa (Melo y Cuamatzi, 2006).

La amilosa es una estructura lineal que forma dobles hélices con seis residuos de glucosa por vuelta. Esta doble hélice consiste en dos cadenas de amilosa enrolladas paralelamente entre sí. El interior de esta doble hélice posee un carácter hidrofóbico el cual le confiere la capacidad de formar complejos con otros compuestos como ácidos, alcoholes, lípidos, emulsificantes y yodo, si estos se encuentran presentes durante la gelatinización. Este tipo de acomplejamiento da como resultado un patrón de difracción llamado “tipo V” (Ernö, 2002).

### 1.1.2 Amilopectina

La amilopectina se compone de unidades glucopiranosil unidas con enlaces  $\alpha$ -1,4, altamente ramificados (aproximadamente 5 a 6% de sus unidades) con enlaces  $\alpha$ -1,6 (Figura 4). Cadenas individuales pueden variar de entre 10 a 100 unidades de glucosa. La amilopectina es el componente principal en la mayoría de las variedades de almidón constituyendo aproximadamente el 75% de los gránulos. En el interior del gránulo de almidón, las moléculas de amilopectina están organizadas radialmente, de manera que los extremos libres no reductores apuntan hacia la periferia. Los pares de cadenas adyacentes dentro de clusters de amilopectina forman hélices dobles que se agrupan en arreglos organizados, dando lugar a capas concéntricas, cristalinas (lamelas) dentro del gránulo. Estas lamelas se alternan con las lamelas amorfas formadas por las regiones de la molécula de amilopectina que contienen los puntos de ramificación (Figura 5). La organización lamelar se repite con una periodicidad de 9 a 10 nm. Esta estructura semicristalina constituye la mayor parte de la matriz del gránulo de almidón y está altamente conservada en los almidones de plantas superiores (Zeeman y col., 2010).

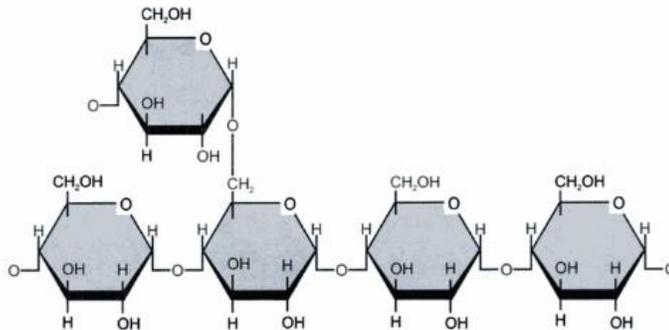


Figura 4. Estructura elemental de la amilopectina (Melo y Cuamatzi, 2006).

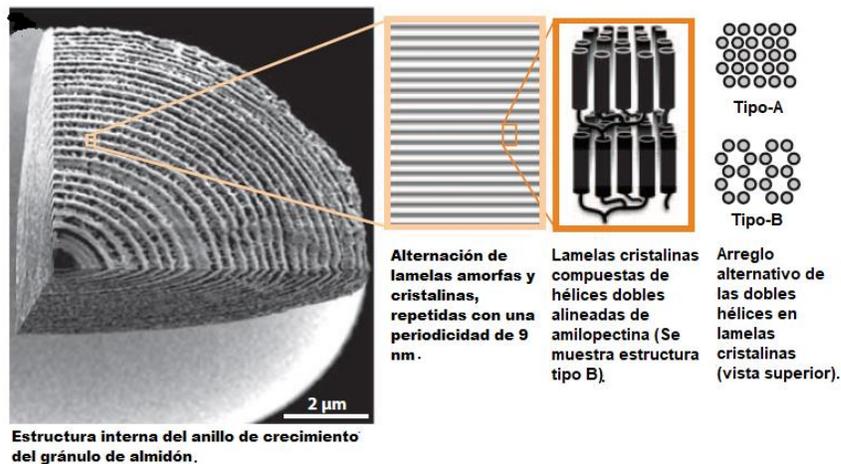


Figura 5. Acomodo interno de las moléculas de amilosa en el gránulo de almidón.  
Tomada con modificaciones de Zeeman y col., (2010).

El arreglo semicristalino puede ser definido por dos arreglos diferentes de la amilopectina: tipo A y tipo B. Las diferencias entre los cristales tipo A y B están relacionadas al empaquetamiento de dobles hélices en la celda unidad y la cantidad de moléculas de agua que estabilizan estas hélices. En la estructura tipo A, el empaquetamiento es monoclinico con cuatro moléculas de agua por celda unidad. En contraste, la estructura tipo B tiene un empaquetamiento hexagonal, lo cual da lugar a un canal interior que puede albergar alrededor de 36 moléculas de agua por celda unidad. La estructura cristalina del gránulo de almidón está determinada por la longitud de las cadenas entre las ramificaciones de las moléculas de amilopectina. Si tiene una longitud menor que 19.7 de unidades de anhidroglucosa, el gránulo mostrará un patrón tipo A, mientras que si esta cadena es incrementada a 21.6 unidades, mostrará un patrón tipo B. Para valores intermedios se describe un patrón tipo C, el cual es una mezcla de ambos patrones (Vazquez y col., 2012).

## 1.2 Propiedades del almidón

### 1.2.1 Gelatinización

Una propiedad que tiene el almidón es la facilidad de hidratarse cuando se somete a agua fría, la cual, al ser calentada provoca un hinchamiento en el gránulo que

provoca la ruptura de éste, exponiendo las cadenas de amilosa y amilopectina y produciendo una suspensión viscosa. Para que esta serie de cambios se lleve a cabo se necesita llevar dicho almidón a lo que se le conoce como “temperatura de gelatinización”, en donde el gránulo pierde su estructura ordenada. Esta temperatura variará según el origen del almidón, misma temperatura que tendrá un intervalo de acción de aproximadamente 10°C. La entalpía de gelatinización puede relacionarse con la pérdida o ganancia de orden molecular y la temperatura de gelatinización es considerado un parámetro de grado de cristalinidad, por lo que los parámetros térmicos pueden dar una idea del grado de ordenamiento en la estructura de un determinado almidón, y con ello también ser considerado según sus características como aditivo según las necesidades de los productos, considerándose estos parámetros (Singh-Gujral y col., 2013).

La gelatinización tiene un papel importante en la digestibilidad del almidón ya que en su forma nativa este se ha encontrado que es más resistente al ataque enzimático, mientras que, en su forma gelatinizada, es más susceptible al ataque enzimático que su forma nativa y retrogradada al encontrarse el interior de los gránulos más expuestos (Wang y Copeland, 2013).

En el Cuadro 3 se muestran propiedades térmicas de los almidones según su origen botánico (Gil, 2010). La temperatura inicial de gelatinización es la temperatura a partir de la cual comienzan a hincharse y romperse los primeros gránulos, la temperatura pico es la temperatura a la cual el 50% de los gránulos han sido destruidos debido al colapso de su estructura y absorción de agua, el punto final es el punto en donde gelatinizado la totalidad de gránulos y el almidón ha perdido su birrefringencia. La variable R es el rango promedio de temperatura durante la cual ocurre todo el proceso de gelatinización, mientras que  $\Delta H$  es el diferencial de entalpía del proceso el cuál se relaciona a la cantidad de energía para llevar a cabo la gelatinización (Coral y col., 2009).

Cuadro 3. Propiedades térmicas de gelatinización de almidón obtenido de diversas fuentes.

<b>Muestra de almidón</b>	<b>T<sub>o</sub> (°C)</b>	<b>T<sub>p</sub> (°C)</b>	<b>T<sub>c</sub> (°C)</b>	<b>R (°C)</b>	<b>ΔH/(J/g)</b>
<b>Papa</b>	59.0 ± 0.6	63.6 ± 0.6	69.5 ± 0.6	10.5	16.1 ± 1.0
<b>Maíz</b>	66.1 ± 0.2	71.0 ± 0.3	75.8 ± 0.6	9.7	12.8 ± 0.3
<b>Frijol pinto</b>	67.6 ± 0.6	73.6 ± 0.5	79.7 ± 1.0	12.1	14.3 ± 0.8
<b>Frijol rojo</b>	65.7 ± 0.7	72.8 ± 0.1	80.2 ± 1.6	14.5	14.9 ± 0.5
<b>Frijol negro</b>	64.4 ± 0.4	72.0 ± 0.8	79.0 ± 0.7	14.6	13.1 ± 1.0
<b>Frijol Navy</b>	63.8 ± 0.1	71.7 ± 0.3	79.1 ± 0.1	15.3	14.0 ± 0.1

(Du y col., 2014)

### 1.2.2 Retrogradación

La retrogradación del almidón es la re-asociación o la recristalización de los polisacáridos en el almidón gelatinizado, es decir, amilosa y amilopectina, haciendo que el líquido se gelifique. Cuando el almidón nativo se calienta y se disuelve en agua, se pierde la estructura cristalina de las moléculas de amilosa y amilopectina y se hidratan para formar una solución viscosa. Si la solución viscosa se enfría o se deja a una temperatura más baja durante un periodo suficientemente largo, las moléculas lineales, la amilosa y las partes lineales de las moléculas de amilopectina retrogradan y se reorganizan de nuevo a una estructura más cristalina. Las cadenas lineales se colocan paralelas y forman puentes de hidrógeno. La retrogradación trae consigo cambios de textura y sabor, además de que disminuye la digestibilidad del almidón. La retrogradación del almidón se ve afectada por la temperatura de almacenamiento, composiciones tales como el contenido de agua, azúcares, lípidos, sales y enzimas (Wang y col., 2016). La retrogradación del almidón está acompañada usualmente de cambios físicos, como el incremento de la viscosidad y turbidez de la pasta, formación de gel, exudación de agua e incremento en el grado de cristalinidad en la aparición de polimorfos cristalinos tipo B. El rearreglo y asociación de cadenas cortas de amilopectina puede resultar en la formación de algunos polimorfos tipo B.

Las cadenas de amilosa dispersas forman asociaciones de doble hélice de 40 a 70 unidades de glucosa mediante puentes de hidrógeno. En almidones no cerosos, es decir, con considerable contenido de amilosa, la retrogradación resulta en la transformación de la pasta del almidón en un gel firme formado por redes tridimensionales de amilosa. Las pastas de almidones cerosos (con niveles muy bajos de amilopectina) forman un gel muy débil, el cual contiene agregados de amilosa, pero no una red tridimensional (Wang y col., 2015). La formación de estructuras ordenadas como las dobles hélices y/o cristales como producto de la retrogradación incrementa la resistencia del almidón a la hidrólisis enzimáticas (Wang y col., 2015).

### 1.3 Digestibilidad del almidón

El almidón es fuente de energía para el organismo y se utiliza para diferentes funciones metabólicas. La digestión del almidón inicia con la hidrólisis del gránulo por las enzimas digestivas a moléculas más simples como la glucosa a través de varios pasos. La  $\alpha$ -amilasa salival actúa muy eficazmente sobre el almidón, pero se degrada fácilmente en el medio ácido del estómago y, por tanto, juega un papel secundario en el proceso de digestión del almidón. La mayor parte de la hidrólisis del almidón es llevada a cabo por la amilasa pancreática, que se libera en el intestino delgado a través del conducto pancreático. La  $\alpha$ -amilasa cataliza la hidrólisis de  $\alpha$ -(1-4) enlaces glucosídicos en amilosa y amilopectina de almidón. Los productos de hidrólisis final de la digestión con amilosa son principalmente maltosa y maltotriosa (Dhital y col., 2015). Los resultados obtenidos del análisis del contenido intestinal de seres humanos sugieren que los productos de hidrólisis de la amilopectina consisten principalmente en dextrinas u oligosacáridos ramificados. Estos productos se difunden del lumen intestinal hacia el borde cepillo del intestino delgado, en donde enzimas específicas como oligosacaridasas y disacaridasas descomponen estos sacáridos en glucosa. La glucosa se absorbe a través de la membrana intestinal y se transporta *vía* vena porta hacia el hígado. El hígado mantiene los niveles de glucosa en sangre convirtiendo la glucosa en glucosa-6-fosfato y glucógeno servirán como sustratos para procesos metabólicos intracelulares (Brennan, 2005).

El proceso y grado de hidrólisis del almidón *in vitro* e *in vivo* está significativamente influenciado por las características del almidón y la composición de la matriz alimentaria (Singh y col., 2010).

### 1.3.1 Factores que afectan la digestibilidad del almidón

La estructura del almidón es un factor que afecta su digestibilidad. El almidón posee un ordenamiento complejo que da lugar a una estructura semicristalina debido al empaquetamiento de las lamelas de amilopectina.

Dicho arreglo influye de manera importante en la digestión del almidón en sus diversas etapas: en primer lugar, la difusión de las enzimas hacia el sustrato se ve afectada por el impacto de la porosidad de éste; además, la absorción de la enzima en el sustrato y el evento hidrolítico en sí mismo también se ven influenciados por la estructura del almidón. Las interacciones del almidón con la fibra, proteína y otros componentes pueden impedir la difusión y la absorción efectiva de las enzimas. El tamaño de partícula de almidón también tiene un papel importante en la hidrólisis ya que se ha observado que los gránulos más pequeños tienen una mayor susceptibilidad a la acción enzimática (Lehmann y Robin, 2007).

Entre otros diversos factores que pueden afectar la digestibilidad enzimática del almidón y la respuesta glucémica, también se dispone de informes sobre los efectos de la viscosidad de la matriz alimenticia. La textura física del alimento puede afectar la digestión del almidón y la absorción de los productos de la hidrólisis (Grajales-García, 2010).

Los arreglos cristalinos tipo A o tipo B tienen una influencia marcada en la digestibilidad. Se ha reportado que el arreglo tipo A es más susceptible a la hidrólisis que el arreglo tipo B. Los almidones que presentan un arreglo tipo A tienen dobles hélices más cortas y muestran mayor cantidad de almidón rápidamente digerible y almidón lentamente digerible, comparando con el arreglo tipo B, que presenta un alto contenido de almidón resistente (Lehmann y Robin, 2007).

Además, durante el proceso de gelatinización las cadenas de amilosa pueden formar complejos con los ácidos grasos, que pueden afectar la digestibilidad del almidón. Durante el procesamiento de alimentos, la amilosa retrograda más rápidamente que la amilopectina, lo cual también afecta la digestión del almidón (Tharanathan y Mahadevamma, 2003).

La industria está utilizando una amplia gama de técnicas para procesar diversos materiales alimenticios. El procesamiento conduce a una alteración de la estructura alimenticia y también influye en las características nutricionales de los alimentos, incluyendo la digestibilidad del almidón. Cuando las moléculas de almidón se calientan en exceso de agua, la estructura cristalina se rompe y las moléculas de agua se unen por enlaces de hidrógeno a los grupos hidroxilo expuestos de amilosa y amilopectina, lo que provoca un aumento en el hinchamiento y la solubilidad de los gránulos. Por lo tanto, la actividad del agua o la disponibilidad de agua es un factor importante que determina el grado de digestibilidad del almidón a través de la hidrólisis enzimática (Singh y col., 2010).

#### 1.4 Índice glucémico

El índice glucémico mide la manera en que los alimentos con carbohidratos, al ser consumidos, elevan la cantidad de glucosa en sangre. Esto se lleva a cabo realizando la comparación con un alimento de referencia que puede ser glucosa o pan blanco. Un alimento con un alto índice glucémico eleva los niveles de glucosa en sangre más que un alimento con un índice glucémico medio o bajo (Soriano, 2006).

En el Cuadro 4 se muestra el impacto en índice glucémico en almidones con diferente cantidad de almidón resistente.

Cuadro 4. Efecto del tratamiento en el índice glucémico de almidón y almidón resistente.

<b>Alimento</b>	<b>Almidón (% en peso en b.s)</b>	<b>Almidón resistente (% en peso en b.s)</b>	<b>Índice glucémico</b>
<b>Papas horneadas</b>	94	<1	93
<b>Pan blanco</b>	88	1	70
<b>Frijoles negros cocidos</b>	60	5	30
<b>Frijoles pintos cocidos</b>	61	5	39

% en peso en b.s= porcentaje en peso en base seca.

(Crosby, 2015)

### 1.5 Almidón resistente

El “almidón resistente” difiere del almidón de digestión rápida (tal como el almidón de maíz Argo) ya que este tipo de almidón no es digerido totalmente en el intestino delgado siendo capaz de resistir procesos físicos/enzimáticos de degradación, y llegando intacto al intestino grueso donde sirve como agente prebiótico para las bacterias intestinales, lo que resulta en un aumento en la producción de ácidos grasos de cadena corta. Otros tipos de almidones de fácil digestión y azúcares más simples son digeridos por enzimas en el intestino delgado y son convertidos en glucosa, lo cual dispara los niveles de glucosa en la sangre considerablemente. Como se mencionó, el consumo de almidón resistente tiene un impacto significativo en la formación de ácidos grasos de cadena corta ya que pueden modular la microbiota intestinal, la cual metaboliza eficientemente el almidón resistente produciendo estos ácidos. Los ácidos grasos de cadena corta son el combustible más importante para el colon y ejercen acción trófica sobre el intestino delgado y colon. Existen tres principales funciones de los ácidos grasos de cadena corta: prevención de la atrofia del tracto gastrointestinal secundaria a la nutrición parenteral,

promoción de la cicatrización de heridas a nivel intestinal, y prevención de la translocación bacteriana a nivel intestinal (Mora, 2002).

Además, el almidón resistente se caracteriza por tener bajos niveles de índice glucémico, reducción de respuesta a la insulina, saciedad y contenido calórico, por lo que sus características lo hacen atractivo en su consumo para prevenir enfermedades asociadas con la dislipidemia y para el desarrollo de nuevas dietas para el tratamiento de diabetes tipo 2 y enfermedades del corazón (Higgins, 2004).

#### 1.5.1 Beneficios a la salud del almidón resistente

Debido a su resistencia a la digestión, el almidón resistente (AR) puede incrementar la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) por la fermentación microbiana en el colon. Los principales AGCC son el ácido acético, propiónico y butírico los cuales sirven como fuente de energía para las células epiteliales colónicas y como mensajeros químicos para el tejido adiposo. Se ha demostrado que estos ácidos poseen acción antiinflamatoria y con efecto antiproliferativo en células del colon, previniendo el cáncer de colon, obesidad y resistencia a la insulina (Yuan y col., 2016).

Se han llevado a cabo estudios del efecto antidiabético de alimentos con altos contenidos de AR como Cao y col., (2007) reportaron que el consumo de arroz con 13.82% de AR puede controlar diabetes y reducir glucosa en sangre, mejorando el metabolismo de lípidos en comparación al arroz normal con 2.59% de AR.

Del mismo modo se ha observado que el consumo de arroz rico en almidón resistente y selenio mostró un efecto antidiabético considerable en ratones. Éstos mostraron menores niveles de glucosa en sangre que los controles diabéticos. Además de menores niveles de lípidos séricos y niveles de insulina. Llegando a la conclusión de que una terapia nutricional de arroz rico en selenio y almidón resistente podría servir como auxiliar en el control de la diabetes tipo 2 (Yuan y col., 2016).

Estudios similares sugieren que las disminuciones en los niveles de glucosa en sangre de ratas diabéticas alimentadas con AR se regulan a través de la alteración de los niveles de expresión de los genes relacionados con el metabolismo de la glucosa y la mejora de la disfunción pancreática. Dado que las dietas de bajo índice glucémico y el aumento del consumo de alimentos que contienen fibra reducen el riesgo de enfermedades relacionadas con la obesidad como diabetes y enfermedades cardiovasculares. Sustituir el almidón altamente digerible por almidón resistente es beneficioso para el control del peso y glucosa en la sangre (Sun y col., 2017).

### 1.5.2 Tipos de almidón resistente

Dentro de los almidones resistentes existen 5 diferentes formas las cuales se clasifican en tipo I, II, III, IV y V (Sajilata y col., 2006).

Tipo I: Representa aquellos almidones que son resistentes debido a que son físicamente inaccesibles, se encuentra como granos parcialmente molidos o algunos tipos de almidones procesados. Es resistente al calor y es parte de una gran variedad de alimentos.

Tipo II: Es aquel almidón resistente a la digestión enzimática. Su estructura compacta impide la accesibilidad de las enzimas y varias amilasas. El almidón tipo I y II se digieren muy lenta e incompletamente en el intestino delgado.

Tipo III: Representa la fracción mayoritaria de almidón resistente y es principalmente de amilosa retrogradada formada durante el enfriamiento de almidón gelatinizado. Por lo que los alimentos han sido calentados con humedad contienen este tipo de almidón. Este tipo de almidón es completamente resistente a la digestión por amilasas pancreáticas.

Tipo IV: Son almidones resistentes que se forman a partir de nuevos enlaces químicos distintos de  $\alpha$ -1,4 y  $\alpha$ -1,6. Estos almidones modificados pueden ser obtenidos por diversos tratamientos químicos (Sajilata y col., 2006).

Tipo V: Derivan de la interacción de ácidos grasos o alcoholes de cadena larga con las dobles hélices de amilosa para formar un complejo cristalino.

### 1.5.3 Almidón resistente tipo V

Las estructuras cristalinas tipo V están formadas por hélices simples con una molécula acomplejante dentro de éstas. Dichas hélices están enrolladas sobre sí mismas con seis residuos de glucosil por vuelta. Las moléculas acomplejantes reemplazan las moléculas de agua iniciales en el canal de la hélice y subsecuentemente son atrapadas en el interior de la nueva hélice simple formada, uniéndose al interior hidrofóbico de la hélice de amilosa (Figura 6). La hélice-V puede existir con o sin la molécula acomplejada después de su formación inicial (Ernö, 2002).

Los lípidos que han mostrado formar complejos helicoidales con amilosa incluyen ácidos grasos libres, monoglicéridos, fosfolípidos y alcoholes de cadena larga.

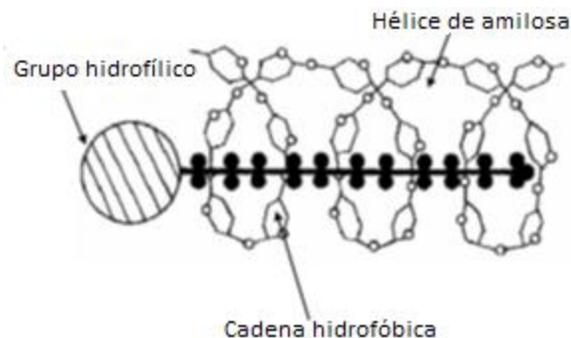


Figura 6. Ilustración esquemática de la interacción molecular lípido-amilosa (Obiro y col., 2012).

La formación del complejo lípido-amilosa trae consigo modificaciones funcionales en el almidón, tales como propiedades de pasta, retrogradación, capacidad de absorción de aceite y agua, solubilidad, capacidad de hinchamiento, y viscosidad (Ernö, 2002).

### 1.5.3.1 Estructura del almidón resistente tipo V

Los cristales tipo V pueden ocurrir en un estado seco o húmedo, designados como  $V_a$  y  $V_h$ , respectivamente. La amilosa  $V_h$  está estructurada como una hélice simple conformada por seis unidades de glucosa por vuelta y es estabilizada por una intensa red de enlaces de hidrógeno entre moléculas de agua intrínsecas y grupos hidroxil adyacentes en la superficie exterior de la hélice. Estos enlaces de hidrógeno dentro de la hélice de amilosa han demostrado que ocurren entre moléculas de agua y los oxígenos O2, O3, O5 y O6 de los residuos de glucosil en una estructura polimérica de V-amilosa. El diámetro de la hélice de V-amilosa está determinada por el agente acomplejante, en el caso de los ácidos grasos libres y alcoholes lineales, se determinó que son seis residuos de glucosil por vuelta, 7 residuos por vuelta en el caso de compuestos alquilo ramificados, y ocho residuos para compuestos más grandes. A estos se les refiere como V6, V7 y V8-amilosa, respectivamente (Obiro y col., 2012). Por lo tanto, la cabeza polar actúa como un "corcho" después de la introducción helicoidal de la cadena alifática (Ernö, 2002).

Como se mencionó anteriormente, los complejos de V-amilosa pueden ocurrir de manera anhidra ( $V_a$ ) o de manera hidratada ( $V_h$ ), dando como resultado dando diferentes patrones de difracción de rayos X ) (Ernö, 2002; Obiro y col., 2012)

### 1.5.3.2 Tipos de almidón resistente tipo V

El complejo V-amilosa puede ser clasificado como tipo I y tipo II, dependiendo de la temperatura de fusión de la estructura cristalina. El tipo I generalmente tiene una temperatura de fusión de entre 94 y 104°C, mientras que el tipo II tiene una temperatura más elevada, entre los 115 y 121°C. Los complejos tipo I consisten en estructuras parcialmente ordenadas sin regiones cristalinas distinguibles, mientras que los complejos de amilosa-V tipo II están aparentemente compuestos por estructuras cristalinas/semicristalinas distintas. El complejo tipo II puede ser subdividido en tipo IIa y IIb. Las dos difieren ligeramente en el grado de cristalinidad o la perfección de sus dominios ordenados. Los complejos tipo IIa tienen un punto

de fusión aproximado de 115°C y el tipo IIb cerca de los 121°C (Panyoo y Emmambux, 2016).

#### 1.5.3.3 Estabilidad térmica del complejo lípido-amilosa

Como se ha mencionado los complejos lípido-amilosa exhiben una transición térmica a altas temperaturas, aproximadamente a 100°C en exceso de agua, lo cual se interpreta como la disociación del complejo. Sin embargo, esta transición es termorreversible, es decir, el complejo es capaz de reformarse una vez que se ha enfriado el sistema. La temperatura de transición, y, por lo tanto, la estabilidad térmica del complejo, está determinada por las propiedades del lípido acomplejado. Las propiedades de dicho lípido influyen la temperatura de transición, por ejemplo, la longitud de la cadena, el grado de insaturación, y otros factores como el contenido de agua. Se ha encontrado que la estabilidad térmica incrementa conforme aumenta la longitud de la cadena del ácido graso y disminuye con el incremento de insaturaciones. Esto se puede relacionar a la cantidad de enlaces de H que pueden ocurrir dentro de la hélice para estabilizarse (Ěrno, 2002).

#### 1.5.4 Preparación de almidón resistente mediante tratamiento térmico

Se ha observado que ciertos tratamientos térmicos tienen impacto en la formación de almidones resistentes; es el caso de la cocción a vapor, donde se observó que los almidones aislados de varias leguminosas que eran calentadas al vapor eran ricos en almidones resistentes, mientras que en los frijoles crudos no se observó un contenido significativo (Tovar y Melito, 1996). Esto sugiere que la retrogradación es la principal responsable de la disminución de la digestibilidad. Se ha reportado que tanto el vapor prolongado como el calentamiento a presión en seco disminuyen de 2 a 3% el contenido de almidón digerible (estimado enzimáticamente) de frijoles enteros, lo que indica que estos tratamientos pueden inducir la formación de otros tipos de almidón indigerible (Sajilata y col., 2006).

Un tratamiento que aumenta el contenido de almidón resistente, es el horneado. En un estudio realizado para evaluar el efecto de la cocción sobre la formación de

almidón resistente, se horneó pan blanco y se dividió en 3 fracciones (miga, corteza interna y corteza externa). Se encontró que los niveles de almidón eran más altos en masa y más bajos en corteza exterior después de hornear durante 35 min. Los niveles de almidón resistente fueron los más bajos en masa y más altos en miga después de hornear durante 35 min. Un producto horneado a baja temperatura y largo tiempo contenía cantidades significativamente mayores de RS que el pan horneado en condiciones normales (Liljeberg y col., 1996). El nivel más alto de RS se observó en el pan horneado de larga duración basado en harina de cebada con alto contenido de amilosa (Tharanathan y Tharanathan 2001; Sajilata y col., 2006).

## 1.6 Principios de la extrusión

La extrusión es comúnmente definida como un proceso termomecánico, en el cual los materiales son física y químicamente transformados debido al estrés mecánico y térmico generado por los tornillos rotando y el sistema de calentamiento, y después siendo expulsado y formado, ejerciendo una presión sobre él a través de un dado. La extrusión es un proceso continuo en combinación de múltiples operaciones unitarias como el transporte, compresión, mezclado, plastificado, derretimiento, cocimiento, desnaturalización, fragmentación, texturización, formado, extrusión reactiva, separación, entre otros (Azad, 2016).

### 1.6.1 Usos de la extrusión

Una de las áreas de aplicación común es el procesamiento de cereales en el cual se utiliza la tecnología de extrusión para convertir las harinas de cereales amasando, cocinando / plastificando, formando y estructurando a productos alimenticios listos para comer, e ingredientes funcionales. En el caso de los cereales para el desayuno y los refrigerios, la alta temperatura y la presión durante la cocción de la masa a base de almidón y la alta caída de presión en la matriz del extrusor provocan una evaporación del agua en la salida de la matriz. Esta evaporación conduce a la formación de partículas (nucleación) y al crecimiento dentro de la masa y es responsable de la expansión significativa del producto que resulta en sus propiedades sensoriales específicas, es decir, sabor, crujido, crujiente y "sensación

en la boca" (Horvat y col., 2013). Otra área de aplicación única es el procesamiento de proteínas, en el que las proteínas a base de plantas o productos lácteos se extruyen y luego se texturizan / estructuran para producir análogos o sustitutos de carne y productos lácteos. En aplicaciones de encapsulación, el extrusor se utiliza para mezclar y dispersar líquidos en matrices basadas en polisacáridos altamente viscosos, como el almidón. Los sistemas de administración basados en lípidos que contienen los bioactivos o aceites aromáticos se dispersan en los polisacáridos, que se plastifican por el calor y la cizalladura proporcionados por el extrusor. Al pasar y salir de la matriz del extrusor, la dispersión se conforma y solidifica al enfriar y evaporar el agua, lo que lleva a la matriz de polisacárido a un estado vítreo, restringiendo la difusión molecular y mejorando la estabilidad del producto (Azad, 2016).

También se ha utilizado la extrusión como medio de obtención de almidón resistente, debido a su capacidad térmica. Se han encontrado indicios de la formación del complejo tipo V al añadirse lípidos a almidón de maíz con 10% de goma guar, y 2% de ácido diacetil tartárico y ácido cítrico. Dichos almidones fueron extruidos en un extrusor de doble tornillo con 18% de humedad, a 150°C y con 180 rpm. Los resultados de difracción de rayos X mostraron la formación de un patrón de difracción tipo V, característico del complejo lípido-amilosa (Adamu, 2001).

### 1.7 Microestructura de almidones por DRX (difracción de rayos X)

Dado que la estructura del almidón es un factor importante que afecta su digestibilidad, se han desarrollado diferentes técnicas para medir ésta propiedad. La difracción de rayos X es una técnica que consiste en bombardear un material con electrones de alta energía. Esta energía, tiene origen en la interacción de electrones incidentes con los electrones de las capas internas de los átomos; una colisión expulsa un electrón y un electrón de mayor energía desciende a la vacante, emitiendo el exceso de energía como un fotón de rayos X, dichos fotones son medidos a través de un detector que traduce dichas señales en forma de picos.

Esta técnica puede utilizarse para obtener información estructural de materiales, ya que los patrones de difracción son característicos para determinados tipos de materiales con propiedades semicristalinas o cristalinas (Cortés y col., 2006).

Chen y col. (2006) estudiaron la microestructura y morfología de diferentes tipos de almidón de maíz con diferente contenido de amilosa/amilopectina utilizando difracción de rayos X. El almidón estudiado mostró estar compuesto principalmente por dos tipos de estructuras cristalinas (tipo A y B). En donde el tipo A se encuentra principalmente en almidones de cereales como el maíz, trigo y arroz. Y el tipo B encontrado en tubérculos, frutos y tallos como almidones de papa y plátano. Se encontró una estructura tipo C conformada por una combinación del tipo A y B en frijol.

En la Figura 7 se observan diferentes patrones de difracción característicos en almidón ceroso y normal (con 0 y 23% de amilosa respectivamente) típicos de tipo A con picos marcados en 15°, 17 y 23° con un doblete grande entre ellos. Mientras que los almidones G50 Y G80 (almidón de maíz con 50 y 80% de amilosa, respectivamente) tienen un pico de difracción grande alrededor de 16°C y picos más pequeños en 18, 20 y 22°, además de un pico adicional a 4°. Estos últimos patrones son característicos de almidón tipo B (Chen y col., 2006).

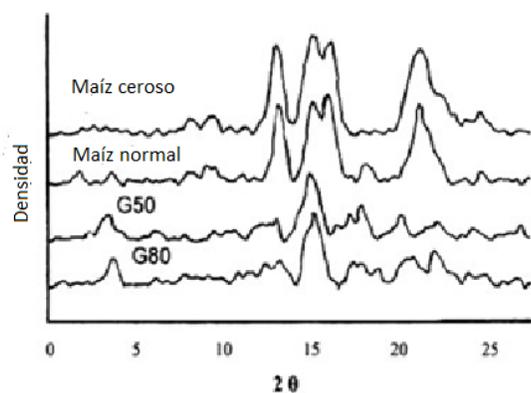


Figura 7. Patrones de difracción de rayos X de almidones con diferentes contenidos de amilosa/amilopectina (Chen, 2006).

Del mismo modo Han y col. (2007) y Martínez y col. (2007) encontraron en estructura del almidón tipo A picos pronunciados en 14, 16.9, 17.6 y 22.9°. Los picos con mayor intensidad se atribuyen a un nivel mayor de cristalinidad, mientras que los picos débiles bajo nivel de cristalinidad en los gránulos. Estos patrones variarán del tipo de almidón según sus diferencias estructurales como la longitud de las cadenas de la red de amilopectina, densidad de empaquetamiento en los gránulos, y la presencia de agua (Han y col., 2007; Martínez y col., 2007).

\* Tipo A: La longitud de las cadenas de amilopectinas es de 23 a 29 unidades de glucosa. El puente de hidrógeno entre los grupos hidroxil de las cadenas de amilopectina da paso a la formación de una estructura de doble hélice. Las cadenas lineales de amilosa se empaquetan con las cadenas lineales externas de amilopectina a través de puentes de hidrógeno. Común en cereales.

\* Tipo B: La longitud de las cadenas de amilopectina es de 30 a 44 unidades de glucosa con agua difundida internamente. Común en papa y plátano.

\* Tipo C: La longitud de las cadenas de amilopectina es de 26 a 29 unidades de glucosa, se considera una combinación de la estructura tipo A y B. Común en chicharos y frijoles.

Otros estudios han encontrado que las regiones amorfas contienen principalmente amilosa y amilopectina menos ordenada. Cada región semicristalina está conformada por zonas amorfas y cristalinas (Sajilata, y col., 2006).

Otra de las diferencias entre el almidón tipo A y B radica en la cantidad de agua y en la manera en que se empaqueta en los cristales. Se ha reportado que almidones libres de amilosa están negativamente correlacionados con la cristalinidad relativa (Imberty y col., 1991).

Como se mencionó anteriormente se ha encontrado que la cristalinidad también depende de la longitud de la cadena de amilopectina. Es sabido además que la amilopectina es el componente cristalino más abundante en los gránulos de almidón. Sin embargo no se ha encontrado una diferencia clara entre el grado de cristalinidad

y la relación amilosa:amilopectina. Por otro lado, y Singh y col., (2007a) atribuyen la diferencia en cristalinidad en almidones de arroz a las diferencias proporciones de amilosa, y a la longitud de las cadenas de amilopectina (Vandamme y col., 2002; Singh y col. 2007a, 2007b).

Tester y col. (2000) reportan que, en almidones con alto contenido de amilosa, pueden contribuir al grado de cristalinidad, sin embargo, se cree que la naturaleza cristalina en almidones con altos contenidos de amilopectina es debido al entrelazamiento de las cadenas externas de la amilopectina en forma de doble hélice. Lo cual se relaciona con regiones ordenadas del espacio llamados “lamelas cristalinas”. Las hélices dobles dan lugar a patrones geométricos tridimensionales. Este acomodamiento de átomos posee las características necesarias para interactuar con las ondas electromagnéticas de los rayos X y producir los patrones de difracción característicos (Tester y col., 2004).

Las estructuras cristalinas están basadas en la doble hélice formada por las moléculas de amilopectina. En la estructura tipo A, las ramificaciones de amilopectina son cortas (grado de polimerización de 6-15) y unidas por enlaces  $\alpha$ -1.6. En la estructura tipo B, las cadenas de glucosa son más polimerizadas y pueden actuar como bases donde las ramificaciones son de la forma Tipo A (Alcázár-Alay y Meireles, 2015).

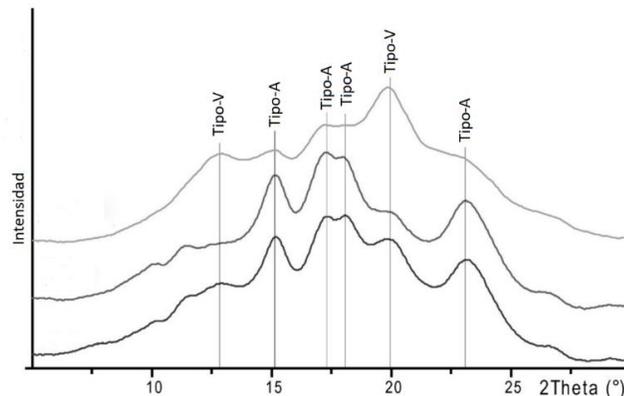


Figura 8. Patrones de difracción tipo A y V. Tomado con modificaciones de Sparla y col. (2014).

También se ha identificado un patrón de difracción llamado patrón tipo V, el cual está relacionado a complejos de carácter cristalino formados por el acomplejamiento de ácidos grasos libres, alcoholes de cadena larga, yodo, entre otras moléculas. Este patrón de difracción se caracteriza por tener picos pronunciados cerca de  $13^\circ$  y  $20^\circ$ , siendo fácilmente diferenciado en comparación a los otros dos patrones como se puede observar en la Figura 8 (Sparla y col., 2014).

## **2. HIPÓTESIS**

Se puede obtener almidón resistente tipo V mediante de adición de lípidos a diferentes variedades de almidón, usando el proceso de extrusión como reactor.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar los cambios estructurales de tres variedades de almidón adicionado de diferentes lípidos sometidos a extrusión y correlacionar con la formación de almidón resistente tipo V.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

Determinar la formación de complejo lípido-amilosa mediante calorimetría de barrido diferencial en muestras de diferentes fuentes de almidón extrudidas con tres tipos de lípidos añadidos.

Evaluar el efecto de la formación del complejo amilosa-lípidos en el perfil de viscosidad de almidones extrudidos.

Determinar los cambios estructurales de tres diferentes fuentes de almidón extrudidos con diferentes lípidos añadidos.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 MATERIALES

Se utilizaron almidones nativos de maíz, papa (Holland Starch Union ®) y arroz.

Además, se utilizaron tres ácidos grasos: ácido oléico (C18:1) “La Guadalupana ®”, ácido esteárico (C18:0) “La Guadalupana ®” y aceite de maíz comercial “Cristal ®”.

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Elaboración de muestras

Para la elaboración del experimento se utilizaron tres lípidos diferentes: ácido esteárico, ácido oléico y aceite de maíz comercial puro. Cada uno de estos lípidos fue evaluado a 5 y 10% (p/p).

Para las muestras de ácido oléico y aceite de maíz se elaboraron a partir de 120 g de almidón de maíz a los cuales se les añadió el 5 o 10% del peso según el ácido correspondiente, y posteriormente se homogenizó con una batidora de mano (Black & Decker, Ergo 5) durante 5 minutos. Después, se agregó una cantidad de agua necesaria para lograr una humedad aproximada del 35% y se homogenizó durante 5 minutos.

Las muestras de ácido esteárico se realizaron pesando la cantidad de ácido graso en un vaso de precipitados y se agregó la mitad de la cantidad de agua correspondiente para lograr una humedad aproximada del 35% en la muestra. Esta mezcla fue calentada hasta lograr la completa fusión del ácido graso. Se agregó rápidamente a los 120 g de almidón de maíz y se homogenizó con una batidora durante 5 min. Se agregó la segunda parte de agua a la mezcla y se homogenizó durante 5 minutos.

El control (almidón de maíz con 0% de lípidos agregados) y cada muestra fue elaborada por duplicado.

Las muestras fueron guardadas en bolsas herméticas en condiciones ambiente dejándose reposar durante 12 horas antes de su procesamiento.

#### 4.2.2 Procesamiento de muestras por extrusión

Se alimentó manualmente cada muestra al extrusor (Tecnología desarrollada en CICATA-IPN, Qro., solicitud de 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, utilizando una temperatura de precalentamiento de 85°C y una temperatura de salida de 95°C con una frecuencia de 15 rpm. Posteriormente las muestras fueron secadas en un horno Excalibur de 5 rejillas a 40°C durante 24 h, molidas y tamizadas con una malla #60. Las muestras fueron guardadas a condiciones ambiente lejos de la luz solar y etiquetadas para sus posteriores determinaciones.

#### 4.2.3 Determinación de las propiedades térmicas

Los análisis de calorimetría diferencial de barrido se realizaron de acuerdo a la técnica descrita por Ma y col. (2017) con algunas modificaciones.

Previamente, se determinó el contenido de humedad de las mezclas colocando 3 g de muestra procesada en un horno (Binder FD 53-UL) a 110°C durante 3 h. Se calculó la pérdida de agua por diferencia de peso.

Una vez que se midió el contenido de humedad, se pesaron 0.5 g de cada muestra en una bolsa hermética, y se agregó la cantidad de agua necesaria para alcanzar una humedad del 60%. La muestra se dejó reposar por 30 min antes de realizar las mediciones.

Se utilizó un calorímetro Mettler Toledo, modelo DSC 1 Star System pesando 10 mg de muestra en un crisol de aluminio. Las determinaciones se realizaron a una temperatura de 30 a 130°C con una tasa de incremento de 10°C/min. A partir del termograma que proporcionó el software del equipo, se calculó la temperatura inicial ( $T_o$ ), temperatura pico ( $T_p$ ), temperatura final ( $T_e$ ) y el cambio de entalpía ( $\Delta E$ ), tanto de gelatinización como de la interacción amilosa-lípidos.

#### 4.2.4 Perfil de viscosidad

Para la determinación de la viscosidad se utilizó un reómetro Anton Paar modelo MCR 101 siguiendo la técnica descrita por Zhou y col. (2016) con ciertas modificaciones. Brevemente se pesaron 1.5 g de muestra en la celda del reómetro y se agregó 19.5 mL de agua destilada. Se realizó un análisis de viscosidad con una rampa de temperatura de 50 a 93°C manteniéndola constante a esta temperatura por 6 minutos y posteriormente descendiendo hasta los 50°C. A partir de los perfiles de viscosidad se obtuvieron la viscosidad mínima, viscosidad máxima, viscosidad final y temperatura de pasta.

#### 4.2.5 Difracción de rayos X

Las muestras fueron analizadas en base a la técnica descrita por Wang y col. (2016), utilizando un difractómetro UIV usando la configuración de Bragg Brentano (BB) y usando un detector de centelleo a una velocidad de 0.5°/min en un rango de 5 a 50°.

#### 4.2.6 Espectroscopia infrarroja (FT-IR)

Las muestras fueron caracterizadas en base a la técnica descrita por Sukhija y col. (2016), usando un espectrofotómetro FTIR (Perkin Elmer, Spectrum Two) con ATR (Attenuated Total Reflectance). La transmitancia fue medida en un rango de número de onda de 600 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 4.2.7 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

En análisis morfológico de los gránulos se llevó a cabo según lo descrito por Sukhija y col. (2016), utilizando un microscopio electrónico de barrido (Jeol, JSM-6060 LV). La muestra se depositó sobre un portamuestras con una cita de doble cara adherida y fue recubierta con oro. Se examinaron las muestras con un voltaje de aceleración de 10 Kv a diferentes aumentos.

## 4.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

### 4.3.1 Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando un modelo de análisis de varianza (ANOVA), y por una comparación de medias con la prueba de Tukey ( $\alpha= 0.05$ ) usando el software estadístico MiniTab 2017.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Determinación de las propiedades térmicas

La calorimetría de diferencial de barrido (DSC por sus siglas en inglés) es una técnica en la cual se monitorea el flujo de calor hacia una muestra respecto al tiempo o se modifica la temperatura bajo una atmósfera específica, utilizando un material de referencia. Los termogramas obtenidos en DSC permiten el análisis y obtención de datos de transiciones exotérmicas o endotérmicas (de primer o segundo orden), obteniendo la temperatura, así como el diferencial de entalpía de estas transiciones (Groenewoud, 2001). En el Cuadro 5 se muestran los resultados de las propiedades térmicas del almidón de maíz, papa y arroz sometidos a proceso de extrusión y adicionados de diferentes ácidos grasos.

Cuadro 5. Propiedades térmicas del almidón extrudido adicionado con diferentes ácidos grasos.

Condiciones de proceso			Calorimetría diferencial de barrido							
Almidón	Ácido graso	Concentración (%)	Gelatinización				Interacción amilosa-lípidos			
			T <sub>o</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>e</sub> (°C)	ΔE (J/g)	T <sub>o</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>e</sub> (°C)	ΔE (J/g)
Maíz	Nativo	NA	66.91	72.91	79.63	3.85	-	-	-	-
	Extrudido	0	71.5	78.95	88.53	1.29	98.52	106.19	112.03	0.34
	Ácido esteárico	5	69.24	76.23	85.3	1.31	100.59	109.95	116.34	0.82
		10	67.78	75.08	85.09	1.77	99.53	109.32	115.87	1.06
	Ácido oleico	5	72.88	79.53	87.53	1.15	99.52	106.23	112.08	0.48
		10	72.65	79.96	88.88	1.34	96.2	106.49	112.81	0.88
Aceite de maíz	5	69.11	76.29	84.98	1.77	ND	ND	ND	ND	
	10	70.72	77.34	86.48	1.47	ND	ND	ND	ND	
Papa	Nativo	NA	61.02	63.9	67.53	2.10	-	-	-	-
	Extrudido	0	45.96	59.48	70	1.77	ND	ND	ND	ND
	Ácido esteárico	5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Ácido oleico	5	41.61	50.84	65.65	0.96	101.74	106.6	110.33	0.14
		10	41.54	52	67.3	1.54	95.56	105.94	112.95	0.9
Aceite de maíz	5	42.16	54.32	67.8	1.37	ND	ND	ND	ND	
	10	46.9	58.02	67.36	0.59	ND	ND	ND	ND	
Arroz	Nativo	NA	63.44	68.84	75.41	1.74	-	-	-	-
	Extrudido	0	70.34	75.96	84.27	1.57	113.33	115.91	121.72	0.99
	Ácido esteárico	5	ND	ND	ND	ND	95.37	105.08	111.76	0.7
		10	ND	ND	ND	ND	100.02	106.1	109.98	0.48
	Ácido oleico	5	69.87	74.3	79.72	0.63	105.58	107.26	111.42	0.14
		10	70.58	76.8	83.95	0.96	ND	ND	ND	ND
Aceite de maíz	5	69.98	75.62	83.57	1.25	ND	ND	ND	ND	
	10	70.67	75.96	83.02	1.24	ND	ND	ND	ND	

Las entalpías de gelatinización observadas en los tres almidones extrudidos sin lípidos añadidos demostraron ser de menor magnitud en relación a su respectivo almidón nativo sin extrudir, estos valores van de 3.85, 2.10 y 1.74 J/g hasta 1.29, 1.77, 1.57 J/g para maíz, papa y arroz, respectivamente. Esto debido a que durante el proceso de extrusión el gránulo es dañado estructuralmente, por efecto del calor y el trabajo mecánico aplicado, de modo que modifica sus propiedades, al romperse enlaces intermoleculares (Moscicki y col., 2013). La entalpía de una transición (en este caso, de la gelatinización) está relacionada con la cantidad de energía requerida para lograr ésta, por lo que una reducción de magnitud en el diferencial de entalpía sugiere que se ha requerido una menor cantidad de energía para lograr la transición, como es el caso de los almidones extrudidos con respecto al almidón nativo pues, al ser extrudidos, los gránulos han sido parcialmente gelatinizados, requiriendo un menor trabajo calorífico para completar dicha transición (Sandoval-Aldana y col., 2004).

Se observa que la temperatura inicial ( $T_o$ ), pico ( $T_p$ ) y final ( $T_f$ ) de gelatinización en todas las muestras de maíz y arroz extrudidas sin lípidos añadidos se incrementaron en relación al almidón nativo (desde  $T_o= 66.91$ ,  $T_p= 72.91$ ,  $T_f= 79.63$  °C hasta  $T_o= 71.5$ ,  $T_p=78.95$ ,  $T_f= 88.53$  °C en almidón de maíz y desde  $T_o= 63.44$ ,  $T_p= 68.84$ ,  $T_f= 75.41$  °C hasta  $T_o= 70.34$ ,  $T_p= 75.96$ ,  $T_f= 84.27$  °C en almidón de arroz; mientras que, en el almidón de papa, disminuyeron dichas temperaturas (a excepción de la temperatura final) desde  $T_o= 61.02$ ,  $T_p= 63.9$ ,  $T_f= 67.53$  °C hasta  $T_o= 45.96$ ,  $T_p= 59.48$ ,  $T_f= 70$  °C. Este comportamiento se atribuye a que la temperatura de gelatinización está influenciada por factores intrínsecos como el contenido de amilosa, distribución de las cadenas de amilopeptina, complejos lípido-amilosa y grado de cristalinidad (Ma y col., 2017). Se ha reportado que los parámetros de  $T_o$ ,  $T_p$ ,  $T_f$  y  $\Delta E$  están influenciados por la arquitectura molecular de la región cristalina (Bao y Bergman, 2018). Dicha cristalinidad intrínseca de los gránulos puede ser alterada y disminuida durante la gelatinización a través del proceso de extrusión hacia un estado más amorfo (Ye y col., 2017).

La adición de ácidos grasos (ácido esteárico, ácido oléico y aceite de maíz comercial) a diferentes concentraciones (5 y 10%) mostró un aumento en las  $T_o$ ,  $T_p$ , y  $T_f$  con respecto al almidón nativo en las tres variedades de almidón utilizados. Sin embargo, también se observó una ligera disminución de estas variables respuesta en casi todas las muestras de dichos almidones con respecto al almidón extrudido sin lípidos añadidos. Este fenómeno puede atribuirse a dos razones: la primera es que los ácidos grasos añadidos al tener un carácter hidrofílico en su grupo carboxílico, son capaces de impedir la difusión del agua dentro de los gránulos, que, durante el proceso de extrusión, limita la capacidad de estos de absorber agua y gelatinizar (Aytunga y col., 2014). Por tanto, la gelatinización y destrucción del gránulo disminuyen (y con ello su arreglo cristalino) en comparación con la muestra sin lípidos, la cual, fisicoquímicamente, estaría más vulnerable a la modificación de cristalinidad, trayendo consigo una mayor modificación en las  $T_o$ ,  $T_p$ , y  $T_f$  con respecto al almidón nativo. La segunda razón, es debido a la formación de complejos de amilosa con ácidos grasos, pues, estos complejos lipídicos podrían actuar como agentes de reticulación en un sistema de almidón. Se ha reportado que la formación de dichos complejos tiene la capacidad de modificar, tanto las características funcionales del almidón como su capacidad de formar pasta, de retrogradación y de absorción de agua, solubilidad y gelatinización (Panyoo y Emmambux, 2016).

Por otro lado, las entalpías de gelatinización de las muestras con ácidos grasos fueron de menor magnitud con respecto al almidón nativo, como ya se mencionó anteriormente, debido a los cambios estructurales del almidón durante la extrusión, sin embargo, con respecto a las muestras sin lípidos añadidos no se observa un efecto claro sobre este parámetro. La literatura reporta, que un aumento en la entalpía en muestras de almidón con lípidos, se atribuye a los requerimientos energéticos que tiene el lípido al formar parte de la muestra (Okumus y col., 2018). Por otro lado, también se ha reportado que la disminución de la entalpía de gelatinización en muestras con ácidos grasos agregados es resultado de reacciones de gelatinización (endotérmicas) y formación de complejos lípido-amilosa (exotérmicas) llevadas a cabo al mismo tiempo (Aytunga y col., 2014).

La mayoría de los tratamientos de almidón con ácidos grasos añadidos presentaron dos endotermas, una se atribuye a la gelatinización y la otra a la disociación del complejo lípido-amilosa (Aytunga y col., 2014; Okumus y col., 2018; Reddy y col., 2018). Se ha reportado en análisis calorimétricos de almidones gelatinizados, que, durante largos periodos de calentamiento (6 a 24 h, a 90°C) en presencia de ácidos grasos, se presenta la formación de tres endotermas localizados entre 63-67 °C, 97-115 °C y 112-135 °C, siendo asignadas a la gelatinización, disociación de complejo lípido-amilosa tipo I, y disociación de complejo lípido-amilosa tipo II, respectivamente (Reddy y col., 2018). En el presente trabajo no se observó la formación de una tercera endoterma a la temperatura característica de la disociación lípido-amilosa tipo II. Esto se puede atribuir a que se requieren tiempos de reacción más prolongados y/o temperaturas más elevadas, pues los tiempos de reacción en el extrusor pudieran ser demasiado cortos para lograr una considerable cantidad de complejos capaces de ser detectados (Gelders y col., 2004; Reddy y col., 2018).

Las muestras tratadas con ácidos grasos libres (ácido esteárico y oléico) presentaron, casi en su totalidad, curvas de disociación del complejo lípido-amilosa en una temperatura de  $98 \pm 1.66$ ,  $98.65 \pm 4.36$  y  $100.32 \pm 5.11$  °C para maíz, papa y arroz, respectivamente. Debido al rango de temperatura en el que aparece este endoterma se deduce que se trata de la formación del complejo lípido-amilosa tipo I (Reddy y col., 2018).

De manera general las entalpías de disociación del complejo lípido-amilosa en las muestras de almidón de maíz fueron mayores conforme aumentó la concentración del lípido agregado, sin embargo, no se observa una tendencia al comparar las entalpías de un mismo ácido graso en un almidón con otro.

Todas las muestras de almidón tratadas con aceite de maíz comercial no presentaron la endoterma característica de la disociación del complejo lípido-amilosa propio del almidón resistente tipo V. La causa de esto puede deberse a que el aceite de maíz posee una estructura más compleja que la de los ácidos grasos libres, pues los ácidos grasos de este aceite se encuentran dentro de micelas, como triacilglicéridos

(tres ácidos grasos unidos a una molécula de glicerol), lo cual podría impedir que los ácidos grasos de estos se asocien dentro de las estructuras helicoidales de la amilosa. Los ácidos grasos libres, al no presentar este impedimento estérico, poseen una mayor probabilidad de llevar a cabo la formación de este complejo (Kelley, 1993).

En las muestras de papa tratadas con ácido esteárico no se logró observar una curva de gelatinización ya que ésta estaba superpuesta con la curva de punto de fusión de dicho ácido graso el cuál fue medido experimentalmente en un rango de 55-68°C.

El almidón de maíz y arroz extrudido sin adición de lípidos presenta endotermas características del acomplejamiento lípido-amilosa ya que por sí mismos, estos almidones poseen ácidos grasos intrínsecos los cuales, bajo un tratamiento térmico adecuado, pueden dar lugar a la formación del complejo lípido-amilosa. Por otro lado, el almidón de papa no contiene cantidades considerables de lípidos, por lo que la formación de complejo lípido-amilosa se vuelve menos probable de que ocurra (Yuryev y col., 2004).

## 5.2 Perfil de viscosidad

En el Cuadro 6 y la Figura 9 se muestran los resultados obtenidos del perfil de viscosidad de los almidones extrudidos adicionados con diferentes ácidos grasos.

Se observó un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) del efecto de la extrusión en la viscosidad máxima. En las tres variedades de almidón se aprecia una disminución de la viscosidad máxima al ser extrudidas sin adición de lípidos con respecto al almidón nativo, desde  $973 \pm 13.29$ ,  $5499.5 \pm 78.48$ ,  $1523 \pm 26.87$  cP hasta  $220.3 \pm 13.29$ ,  $1425 \pm 24.04$ ,  $850 \pm 26.87$  cP para maíz, papa, arroz respectivamente. Lo anterior se puede atribuir al tratamiento térmico y trabajo mecánico (cizallamiento) al que se ven sometidos los gránulos de almidón durante la extrusión, lo que irrumpe la integridad estructural, causando la destrucción de enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares, dificultando su capacidad de absorber agua y, por tanto, de gelatinizar (Ye y col., 2017). Por lo que, bajas viscosidades, particularmente del pico máximo, es una característica de los almidones extruidos, que corresponde con los

resultados obtenidos, en los cuales se podría decir que ha ocurrido una hidrólisis parcial de los gránulos durante la extrusión. Se ha demostrado que las propiedades de pasta que presenta un almidón extruido, es dependiente de las condiciones a las cuales se lleva a cabo este proceso. Tales condiciones, como la humedad de la muestra, temperatura y tiempo de procesamiento tienen una influencia significativa en las propiedades de los almidones. Altas humedades y temperaturas favorecen altas viscosidades debido a que, por un lado, una mayor temperatura provoca una mayor ruptura en los enlaces que forman la estructura del almidón y por otro, una mayor cantidad de humedad, es decir, agua, incrementa la cantidad de esta que puede entrar a la estructura del gránulo, favoreciendo la gelatinización y viscosidad, siendo entonces, un efecto sinérgico entre ambas variables (Ye y col., 2017).

Cuadro 6. Efecto del tipo de lípido en el perfil de viscosidad de almidones extrudidos.

Condiciones de proceso			Perfil de viscosidad			
Almidón	Ácido graso	Concentración (%)	Visc máx. (cP)	Visc min. (cP)	Visc final (cP)	T(°C) de pasta
Maíz	Nativo	NA	973 ± 13.29 <sup>F</sup>	6.36 ± 0.18 <sup>C</sup>	941.9 ± 5.65 <sup>F,G</sup>	73.93 ± 0.00 <sup>E,F,a,b</sup>
	Extrudido	0	220.3 ± 8.76 <sup>I,J,c</sup>	10.25 ± 1.05 <sup>C,a,b</sup>	220.3 ± 8.76 <sup>J,K,b,c</sup>	73.03 ± 1.19 <sup>E,F,G,a,b</sup>
	Ácido esteárico	5	32.69 ± 0.62 <sup>K,d</sup>	9.84 ± 0.52 <sup>C,a,b</sup>	32.16 ± 0.25 <sup>M,d</sup>	70.11 ± 0.04 <sup>G,b</sup>
		10	29.19 ± 2.41 <sup>K,d</sup>	11.49 ± 0.52 <sup>B,C,a</sup>	29.19 ± 2.41 <sup>M,d</sup>	71.58 ± 2.10 <sup>F,G,a,b</sup>
	Ácido oleico	5	266.6 ± 20.08 <sup>I,J,b</sup>	8.1 ± 1.81 <sup>C,a,b</sup>	196.9 ± 23.75 <sup>J,K,L,c</sup>	75.38 ± 0.33 <sup>E,a</sup>
		10	276.8 ± 8.48 <sup>I,J,b</sup>	7.48 ± 0.10 <sup>C,b</sup>	214 ± 24.46 <sup>J,K,b,c</sup>	75.34 ± 0.30 <sup>E,a</sup>
	Aceite de maíz	5	324.35 ± 1.76 <sup>I,a</sup>	8.24 ± 0.71 <sup>C,a,b</sup>	324.35 ± 1.76 <sup>J,a</sup>	72.00 ± 1.18 <sup>F,G,a,b</sup>
10		259 ± 18.80 <sup>I,J,b,c</sup>	7.83 ± 0.05 <sup>C,b</sup>	259 ± 18.80 <sup>J,K,b</sup>	71.98 ± 0.06 <sup>F,G,a,b</sup>	
Papa	Nativo	NA	5499.5 ± 78.48 <sup>A</sup>	6.73 ± 0.25 <sup>C</sup>	2189 ± 5.65 <sup>A</sup>	66.4 ± 0.02 <sup>H,c</sup>
	Extrudido	0	1425 ± 24.04 <sup>C,D,b</sup>	24.09 ± 6.82 <sup>A,a</sup>	1425 ± 24.04 <sup>C,D,b</sup>	57.09 ± 0.04 <sup>I,d</sup>
	Ácido esteárico	5	1742.5 ± 47.37 <sup>B,a</sup>	9.54 ± 0.07 <sup>C,b</sup>	1725.5 ± 47.37 <sup>B,a</sup>	64.16 ± 0.07 <sup>H,c</sup>
		10	160.8 ± 96.32 <sup>J,K,d</sup>	9.22 ± 0.36 <sup>C,b</sup>	157.5 ± 101 <sup>K,L,M,d</sup>	90.35 ± 1.49 <sup>F,G,a</sup>
	Ácido oleico	5	1322.5 ± 23.33 <sup>D,E,b</sup>	8.75 ± 0.35 <sup>C,b</sup>	1322.5 ± 23.33 <sup>D,E,b</sup>	84.47 ± 0.01 <sup>B,C,b</sup>
		10	997 ± 62.29 <sup>F,c</sup>	8.23 ± 0.56 <sup>C,b</sup>	964.1 ± 77.56 <sup>F,c</sup>	87.19 ± 0.00 <sup>B,a,b</sup>
	Aceite de maíz	5	1224.5 ± 26.16 <sup>E,b</sup>	12.79 ± 2.85 <sup>B,C,a,b</sup>	1224.5 ± 26.16 <sup>E,b</sup>	57.59 ± 2.01 <sup>I,d</sup>
10		1319.5 ± 71.41 <sup>D,E,b</sup>	18.66 ± 3.55 <sup>A,B,a,b</sup>	1319.5 ± 71.41 <sup>D,E,b</sup>	57.52 ± 0.31 <sup>I,d</sup>	
Arroz	Nativo	NA	1523 ± 26.87 <sup>C</sup>	6.63 ± 0.60 <sup>C</sup>	1523 ± 26.87 <sup>C</sup>	71 ± 0.04 <sup>F,G,f</sup>
	Extrudido	0	850 ± 15.41 <sup>F,G,a</sup>	11.85 ± 0.74 <sup>B,C,a</sup>	850 ± 15.41 <sup>F,G,H,a</sup>	72.66 ± 0.01 <sup>E,F,G,c</sup>
	Ácido esteárico	5	63.19 ± 9.85 <sup>K,e</sup>	11.57 ± 0.49 <sup>B,C,a,b</sup>	57.33 ± 7.58 <sup>L,M,e</sup>	80.22 ± 0.02 <sup>D,b</sup>
		10	69.05 ± 7.20 <sup>K,e</sup>	9.35 ± 0.82 <sup>C,a,b</sup>	60.35 ± 6.83 <sup>L,M,e</sup>	82.78 ± 0.00 <sup>C,D,a</sup>
	Ácido oleico	5	740.5 ± 30.90 <sup>G,H,c,d</sup>	8.65 ± 0.15 <sup>C,b</sup>	740.5 ± 30.90 <sup>H,I,c,d</sup>	71.62 ± 0.89 <sup>F,G,d</sup>
		10	811.5 ± 20.01 <sup>G,H,a,b</sup>	8.97 ± 0.16 <sup>C,a,b</sup>	811.5 ± 20.01 <sup>G,H,I,a,b</sup>	71.39 ± 0.00 <sup>F,G,e</sup>
	Aceite de maíz	5	779.6 ± 11.31 <sup>G,H,b,c</sup>	9.62 ± 0.86 <sup>C,a,b</sup>	779.6 ± 11.31 <sup>H,I,b,c</sup>	70.52 ± 0.06 <sup>G,g</sup>
10		686.75 ± 13.78 <sup>H,d</sup>	10.276 ± 1.27 <sup>C,a,b</sup>	686.75 ± 13.78 <sup>I,d</sup>	70.51 ± 0.03 <sup>G,g</sup>	

Los subíndices en mayúscula representan la distribución en grupos de la comparación de muestras entre dicha variable y todos los almidones, mientras que los subíndices en minúsculas representan la distribución de grupos de la comparación de dicha variable entre muestras del mismo almidón

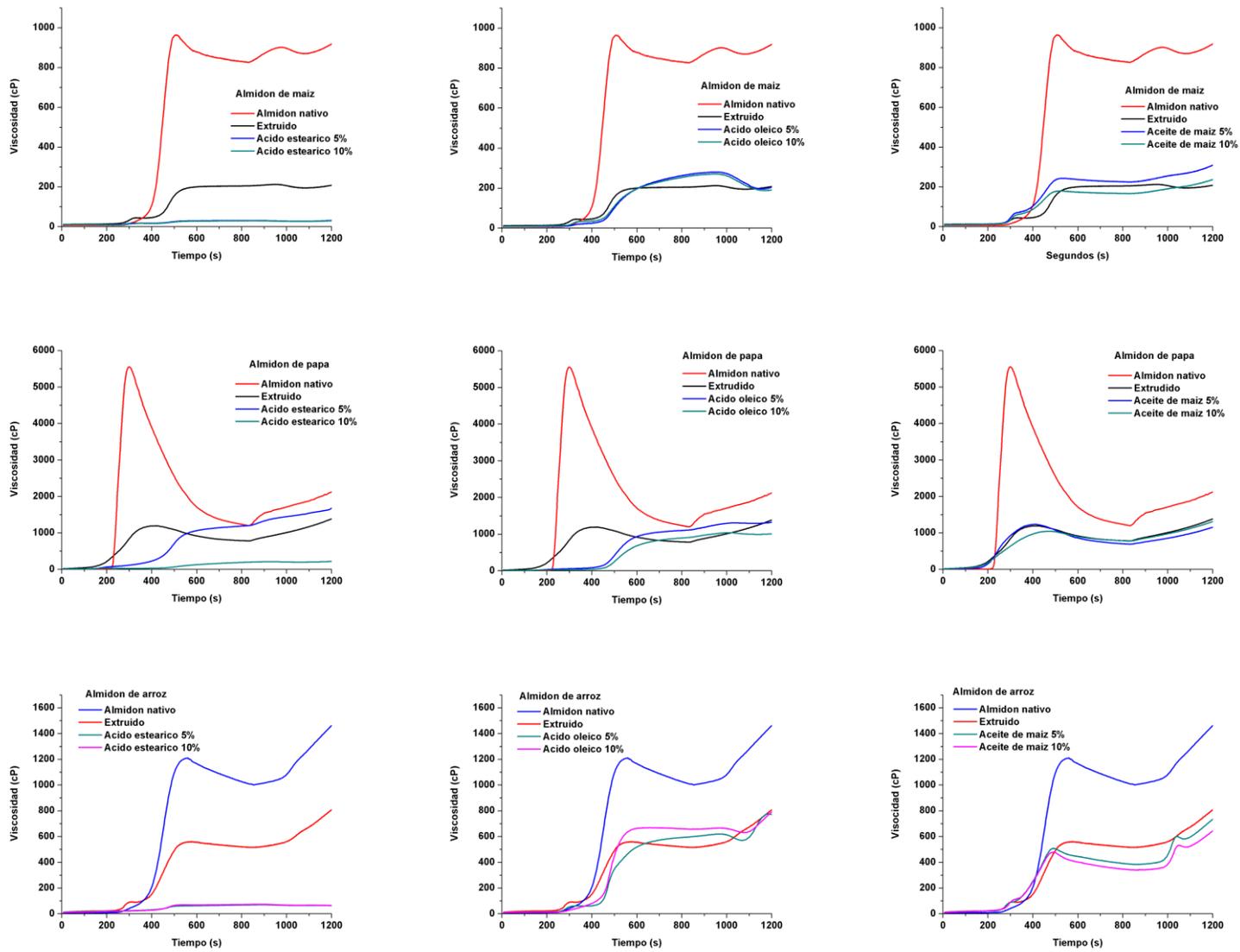


Figura 9. Perfil de viscosidad de almidones extrudidos adicionados con diferentes ácidos grasos.

Las muestras de los almidones tratadas con ácido esteárico a 5 y 10% presentaron viscosidades máximas considerablemente más bajas (a excepción de la muestra de papa con 5% de ácido esteárico) en comparación con el almidón tratado sin lípidos y el almidón nativo ( $p < 0.05$ ), como se puede observar en el Cuadro 6. Esto puede deberse a la presencia de ácido esteárico en la superficie de los gránulos, observada utilizando SEM (Figura 13), lo que sugiere que el ácido esteárico no se ha difundido en el interior de la matriz granular durante el procesamiento, sino que la ha recubierto, lo que explicaría un incremento en la hidrofobicidad de los gránulos que impide la absorción de agua al interior de estos, y llevar a cabo la hinchazón y posterior gelatinización (Aytunga y col., 2014, 2011; Panyoo y Emmambux, 2016). Resultados similares fueron reportados por D'Silva y col. (2011). Por otro lado, la mayoría de las viscosidades máximas de las muestras tratadas con ácido oleico y aceite de maíz no presentaron diferencia significativa entre sí ( $p > 0.05$ ), así como respecto al almidón extrudido, sin embargo, se observó una alteración del comportamiento de dichas curvas con respecto a las muestras control.

Como se mencionó anteriormente, el almidón de papa procesado con 5% de ácido esteárico no presentó un comportamiento en su perfil de viscosidad similar al resto de muestras. Esto podría deberse a que el gránulo de almidón de papa posee un diámetro ( $< 70 \mu\text{m}$ ), más grande que los otros dos almidones ( $< 20 \mu\text{m}$ , y  $< 5 \mu\text{m}$ , para maíz y arroz, respectivamente), lo cual dificultaría la capacidad del ácido esteárico (a esa concentración) de recubrir áreas superficiales tan elevadas para impedir el acceso de agua al interior de la matriz granular. Sin embargo, a concentración de 10%, fue suficiente para recubrir una mayor área superficial de los gránulos de almidón (según lo observado en SEM).

Las viscosidades mínimas de los tres almidones procesados sin adición de lípidos y las muestras sin procesar (almidón nativo) no presentaron diferencias significativas entre sí, salvo la muestra de papa extrudida, la cual incrementó su viscosidad desde  $6.73 \pm 0.25$  hasta  $24.09 \pm 6.82$  cP.

Además, se observó una disminución significativa en la viscosidad final de las muestras procesadas sin adición de lípidos con respecto al almidón nativo (sin procesar), que van desde  $941.9 \pm 5.65$  a  $220.3 \pm 8.76$  cP en almidón de maíz,  $2189 \pm 5.65$  a  $1425 \pm 24.04$  cP en almidón de papa y de  $1523 \pm 26.87$  hasta  $686.75 \pm 13.78$  cP en almidón de arroz. Esta disminución es debida a que, como se mencionó anteriormente, la extrusión pregelatiniza el almidón, impidiendo en gran medida la capacidad de este de volver a gelatinizar.

Las viscosidades finales de las muestras de los tres almidones procesados con los dos ácidos grasos y el aceite de maíz presentaron comportamientos en el perfil de viscosidad diferentes dependiendo lípido en cada determinado almidón, no obstante, no en todas las muestras se aprecia una diferencia significativa entre las dos concentraciones de un ácido graso en un mismo almidón.

Se ha reportado que la cantidad de amilosa de un almidón tiene impacto sobre la viscosidad final debido a que durante la fase de enfriamiento del almidón gelatinizado se lleva a cabo el proceso de gelificación, formando un gel. El proceso de gelificación es un proceso en el cual se forma un sistema coloidal, elástico, tridimensional y de dos fases, una fase sólida continua de polímeros de amilosa y otra fase líquida dispersa (Vaclavik y Christian, 2007). La gelificación ocurre debido a la formación de asociaciones intra- e inter- moleculares entre moléculas de amilosa que forman una red tridimensional capaz de retener agua en su interior. Juhasz y Salgó (2008) reportan un incremento en la viscosidad final a un valor máximo cuando el contenido de amilosa fue elevado de 0 a 27% en el almidón, mientras que conforme se va elevando la concentración de amilosa ocurrió un drástico decrecimiento hasta llegar a 70% de amilosa donde la viscosidad final adquirió su valor mínimo. Esto sugiere que el comportamiento que adquirieron las muestras al final de la medición (viscosidad final) estaría influenciada por la cantidad de amilosa disponible capaz de formar la red de enlaces entre estos polímeros, que posteriormente formará el gel.

La temperatura de pasta en los tres almidones extrudidos tuvo comportamientos diferentes en relación al almidón nativo. En el almidón de maíz dicha temperatura se

mantuvo estadísticamente igual,  $73.93 \pm 0.00^{\circ}\text{C}$  antes de extrudir y  $73.03 \pm 1.19^{\circ}\text{C}$  después de extrudir, en el almidón de papa disminuyó significativamente de  $66.4 \pm 0.02^{\circ}\text{C}$  antes de extrudir, hasta  $57.09 \pm 0.04^{\circ}\text{C}$  después de extrudir y en el almidón de arroz aumentó de  $71.0 \pm 0.04$  a  $72.66 \pm 0.01^{\circ}\text{C}$  antes y después de extrudir, respectivamente.

La temperatura de pasta en las muestras de almidón de maíz tratadas con los lípidos en ambas concentraciones (5 y 10%), mostraron ser estadísticamente iguales a las temperaturas de pasta de la muestra sin ácidos grasos.

En el almidón de papa se aprecia que la muestra tratada con 5% de ácido esteárico tiene una temperatura de pasta estadísticamente igual a la del almidón nativo ( $66.4 \pm 0.02$  y  $64.16 \pm 0.07^{\circ}\text{C}$ , respectivamente), este fenómeno puede deberse a que debido a la temperatura de fusión determinada por DSC ( $55-68^{\circ}\text{C}$ ) el ácido esteárico puede haber actuado como plastificante, protegiendo los gránulos durante el procesamiento. Por otro lado, el incremento en la concentración a 10% de dicho ácido graso en ese almidón mostró un incremento considerable hasta los  $90.35 \pm 1.49^{\circ}\text{C}$ . En las muestras de almidón de papa tratadas con ácido oléico a concentración de 5 y 10%, las temperaturas de pasta permanecieron significativamente iguales ( $84.47 \pm 0.01$  y  $87.19 \pm 0.00$  cP, respectivamente), fenómeno que se observó de misma manera en las muestras de dicho almidón con aceite de maíz siendo los valores de  $57.59 \pm 2.01$  para la muestra al 5% y  $57.52 \pm 0.31$ , para la muestra al 10%.

Del mismo modo, se observó un incremento significativo en la temperatura de pasta de las muestras de almidón de arroz con ácido esteárico al 5% ( $80.22 \pm 0.02$  cP) y 10% ( $82.78 \pm 0.00$  cP) con respecto al almidón extrudido ( $72.66 \pm 0.01$  cP), mientras que las muestras de aceite de maíz permanecieron significativamente iguales en ambas concentraciones de 5% y 10% ( $70.52 \pm 0.06$  y  $70.51 \pm 0.03$  Cp), respectivamente. De manera general se observa que un incremento en la concentración de ácido esteárico tuvo un impacto significativo en la temperatura de pasta del almidón de papa y arroz en comparación a los otros dos lípidos,

probablemente debido al requerimiento energético que tiene el ácido esteárico para pasar de estado sólido a líquido, el cual es mayor.

Las condiciones y características físicas de los lípidos tienen un efecto sobre el comportamiento en el perfil de viscosidad de los almidones. La adición de lípidos líquidos a temperatura ambiente puede exhibir un efecto lubricante dentro del extrusor (Colonna y Mercier, 1983). Este fenómeno se ha observado que es más notorio en extrusores de tornillo simple ya que ocurre una reducción de fricción en el material (Bhatnagar y Hanna, 1996). Este efecto lubricante que tienen los ácidos grasos líquidos se ha observado que es capaz de reducir la energía mecánica de cizallamiento aplicada sobre el material, lo que significa un daño menor provocado por este factor. Contrario a la utilización de ácidos grasos sólidos, estos aumentan la fricción entre el material, el tornillo y las paredes internas del extrusor que provocaría aún más daño mecánico (Ilo y col., 2000). Esto pudo observarse durante el proceso de extrusión del material, pues las muestras con ácido esteárico presentaron una mayor dificultad para fluir durante la alimentación y el dado, lo que podría impactar en el tiempo de cocción dentro del extrusor, y un trabajo mecánico más extenso.

La gelatinización tiene un papel importante en la formación del complejo lípido-amilosa, ya que durante este proceso ocurre una desestabilización de las zonas amorfas del almidón cuando estas absorben agua en presencia de calor. Lo que provoca la hinchazón y ruptura del gránulo de almidón, a través de la cual ocurre una lixiviación de amilosa de los gránulos. Dicha amilosa filtrada es entonces, capaz de formar complejos con ácidos grasos, alcoholes lineales, o surfactantes (Okumus y col., 2018).

### 5.3 Difracción de rayos X (DRX)

La difracción de rayos X (XRD, por sus siglas en inglés) es una técnica óptica que permite obtener información estructural de un material haciendo incidir un haz de fotones de alta energía (rayos X) sobre este, dichos fotones interactúan con los átomos que forman una red tridimensional ordenada dentro de un sólido, dando como resultado un patrón de difracción que puede ser alterado al ser modificada dicha

estructura cristalina (o semicristalina). El almidón posee un arreglo semicristalino en su estructura y patrones de difracción definidos, los cuales pueden ser observados por esta técnica (Nakamura, 2015).

Los resultados obtenidos del análisis de rayos X de almidones nativos, extrudidos con y sin lípidos añadidos se muestran en la Figura 10.

En las muestras de almidón de maíz y arroz nativo se observaron picos pronunciados cerca de  $2(\theta) = 15^\circ$ ,  $17^\circ$ , y  $23^\circ$  (Figura 10). Dichos picos corresponden al típico patrón de difracción de una estructura tipo A (Han y col., 2013). Por otro lado, las muestras de papa mostraron picos intensos alrededor de  $2(\theta) = 5.6^\circ$ ,  $15.2^\circ$ ,  $17.2^\circ$  y  $22.5^\circ$ , señales características de un patrón de difracción tipo B (Figura 10) (Manek y col., 2012; Reddy y col., 2018).

El efecto de la extrusión sobre el grado de cristalinidad se puede observar como una disminución en la intensidad relativa de los picos de los patrones característicos obtenidos de los tres almidones extrudidos con respecto al almidón nativo. En el almidón de maíz y arroz, las intensidades relativas de los picos característicos del patrón tipo A ( $15^\circ$ ,  $17^\circ$  y  $23^\circ$ ) disminuyeron al aplicarse la extrusión, fenómeno que también se observa en el almidón de papa extrudido sin lípidos en comparación al almidón nativo, en cuyo patrón se hace más notoria esta diferencia en los picos cercanos a  $5.66^\circ$ ,  $17.2^\circ$  y  $22.5^\circ$ . Esta disminución en el patrón del arreglo semicristalino del almidón puede ser debido a que, durante la gelatinización en el extrusor, el agua se difunde dentro del gránulo, el cual se hincha debido a la hidratación de la fase amorfa, la cual es favorecida por los enlaces de hidrógeno débiles de esta área. El proceso se extiende a la región cristalina, causando la pérdida de orden molecular y consecuentemente, de cristalinidad (Alcázar-Alay y Meireles, 2015). Resultados similares fueron reportados por Wang y col. (2016).

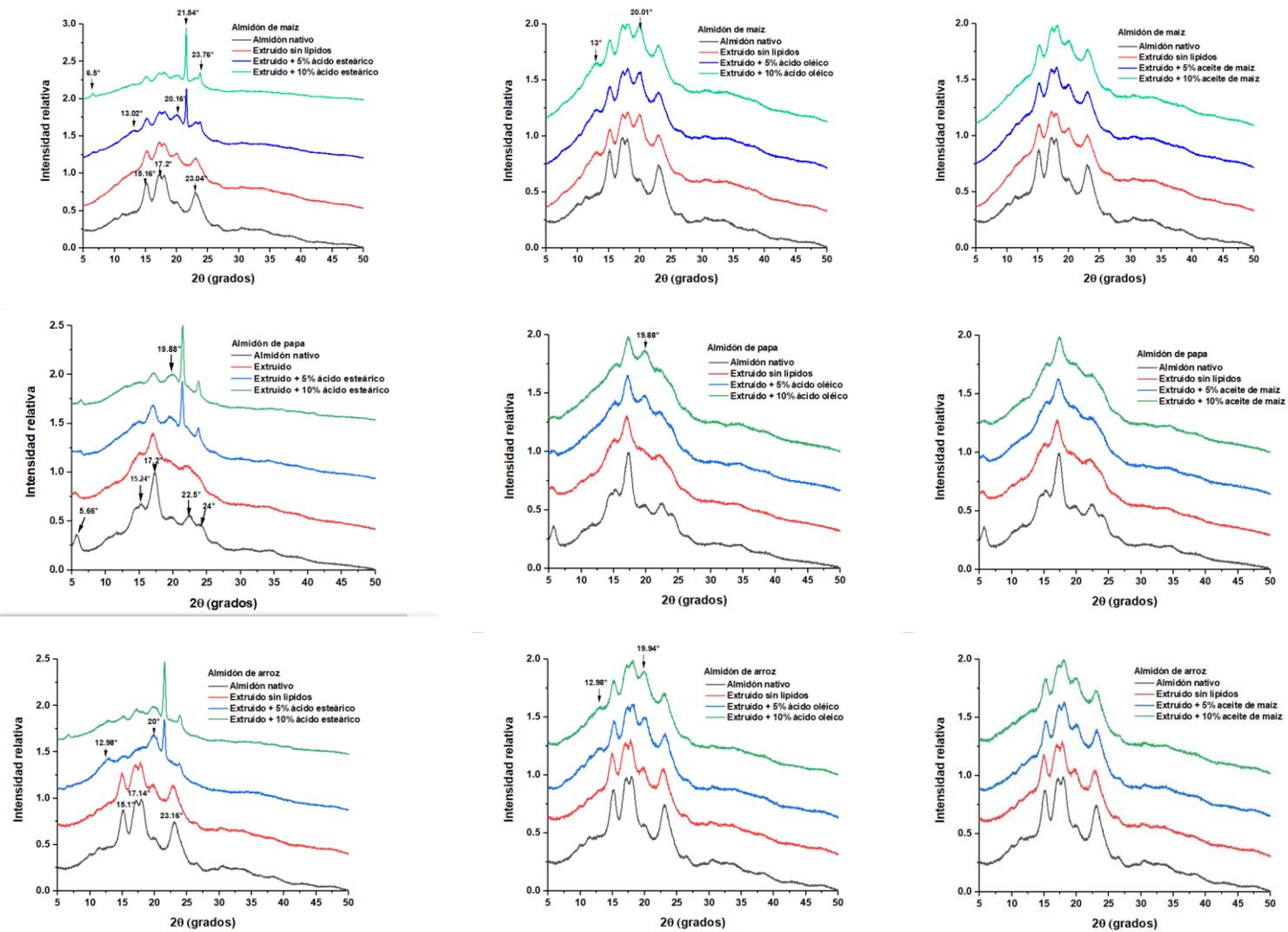


Figura Figura 10 Difracción de rayos X de almidones extruidos adicionados de diferentes ácidos grasos.

En las muestras de los tres almidones a las que se añadió ácido esteárico y ácido oléico se observaron dos picos nuevos en  $2(\theta) = 13^\circ$  y  $20^\circ$ , siendo el último, el más evidente. Estas señales se atribuyen a la modificación estructural del almidón al formarse un patrón tipo V, el cual está asociado a la formación del complejo lípido-amilosa (Derycke y col., 2005; Wang y col., 2016; Reddy y col., 2018). Estos picos fueron observados en menor medida en el control (almidón extrudido) y en las muestras con aceite de maíz comercial prácticamente no fueron alteradas con respecto al almidón extrudido sin lípidos. Estos resultados concuerdan con lo observado con los datos obtenidos en las pruebas calorimétricas, en donde las muestras tratadas con ácidos grasos libres (oléico y esteárico) presentaron mayores indicios de la formación del complejo lípido-amilosa, mientras que las muestras tratadas con aceite de maíz no presentaron evidencia detectable de la formación de dicho complejo. La aparición de nuevos picos sugiere que a pesar de que la estructura semicristalina del almidón ha sido colapsada debido a la extrusión (que se puede observar por la disminución en la intensidad de las señales típicas del almidón nativo correspondiente), también se han formado nuevas estructuras cristalinas durante ésta, sugiriendo que se ha logrado formar un complejo cristalino lípido-amilosa.

Raphaelides y col. (2010) reportaron que bajo ciertas condiciones de extrusión de almidón de maíz ( $>100^\circ\text{C}$ ) el patrón tipo A del almidón nativo de maíz puede ser ligeramente transformado hacia un patrón tipo V debido al acomplejamiento natural de los lípidos y amilosa. Dicho efecto resultó más notorio al agregar ácidos grasos (ácido mirístico y palmítico). Además, se observó que a temperaturas de extrusión entre  $100$  y  $140^\circ\text{C}$  se presentaba una mezcla de los patrones A y V, mientras que a temperaturas aún más altas ( $160^\circ\text{C}$ ) se observaron únicamente patrones tipo V. Lo que sugiere que la temperatura (así como la presencia de ácidos grasos libres extrínsecos) es un factor importante en la formación del patrón tipo V. Resultados similares fueron observados por Becker y col. (2001) reportan una transición del patrón de difracción tipo A hacia un patrón tipo V conforme el tiempo de cocción

aumentaba a una temperatura de trabajo de 140°C. Dicho fenómeno se le atribuyó a la cristalización del complejo lípido-amilosa.

A pesar de que las condiciones de temperatura utilizadas durante el presente estudio no fueron tan elevadas como en los estudios mencionados anteriormente, se pueden apreciar indicios de una transición en los patrones de difracción tipo A y B, hacia un patrón tipo V, mostrando la modificación de las señales características del patrón de difracción de cada almidón. Resultados similares fueron encontrados por Reddy y col. (2018) dónde del mismo modo se observó una combinación de patrones tipo A y B con el patrón tipo V asociada al complejo lípido-amilosa al gelatinizar almidón de maíz de alto nivel de amilosa con ácido esteárico a 90°C de 6 a 24 horas bajo agitación constante.

En las muestras de almidón de maíz tratadas con ácido esteárico se observa un aumento en la intensidad de los picos característicos de la estructura tipo V con el aumento de la concentración del ácido antes mencionado (10%), mientras que las muestras tratadas con ácido oléico y aceite de maíz no se observa una diferencia en ambas concentraciones. En el almidón de papa también se observa un incremento en la intensidad de las señales de la estructura tipo V con el aumento en la concentración de ácido esteárico (10%), además, también se observa este fenómeno en las muestras a las que se les añadió ácido oléico, mientras que, no se observó un cambio en intensidad de las muestras con aceite de maíz. En las muestras de almidón de arroz utilizando ácido esteárico se observó una mayor intensidad a concentración de 5%, mientras que utilizando ácido oléico se observó un incremento en la intensidad al aumentar la concentración a 10%. De mismo modo que los otros dos almidones, no se observó diferencia en la intensidad de dichas señales al variar la concentración de aceite de maíz.

En todos los almidones tratados con ácido esteárico se observan picos pronunciados alrededor de 6.5°, 21.5° y 23.8° los cuales corresponden al arreglo cristalino que posee el ácido esteárico al encontrarse en estado sólido a temperatura ambiente (Chen y col., 2017).

#### 5.4 Espectroscopia infrarroja (FT-IR)

La espectroscopia infrarroja es una técnica que permite la identificación de grupos funcionales de una muestra cuando se hace incidir energía en un rango de radiación infrarroja, dicha energía puede pasar sin interactuar con las moléculas, mientras que el resto interactúa con éstas y es absorbida, provocando la vibración de los enlaces entre los átomos de distintos grupos funcionales, los cuales, absorben energía de un número de onda específico. El principio de la técnica es la ley de Beer-Lambert, en donde, la proporción de intensidad absorbida con respecto a la intensidad total que ingresa al material está relacionada con la concentración de moléculas absorbentes. Considerando las interacciones en un orden de rango local, esta técnica se ha utilizado para describir la organización y la estructura del almidón. Se ha demostrado que el espectro FT-IR del almidón es sensible a los cambios en la estructura a nivel molecular (Sacithraa y col., 2013).

En la Figura 11 se muestran los resultados de FT-IR, en donde se aprecia en todas las muestras de los tres almidones la aparición de dos nuevos picos bastante pronunciados con respecto a los almidones nativos y extruidos sin ácido graso añadido. Estas nuevas señales se ubican alrededor de  $1705\text{ cm}^{-1}$  y  $2845\text{ cm}^{-1}$ , correspondientes a la vibración del grupo carbonilo y a la vibración asimétrica de los grupos  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$  de los ácidos grasos, respectivamente (Wang y col., 2016).

La banda presente cerca de  $1645\text{ cm}^{-1}$  está relacionada con la vibración asimétrica de enlaces de hidrógeno en moléculas de agua absorbidas en las regiones amorfas, esta banda también en los almidones con y sin extrudir (Sukhija y col., 2015; Dankar y col., 2018).

La banda con mayor intensidad que abarca la región de aproximadamente entre  $3000$  y  $3700\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la vibración del enlace O-H, el cual proviene de las moléculas de glucosa y ácidos grasos añadidos (Deeyai y col., 2012).

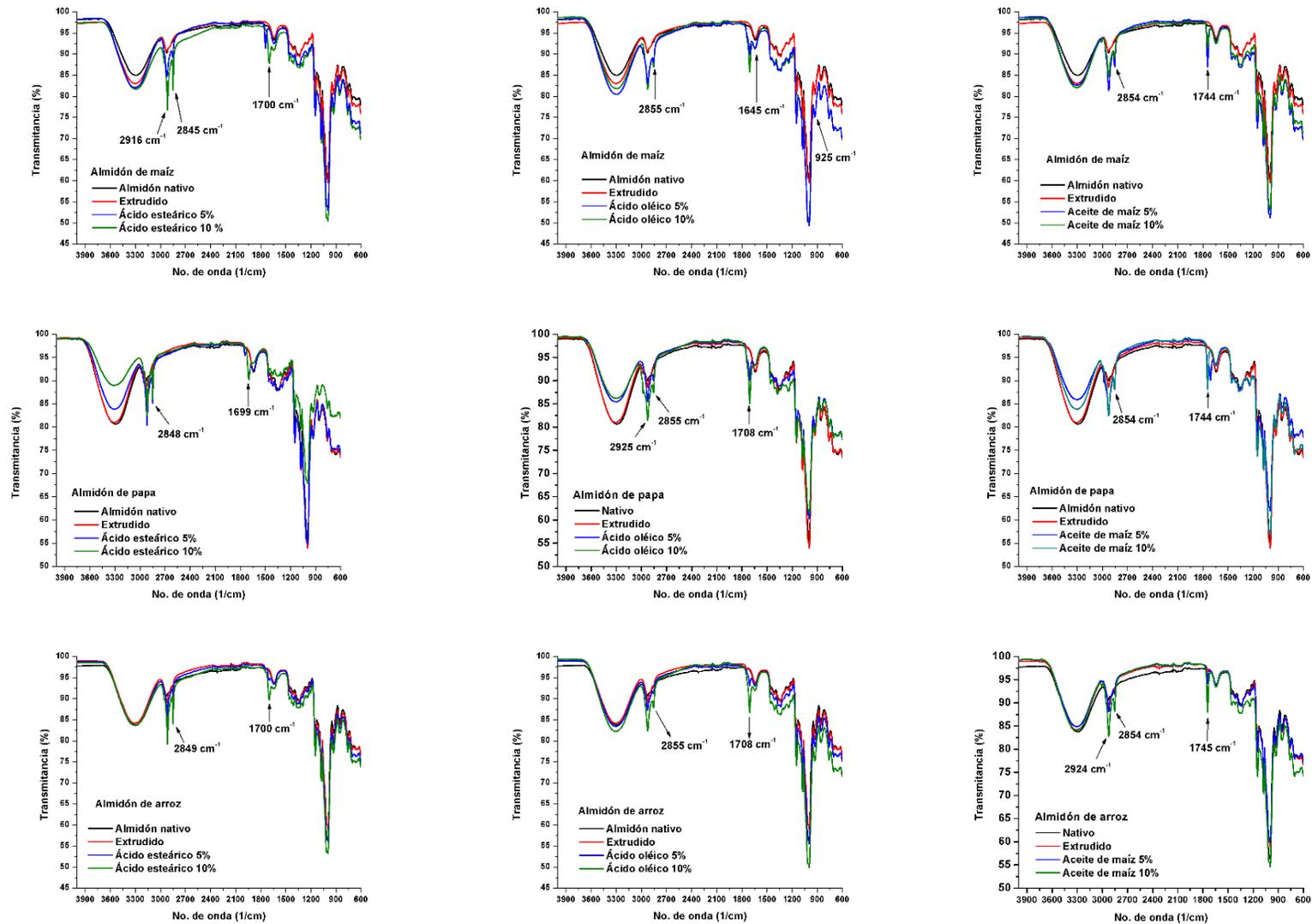


Figura 11. Espectroscopia de infrarrojo de almidones extrudidos adicionados de diferentes ácidos grasos.

En la región de 800 y 1500  $\text{cm}^{-1}$  no se aprecia la aparición de nuevas bandas ni cambios considerables; a esta zona se le atribuye principalmente por vibración de las moléculas de glucosa (región de huella digital). Las tres principales bandas entre 1000 y 1250  $\text{cm}^{-1}$  son atribuidos a la vibración de las uniones C-O-C y C-O-H de los enlaces glucosídicos (Bernardino-Nicanor y col., 2017).

Se ha observado en estudios anteriores que la intensidad de la banda cerca de 1022  $\text{cm}^{-1}$  aumenta al gelatinizar un almidón (pérdida de estructuras ordenadas) y disminuye cuando el almidón gelatinizado es retrogradado (reordenación). Mientras que se ha observado que la intensidad de la banda a 1047  $\text{cm}^{-1}$  se caracteriza por el comportamiento opuesto, es decir, disminuye durante la gelatinización y aumenta durante la retrogradación (Sevenou y col., 2002). Las bandas con longitud de 1022  $\text{cm}^{-1}$  y 1047  $\text{cm}^{-1}$  son características de las estructuras amorfas y cristalinas del almidón, respectivamente. Por lo tanto, la proporción de 1047  $\text{cm}^{-1}$ / 1022  $\text{cm}^{-1}$  se ha utilizado anteriormente para expresar la cantidad de dominios cristalinos ordenados a dominios amorfos en almidones (Liu y col., 2009; Kaur y col., 2016; Bernardino-Nicanor y col., 2017).

En casi todas las muestras de los tres almidones se observa un aumento o disminución de la intensidad de estas señales (1022  $\text{cm}^{-1}$  y 1047  $\text{cm}^{-1}$ ) con respecto a la muestra extrudida sin lípidos y el almidón nativo. Esto puede deberse a que durante el proceso de extrusión y después de este, ocurre la gelatinización y posterior retrogradación de las muestras, lo cual dependerá de otros factores y variables de proceso que quizá no se están tomando en cuenta como temperatura de almacenamiento, efecto de los lípidos y su concentración en la retrogradación en muestras extrudidas, entre otras.

En todas las muestras de los tres almidones extrudidos sin lípidos se observa que el pico alrededor de 1022  $\text{cm}^{-1}$  se vuelve ligeramente más definido. Dicho efecto se hace más evidente al agregar ácido oléico y ácido esteárico, mientras que con aceite de maíz se vuelve menos notorio. La concentración no parece tener un efecto notorio sobre la definición de esta señal.

La vibración cerca de  $1160\text{ cm}^{-1}$  es asignada a vibraciones de enlaces glucosídico C-O-C y todo el anillo de glucosa que puede estar presente en diferentes modos de vibración. El pico en la zona de  $925\text{ cm}^{-1}$  que se observa en todas las muestras de los tres almidones está asociado a la vibración del enlace glucosídico  $\alpha$  1-4 (Deeyai y col., 2012; Dankar y col., 2018).

Se ha reportado que una banda en  $1715\text{ cm}^{-1}$  está atribuido a la formación del complejo lípido-amilosa (Marinopoulou y col., 2016). Sin embargo, en los espectros obtenidos no se observa dicha banda, ya que se presume que el pico del grupo carbonilo al ser demasiado grande y estar tan cercana a esta señal (alrededor de  $1700\text{ cm}^{-1}$ ) han sido transpuestas. Para lograr observar una mejor separación de ambas señales se sugiere la medición de las muestras en un espectrofotómetro infrarrojo de mayor resolución.

### 5.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

El microscopio electrónico de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) es un instrumento que se basa en hacer incidir un haz de electrones de alta energía para generar señales en la superficie de muestras sólidas. Estas señales revelan información morfológica externa, y puede ayudar al análisis de composición química y estructural (cristalinidad) de las muestras (Liu y col. 2009).

Las microestructuras de los almidones nativos se muestran en la Figura 12. Estos mostraron una integridad en su estructura, al no presentar rupturas o fisuras. Además, se observaron tamaños de gránulos  $<70\text{ }\mu\text{m}$ ,  $<20\text{ }\mu\text{m}$ ,  $<5\text{ }\mu\text{m}$  para los almidones de papa, maíz, y arroz, respectivamente. Además de presentar diferentes tamaños también presentaron diferentes formas del gránulo, debido a la fuente botánica de cada almidón (Ma y col., 2016). Estudios sugieren que el tamaño de gránulo tiene un efecto sobre las propiedades fisicoquímicas, como la gelatinización y paste, susceptibilidad enzimática, cristalinidad y solubilidad (Lindeboom y col., 2004).

Al aplicarse el tratamiento de extrusión a los almidones nativos se observó una destrucción de los gránulos debido a las altas temperaturas, presión, humedad, y trabajo mecánico (cizallamiento) al que es sometido el gránulo durante la extrusión, provocando así la fusión de los gránulos de almidón para formar una matriz conformada por gránulos aglomerados (Limón-Valenzuela, 2016). Dicho fenómeno puede observarse en la Figura 12.

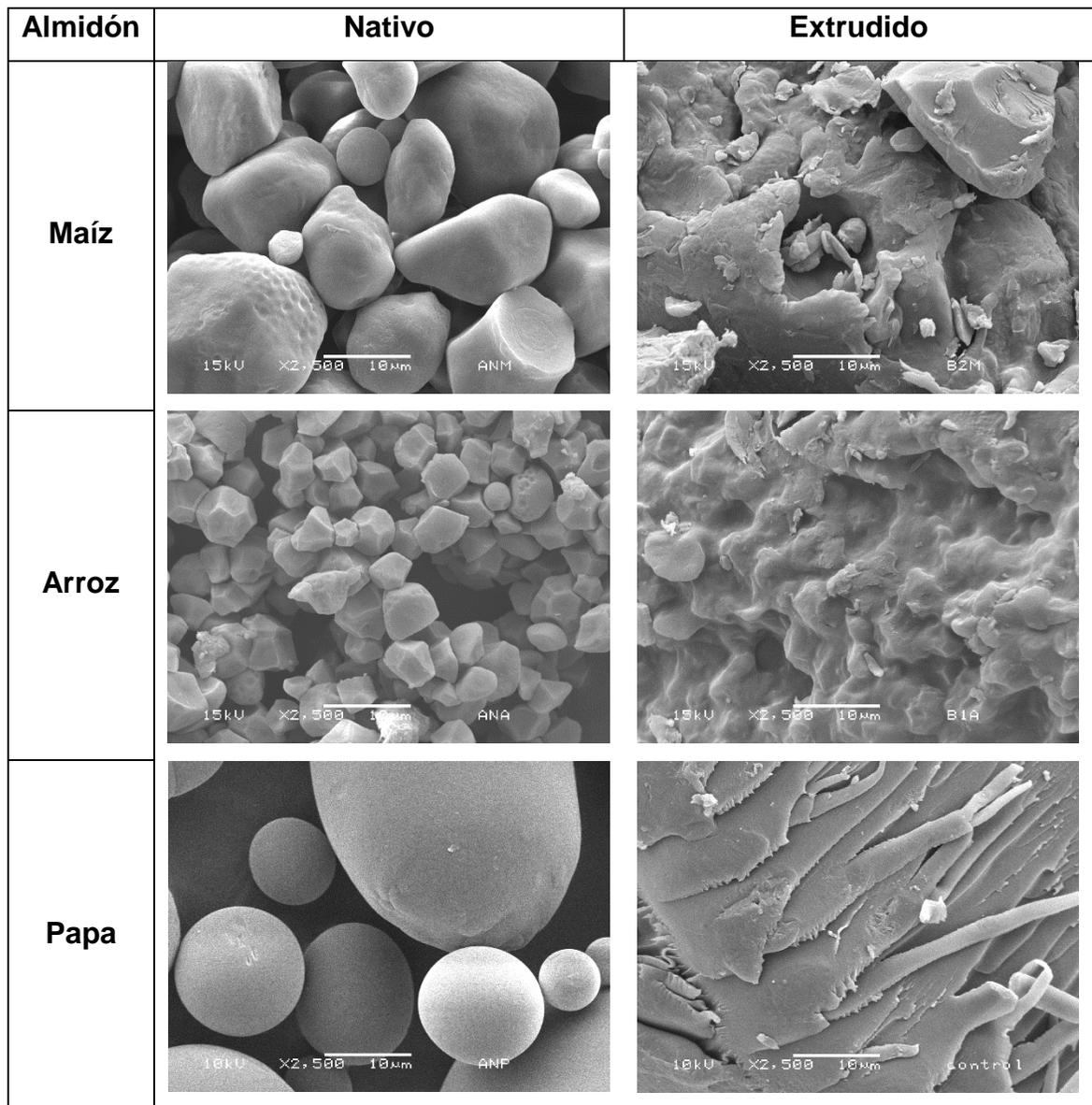


Figura 12. Microestructura de almidones nativos y extrudidos sin adición de lípidos.

En las muestras de almidón de maíz tratadas con ácido esteárico se aprecia que dicho ácido graso fue capaz de recubrir la superficie de los gránulos, siendo visiblemente más evidente a alta concentración (10%) (Figura 13).

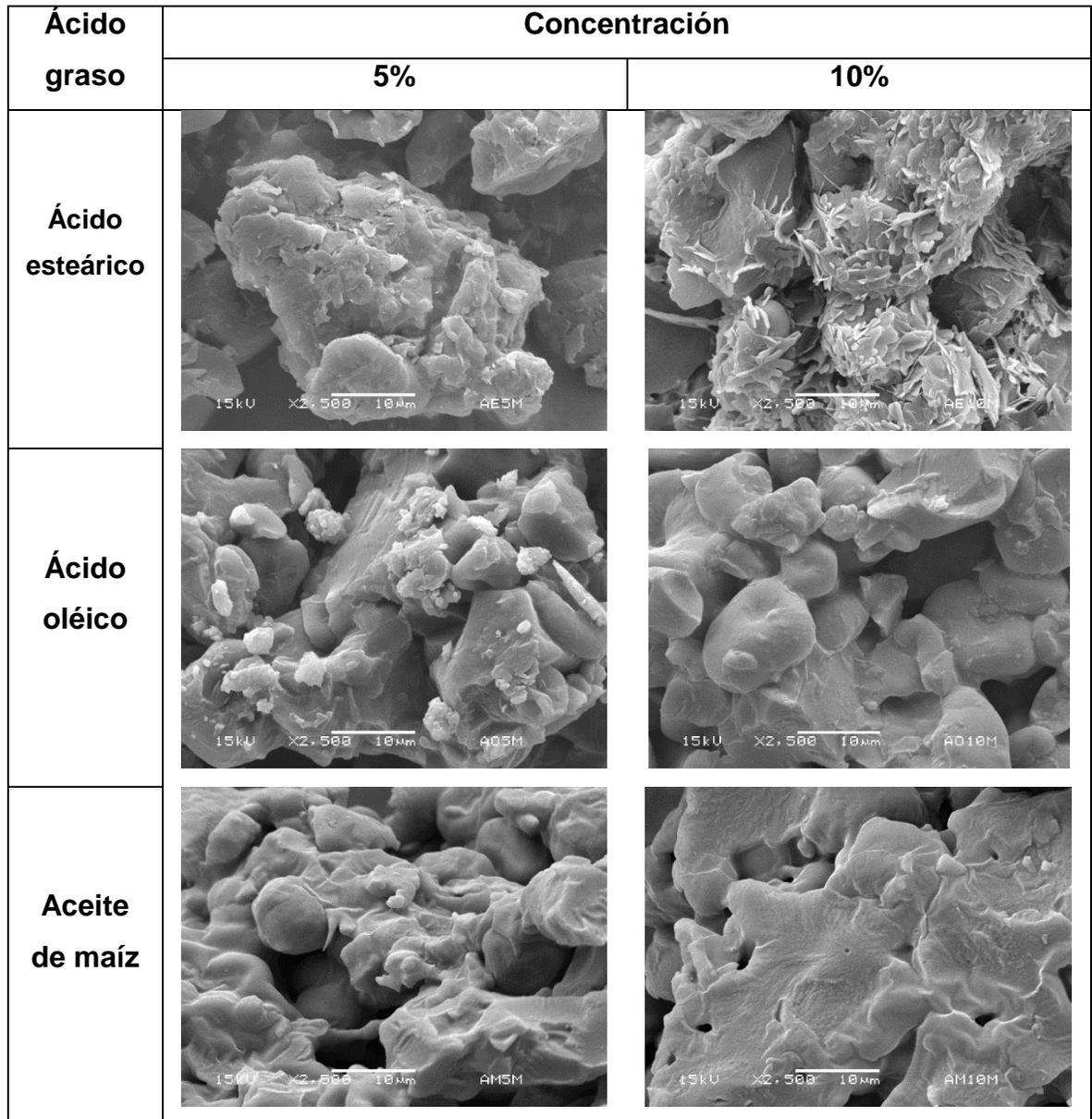


Figura 13. Microscopía electrónica de barrido de almidón de maíz adicionado de diferentes ácidos grasos.

Esta capa, debido a sus características químicas, le confirió al almidón propiedades hidrofóbicas que impidieron que el agua ingresara a la matriz granular y estos pudieran absorber agua y posteriormente hincharse y gelatinizar. Teniendo entonces,

el ácido esteárico una función protectora sobre los gránulos, lo cual explicaría los fenómenos del perfil de viscosidad encontrados en las muestras de cada almidón tratadas con ácido esteárico (Raphaelides y Georgiadis, 2006; Wang, 2018). Resultados similares fueron observados por D'Silva y col. (2011), utilizando almidón de maíz con ácido esteárico a diferentes concentraciones (de 0.25 a 4% en base seca) y manteniéndose a 50°C por 30 min.

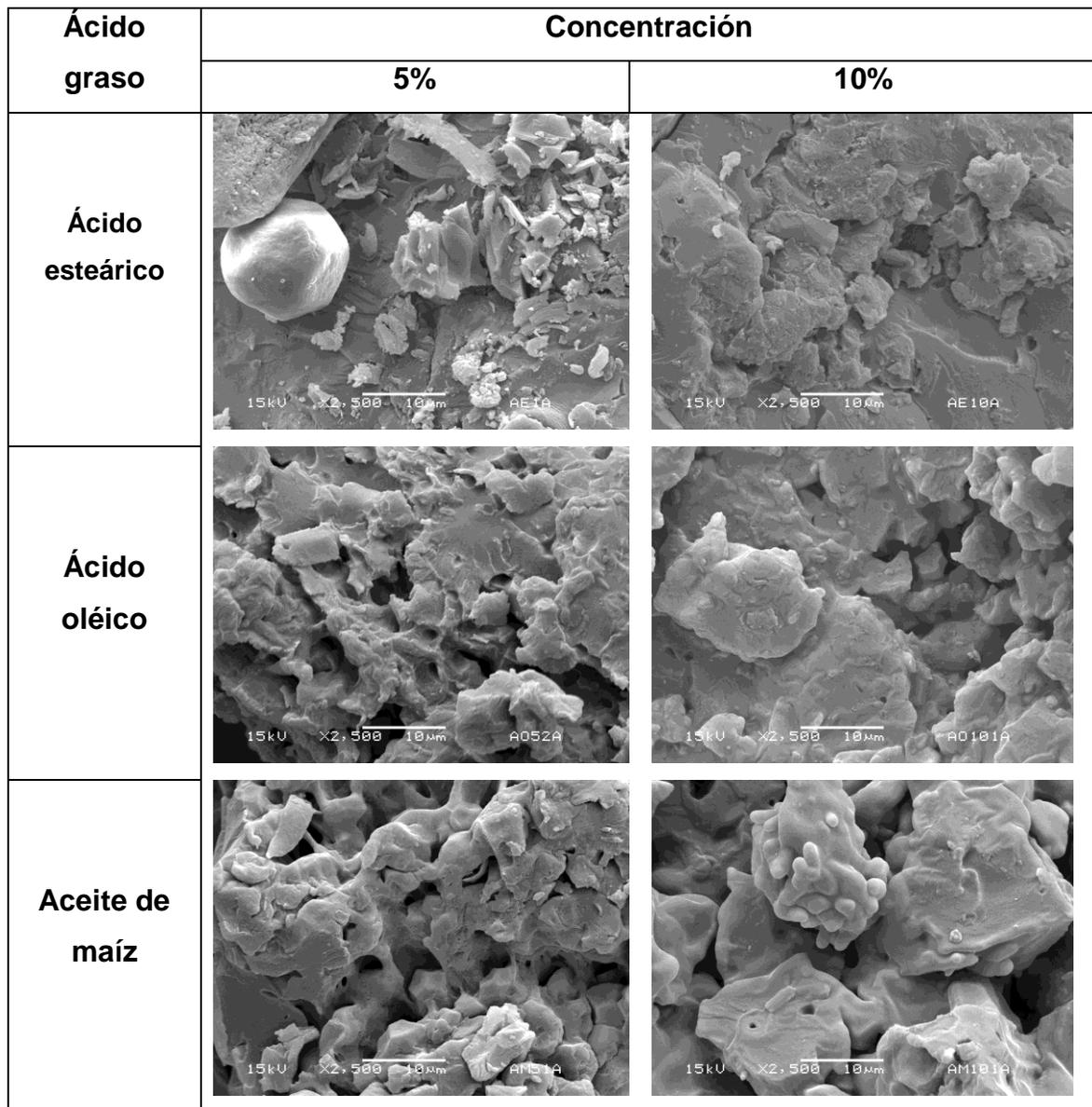


Figura 14. Microscopía electrónica de barrido de almidón de arroz adicionado de diferentes ácidos grasos.

En general en todas las muestras tratadas con ácido oléico y aceite de maíz se observan resultados similares. Se aprecia el daño en la morfología e integridad de los gránulos producto del procesamiento en el extrusor. Además, en las muestras de arroz con ácido esteárico se observó la presencia de cristales de ácido esteárico distribuidos de manera más o menos homogénea (Figura 14) lo que concuerda también con lo observado en las muestras de maíz con dicho ácido graso.

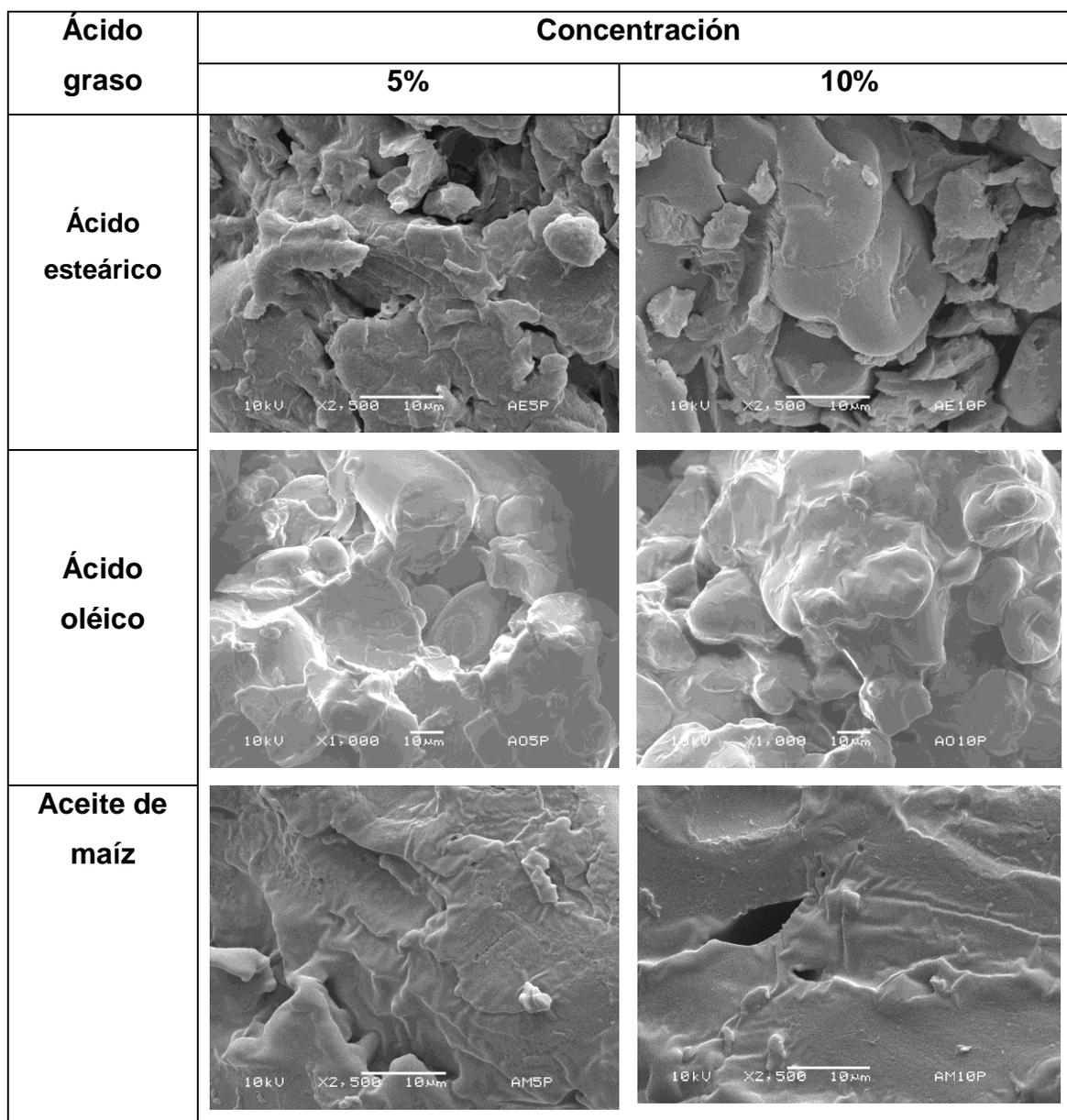


Figura 15. Microscopía electrónica de barrido de almidón de papa adicionado de diferentes ácidos grasos.

Las muestras de los tres almidones con ácido oléico y aceite de maíz presentaron comportamientos similares en la morfología de los gránulos, siendo estos parcialmente destruidos e integrados a una matriz granular derivada de la fusión de los gránulos (Figura 15), sin embargo, como se mencionó, también se logra apreciar algunos gránulos con cierta integridad morfológica, que explica la capacidad de gelatinizar que estos presentaron en sus respectivos perfiles de viscosidad.

La integridad morfológica puede deberse a diversas causas como por ejemplo el efecto protector que pudieran tener los ácidos grasos durante la extrusión, así como el efecto lubricante que se ha mencionado anteriormente, el cual lograría reducir de manera importante el daño físico causado por fuerza de cizalla dentro del extrusor (Bhatnagar y Hanna, 1996).

## 6. CONCLUSIONES

La técnica de extrusión es viable para la formación del complejo lípido-amilosa (almidón resistente tipo V) en muestras de almidón con ácidos grasos libres (ácido esteárico y ácido oléico), dichos complejos fueron identificados mediante su endoterma de disociación característico ( $T_0$  cercana a  $100^{\circ}\text{C}$ ) y confirmados por los análisis de difracción de rayos X, encontrándose el patrón de difracción característico ( $2(\theta) = 13^{\circ}$  y  $20^{\circ}$ ) de la estructura con carácter cristalino resultante al asociarse los lípidos con las estructuras helicoidales de la amilosa (patrón de difracción tipo V).

La energía aplicada por el extrusor fue capaz de modificar estructuralmente al gránulo de almidón, siendo afectadas principalmente las zonas semicristalinas conformadas por nanoclusters de amilopectina (lamelas semicristalinas), las cuales fueron parcialmente desordenadas tomando un carácter más amorfo y cuyo efecto fue observado en la difracción de rayos X como una disminución en la intensidad de sus señales características del respectivo almidón nativo.

La muestra de maíz con ácido esteárico al 10% mostró un endoterma de disociación más grande ( $1.06 \text{ J/g}$ ) que también se relaciona con mayor cantidad de complejo formado.

La presencia de ácido esteárico mostró un efecto protector sobre la superficie de los gránulos, confiriéndoles un carácter hidrofóbico, lo cual provocó una disminución significativa del pico máximo de viscosidad.

El almidón de papa mostró una mayor dificultad de formar el complejo lípido-amilosa bajo las condiciones a las que se trabajó, según los datos obtenidos en DSC y DRX. Mientras que el almidón de maíz y arroz mostraron una mayor facilidad y tendencia de formar dicho complejo.

Las muestras tratadas con ácido oléico y aceite de maíz mostraron características similares en la morfología de los gránulos, así como en el comportamiento en su viscosidad máxima según el perfil de viscosidad de estas. Esto se presume, es debido a que la integridad morfológica de los gránulos está estrechamente

relacionada con el trabajo térmico-mecánico que se aplique sobre estos. Dado que ambos lípidos poseen características físicas similares (líquidos a temperatura ambiente) estos pudieron tener un efecto lubricante dentro del extrusor. Contrario a las muestras con ácido esteárico, donde dicho ácido graso se encuentra en estado sólido a temperatura ambiente, pudiendo tener un impacto mecánico más severo por fuerzas de fricción, que se vería reflejado en una diferencia en la morfología de sus gránulos con respecto a los otros dos lípidos.

En las muestras de los tres almidones extrudidas con aceite de maíz, no se logró identificar evidencia de la formación de dicho complejo, que se presume es debido al impedimento estérico que posee, siendo incapaz de introducirse en la zona hidrofóbica interior de la hélice de amilosa.

La extrusión demostró tener potencial como método de producción de almidón resistente tipo 5 en diferentes variedades de almidón utilizando ácidos grasos libres, por lo que se sugieren estudios aplicados en el área de producción de alimentos.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

**Abas**, A, Singh P, Ahmad M, Schweiggert-Weisz U, Gul K, Ahmed I. Rice Starch diversity: effects on structural, morphological, thermal, and physicochemical properties—a review. *Compr Rev Food Sci F* **2012**; 11:417-436.

**Adamu** B. Resistant starch derived from extruded corn starch and guar gum as affected by acid and surfactants: structural characterization. *Starch/Stärke* **2001**; 53:82–91.

**Alcazár-Alay** S, Meireles MA. Physicochemical properties, modifications and applications of starch from different botanical sources. *Int J Food Sci and Tech* **2015**; 35:215-236.

**Aytunga** E, Gönenç I, Us F. Effects of fatty acid addition on the physicochemical properties of corn starch. *Int J of Food Prop* **2014**: 17: 204-218.

**Azad** M. Extrusion. Reference module in food science **2016**; 40:1-2.

**Bao** J, Bergman CJ. Starch in food: structure, function and applications. 2a edición. Las Vegas: Woodhead publishing series in food science, **2018**:373-419.

**Bhatnagar** S, Hanna M. Starch-stearic acid complex development within single and twin screw extruders. *J of Food Sci* **1996**; 61:778-782.

**Beckles** D M, Thitisaksakul M. How environmental stress affects starch composition and functionality in cereal endosperm. *Starch/Stärke* **2014a**; 66:58-71.

**Beckles** D M, Thitisaksakul M. Use of biotechnology to engineer starch in cereals, *Encyclopedia of biotechnology in agriculture and food* **2014b**:1-8.

**Bernardino-Nicanor** A, Acosta-García G, Güemes-Vera N, Montañez-Soto J, Vivar-Vera M. Fourier transform infrared and Raman spectroscopic study of the effect of the thermal treatment and extraction methods on the characteristics of ayocote bean starches. *J Food Sci Technol* **2017**; 54:933-943.

**Bertoft** E. Understanding starch structure: recent progress. *Agronomy* **2017**; 56:1-29.

**Brennan** C S. Dietary fibre, glycaemic response, and diabetes. *Mol Nutr Food Res* **2005**;49: 560-570.

- Cao X A**, Piao H, Li J, Lin J Y, Jian H X. Surface chemical and electronic properties of plasma-treated n-type. *Phys Status Solid* **2007**; 204:3410–3416.
- Chen P**, Yu L, Chen L, Li X. Morphology and microstructure of maize starches with different amylose/amylopectin content. *Starch/Stärke* **2006**; 58:611-615.
- Chen Y**, Zhang X, Wang B, Lv M, Zhu Y, Gao J. Fabrication and characterization of novel shapestabilized stearic acid composite phase change materials with tannic-acid-templated mesoporous silica nanoparticles for thermal energy storage. *RSC* **2017**; 7:15625-15631.
- Colonna**, P. and Mercier, C. Macromolecular modifications of manioc starch components by extrusion-cooking with and without lipids. *Carbohydr Polym* **1983**;3: 87–108.
- Coral DF**, Pineda-Gómez P, Rosales-Rivera A, Rodríguez-García ME. Determination of the gelatinization temperature of starch presented in maize flours. *JPCS* **2009**; 167:1-5.
- Cortés H F**, Martínez P N, Alberio H. *Fundamentos de cristalografía*. Armenia: Editorial Elizcom, **2006**:79-80.
- Crosby G**. Ask the expert: legumes and resistant starch [monografía en internet]. Boston: Harvard T.H Chan, **2015** [consultado 2018 noviembre 28]. Disponible en: <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/2015/11/16/ask-the-expert-legumes-and-resistant-starch/>.
- Dankar I**, Haddarah A, Fawaz O, Pujolá M. Characterization of food additive-potato starch complexes by FTIR and X-ray diffraction. *Food Chem* **2018**; 260:7-12.
- Deeyai P**, Supphantharika M, Wongsagonsup R, Dangtip S. Characterization of modified tapioca starch in atmospheric argon plasma under diverse humidity by FTIR spectroscopy. *Chin Phys Lett* **2013**; 30:1-4.
- Derycke V**, Vandeputte G, Vermeylen R, De Man W, Goderis B, Koch M Delcour J. Starch gelatinization and amylose–lipid interactions during rice parboiling investigated by temperature resolved wide angle X-ray scattering and differential scanning calorimetry. *J Cereal Sci* **2005**; 42:334-343.
- Díaz L**. *Principios básicos de la química y bioquímica de alimentos*. La Serena: Editorial Universidad de La Serena, **2010**:41.

**Dhital S**, Warren FJ, Butterworth PJ, Ellis PR, Gidley MJ. Mechanisms of starch digestion by  $\alpha$ -amylase—structural basis for kinetic properties. *Food Sci Nutr* **2015**;57: 875-892.

**Du S**, Jian H, Ai Y, Jane J. Physicochemical properties and digestibility of common vean (*Phaseolus vulgaris L.*) starches. *Carbohydr Polym* **2014**; 108: 200-205

**D'Silva T**, Taylor J Naushad M. Enhancement of the pasting properties of teff and maize starches through wet-heat processing with added stearic acid. *J Cereal Sci* **2011**; 53:192:197.

**Kramer ME**. Structure and fuction of starch-based edible films and coatings. En: Embuscado M, Huber K. *Edible films and coatings for food applications*. Londres: Springer Scince, **2009**:113-134.

**Ernö R**. Stearic acid addition to maize starch and its influence on pasting viscosity behavior. Tesis de maestría. Universidad de Petroria, **2002**.

**Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Los carbohidratos en la nutrición humana. Roma. Editorial Roma, **1999**.

**Gelders GG**, Vandersukken TC, Goesaert H, Delcour JA. Amylose-lipid complexation: a new fractionation method. *Carbohydr Polym* **2004**; 56:447-458.

**Gil A**. Tratado de nutricion / Nutrition treatise: Composición y calidad nutritiva de los alimentos. 2da edición. Madrid. Editorial Medica Panamericana, **2010**:101-102.

**Gous P**, Fox G. Review: Amylopectin synthesis and hydrolysis e understanding isoamylase and limit dextrinase and their impact on starch structure on barley (*Hordeum vulgare*) quality. *Trends Food Sci Tech* **2017**; 62:23-32.

**Grajales-García E**. Estudio de la digestibilidad del almidón y capacidad antioxidante de una tortilla elaborada con una mezcla de maíz de alta calidad proteínica (*Zea mays L.*) y frijol negro (*Phaselous vulgaris L.*). Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional **2010**.

**Groenewoud W**. Characterisation of polymers by thermal analysis. Amsterdam: Elsevier Science, **2001**:10-60.

**Han M R**, Chang M J, Kim M H. Changes in physicochemical properties of rice starch processed by ultra-fine pulverization. *J Appl Biol Chem* **2007**; 50: 234-238.

**Higgins** J A. Resistant starch: metabolic effects and potential health benefits. *J of AOAC Int* **2014**; 87:761-768.

**Horvat** M, Emin M, Willenbacher N, Schuchmann H. Influence of medium-chain triglycerides on expansion and rheological properties of extruded corn starch. *Carbohydr Polym* **2013a**; 93:492–498.

**Ilo** S, Schoenlechner R, Berghofe E. Role of lipids in the extrusion cooking processes. *Grasas y aceites* **2000**; 51:97-110.

**Imberty** A, Buléon A, Tran V, Perez S. Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch/Stärke* **1991**; 43:375-384.

**Juhasz** R, Salgó A. Pasting behavior of amylose, amylopectin and their mixtures as determined by RVA curves and first derivatives. *Starch/Stärke* **2008**; 60:70-78.

**Kadam** S, Tiwari B, Donnell C. Improved thermal processing for food texture modification. En: Chen J, Rosenthal A. *Modifying food texture*. Kidlington: Elsevier, **2015**:115-131.

**Kaur** R, Gul K, Singh A K. Nutritional impact of ohmic heating on fruits and vegetables: A review. *Cogent Food Agric* **2016**; 2:1-15.

**Kelley** W. *Textbook of internal medicine*. 2da edición. Philadelphia. Editorial Médica Panamericana, **1992**:432-439.

**Lehmann** U, Robin F. Slowly digestible starch-its structure and health implications: a review. *Trends Food Sci Tech* **2007**; 18:346-355.

**Lindeboom** N, Chang P, Tyler R. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: A review. *Starch/Stärke* **2004**; 56:89-99.

**Liljeberg** H, Akerberg A, Bjorck I. Resistant starch formation in bread as influenced by choice of ingredients or baking conditions. *Food Chem* **1996**; 56:389–394.

**Limón-Valenzuela** V, Aguilar-Palazuelos, Zazueta-Morales J, Martínez-Bustos F. Propiedades microestructurales y de formación de pasta de pellets extrudidos a partir de almidón de maíz enriquecidos con MCP y concentrado protéico de leche. *Rev Mex Ing Quim* **2016**;16: 193-205.

**Liu Q**, Donner E, Tarn R, Singh J, Chung H. Advanced analytical techniques to evaluate the quality of potato and potato starch. En: Singh J, Kaur L. Advances in Potato Chemistry and Technology. Cambridge: Elsevier Inc, **2009**: 221-248.

**Ma M**, Wang Y, Wang M, Jane J, Du S. Physicochemical properties and in vitro digestibility of legume starches. Food Hydrocolloids **2017**: 249-255.

**Manek R**, Builders P, Kolling W, Emeje M, Kunle O. Physicochemical and binder properties of starch obtained from *Cyperus esculentus*. AAPS **2012**; 13: 379-388.

**Marinopoulou A**, Papastergiadis E, Raphaelides N, Kontominas M. Morphological characteristics, oxidative stability and enzymichydrolysis of amylose-fatty acid complexes. Carbohyd Polym **2016**; 141: 106-115.

**Martinez B F**, Lopez S M, San M M E, Zazueta M J J, Velez M J J. Effects of high-energy milling on some functional properties of jicama starch (*Pachyrrhizus erosus* L. Urban) and cassava starch (*Manihot esculenta* Crantz). J Food Eng **2007**; 78:1212-1220.

**Martinez-Bustos F**, López-Soto M, Zazueta-Morales J J, Morales-Sánchez E. Preparación y propiedades de almidones pregelatinizados de yuca (*manihot esculenta* crantz) y jícama (*pachyrrhizus erosus*) usando calentamiento óhmico. Agrociencia **2005**; 39:275-283.

**Melo V**, Cuamatzi O. Bioquímica de los procesos metabólicos. 2a edición. Estado do. de México. Reverté, **2006**: 63-64.

**Mora JF**. Soporte nutricional especial. 3a edición. Bogotá: Editorial Medica Internacional, **2002**: 35.

**Moscicki L**, Mitrus M, Wojtowicz A, Oniszczuk T, Rejak. Extrusion-cooking of starch. Adv Agroph Res **2013**: 321-346.

**Nakamura Y**. Starch: metabolism and structure. Tokio: Springer, **2015**: 65.

**Obiro W**, Sinha-Ray S, Emmambux M. V-amylose structural characteristics, methods of preparation, significance and potential applications. Food Rev Int **2012**; 28: 412-438.

**Okumus BN**, Tacer-Caba Z, Kahraman K, Nilufer-Erdil D. Resistant starch type V formation in brown lentil (*Lens culinaris* Medikus) starch with different lipids/fatty acids. Food Chem **2018**; 240: 550-558.

**Panyoo** E, Emmambux N. Amylose-lipid complex production and potential health benefits: a mini-review. *Starch/Stärke* **2016**; 69: 1-24.

**Patel** H, Day R, Butterworth P J, Ellis P R. A mechanistic approach to studies of the possible digestion of retrograded starch by  $\alpha$ -amylase revealed using a log of slope (LOS) plot. *Carbohydr Polym* **2014**; 113: 182-188.

**Raphaelides** S, Georgiadis N. Effect of fatty acids on the rheological behaviour of maize starch dispersions during heating. *Carbohydr Polym* **2006**; 65: 81-92.

**Raphaelides** S, Arsenoudi K, Exarhopoulos S, Xu Z. Effect of processing history on the functional and structural characteristics of starch–fatty acid extrudates. *Food Res Int* **2010**; 43:329-341.

**Reddy** CK, Choy MS, Lee DJ, Lim ST. Complex formation between starch and stearic acid: effect of enzymatic debranching for starch. *Food Chem* **2018**; 244: 136-142.

**Sacithraa** R, Madhan M, Vijayachitra S. Quantitative analysis of tapioca starch using FT-IR spectroscopy and partial least squares. *Int J Comput Appl* **2013**: 29-34.

**Sajlata** M G, Singhal R S, Kulkarni P R. Resistant starch—A review. *Compr Rev Food Sci F* **2006**; 5:1-17.

**Sandoval-Aldana** A, Rodríguez-Sandoval E, Fernández-Quintero A. Aplicación del análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) para la caracterización de las modificaciones del almidón. *DYNA* **2005**; 71: 45-53.

**Sevenou** O, Hill S, Farhat I, Mitchell J. Organization of external region of the starch granule determined by infrared spectroscopy. *Int J Biol Macromol* **2002**; 31: 79-85.

**Singh** J, Dartois A, Kaur L, 2010. Starch digestibility in food matrix: a review. *Trends Food Sci Tech* **2010**; 21: 168-180.

**Singh** J, Kaur L, McCarthy O J. Factors influencing the physicochemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications: a review. *Food Hydrocolloids* **2007a**; 21:1–22.

**Singh** N, Nakaura Y, Inouchi N, Nishinari K. Fine structure, thermal and viscoelastic properties of starches separated from indica rice cultivars. *Starch/Stärke* **2007b**; 59:10–20.

- Singh-Grujal** H, Sharma P, Kaur H, Singh J. Physiochemical, pasting, and thermal properties of starch isolated from different barley cultivars. *Int J of Food Prop* **2013**; 16:1494-1506.
- Soriano** del Castillo J M. *Nutrición básica humana*. Valencia: Editorial de la Universitat Politècnica de València, **2006**:130.
- Sparla** F, Botticella E, Talame V, Salvi S. New starch phenotypes produced by TILLING in barley. *PLoS ONE* **2014**; 9:1-10.
- Sukhija** S, Singh S, Riar C. Effect of oxidation, cross-linking and dual modification on physicochemical, crystallinity, morphological, pasting and thermal characteristics of elephant foot yam (*Amorphophallus paeoniifolius*) starch. *Food Hydrocolloids* **2016**; 55:56-64.
- Sun** H, Ma X, Zhang S, Zhao D, Liu X. Resistant starch produces antidiabetic effects by enhancing metabolism and ameliorating pancreatic dysfunction in type 2 diabetic rats. *Int J Biol Macromol* **2017**;162:1-38.
- Swinkels** J J M. Composition and properties of commercial native starches. *Starch-Stärke* **1985**; 37:1-36.
- Tester** R F, Debon S J J, Sommerville M D. Annealing of maize starch. *Carbohydr Polym* **2000**;42:287-299.
- Tester** R F, Karkalas J, Qi X. Starch composition, fine structure and architecture (review). *J Cereal Sci* **2004**; 39:151–165.
- Tharanathan** R N, Mahadevamma S. Grain legumes-a boon to human nutrition: review. *Trends Food Sci Tech* **2003**; 14: 507-518.
- Tharanathan** M, Tharanathan RN. Resistant starch in wheat-based products: isolation and characterization. *J Cereal Sci* **2001**; 34:73–84.
- Tovar** J, Melito C. Steam-cooking and dry heating produce resistant starch in legumes. *J Agric Food Chem* **1996**; 44:2642–2645.
- Vaclavik** VA, Christian EW. *Essentials of food science*. 3a edición. San Marcos: Springer, **2007**:58.
- Vandamme** EJ, Baets S, Steinbüchel A. *Biopolymers, Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes*. Weinheim. Wiley-VCH, **2002**;6:38-381.
- Varghese** K S, Pander MC, Radhakrishna K, Bawa AS. Technology, applications and

modelling of ohmic heating: a review. *J Food Sci Technol* **2012**; 51: 2304-2317.

**Vazquez** A, Cyras V, Alvarez VA, Morán JL. Starch/Clay nano-biocomposites. En: Avérous L, Pollet E. Environmental silicate nano-biocomposite. Londres: Springer, **2012**:287-321.

**Wang** S, Copeland L. 2013. Molecular disassembly of starch granules during gelatinization and its effect on starch digestibility: a review. *Food Funct* **2013**; 4:1564-1580.

**Wang** S, Li C, Copeland L, Niu Q, Wang S. Starch retrogradation: a comprehensive review. *Compr Rev Food Sci F* **2015**; 14: 568-585.

**Wang** S, Li C, Zhang X, Copeland L, Wang S. Retrogradation enthalpy does not always reflect the retrogradation behavior of gelatinized starch. *Sci Rep* **2016**; 6:1-10.

**Wang** S, Zhang X, Wang S, Copeland L. Changes of multi-scale structure during mimicked DSC heating reveal the nature of starch gelatinization. *Sci Rep* **2018**; 6:1-9.

**Ye** J, Hu X, Luo S, Liu W, Chen J, Zeng Z, Liu C. Properties of starch after extrusión: a review. *Starch/Stärke* **2018**; 70:11-12.

**Yuan** H, Wang W, Chen D, Zhu X, Cao S. Characterization of resistant starch from Se-rich flour and its anti-diabetic effect in diabetic ICR mice. *Starch/Stärke* **2016**; 68:106-111.

**Yuryev** V, Tomasik P, Ruck H. Starch: From starch containing sources to isolation of starches and their applications. New York: Nova science publishers, Inc., **2004**: 1-16.

**Zeeman** SC, Kossmann J, Smith AM. Starch: Its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annu Rev Plant Biol* **2010**; 61: 209-234.