



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL CENTRO DE LA
REPÚBLICA (PROPAC)**

**EFFECTO DEL TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO DEL ALMIDÓN DE PLÁTANO:
DIGESTIBILIDAD Y CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS**

TESIS

**Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

**Presenta:
JAVIER DARÍO HOYOS LEYVA**

**Dirigido por:
Dr. Luis Arturo Bello Pérez**

C.U QUERÉTARO, QRO., AGOSTO DE 2015



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos
PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL CENTRO DE LA REPÚBLICA (PROPAC)

**EFFECTO DEL TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO DEL ALMIDÓN DE
PLÁTANO: DIGESTIBILIDAD Y CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS**

Opción de Titulación:
Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:
JAVIER DARÍO HOYOS LEYVA

Dirigido por:
Dr. Luis Arturo Bello Pérez

Dr. Luis Arturo Bello Pérez
Presidente

Dra. Minerva Ramos Gómez
Secretario

Dr. Carlos Regalado González
Vocal

Dra. Sandra Mendoza Díaz
Suplente

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca
Suplente

MSP. Sergio Pacheco Hernández
Director de la Facultad de Química

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca
Directora de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Agosto de 2015
México

RESUMEN

Actualmente, la industria de los alimentos busca desarrollar almidones que además de presentar propiedades funcionales, también presenten un efecto benéfico a la salud del consumidor. Los tratamientos hidrotérmicos han sido empleados para minimizar la reducción del ADL y AR cuando el almidón es sometido a cocción. Se evaluó el efecto del tratamiento hidrotérmico (HMT) sobre la digestibilidad y las características fisicoquímicas de almidón nativo de plátano Morado (*Musa sp. Grupo AAA Red cv. Tafetán rojo*). El almidón fue aislado de frutos en estado verde. Se determinaron sus características fisicoquímicas (humedad, pureza del almidón, contenido de amilosa), morfológicas (distribución de tamaño de gránulo, tamaño y forma, cristalinidad). Para la aplicación de los tratamientos se planteó un diseño central compuesto con dos puntos al centro, donde los factores de variación fueron el contenido de humedad (30-40 %) y el tiempo de calentamiento (6.5-10.5 h), temperatura 100 °C; las variables respuesta fueron el contenido de AR y ADL determinados por el método de Englyst. Al mejor tratamiento se le determinaron propiedades fisicoquímicas, estructurales y moleculares, mediante calorimetría, espectroscopia IRTF y DRX. El mejor tratamiento que cumplió con AR cercano al 30 % y un valor máximo para ADL en estado gelatinizado fue 32.2 % de humedad y 6.5 h de calentamiento. Los modelos encontrados tuvieron un R^2 ajustado de 0.87 y 0.90 para ADL y AR, respectivamente. Las propiedades térmicas presentaron un aumento respecto al almidón nativo. T_f aumentó 16.42 °C, T_p 13.95 °C y la T_i 11.5 °C; ΔH incrementó desde 11.4 a 12.6 J·g⁻¹. La espectroscopia IRTF indicó un mayor ordenamiento de corto rango, reflejado en el aumento en las relaciones de intensidad 1047/1022 cm⁻¹ y 995/1022 cm⁻¹. El porcentaje de cristalinidad para almidón nativo fue de 28.9 %, menor que el de almidón HMT, el cual tuvo un valor de 31.5 %. Estos resultados indican que el tratamiento HMT causa un mayor ordenamiento de corto y largo rango en los gránulos de almidón de plátano Morado, afectando su digestibilidad.

Palabras Clave: (Almidón; hidrólisis enzimática; tratamientos hidrotérmicos; plátano).

SUMMARY

Banana starch from “Morado” (purple) showed elongated granules similar to those reported in high-amylose maize starch and higher amylose content than plantain starch. The goal of this study was to evaluate the hypothesis that HMT produces physicochemical changes in Morado banana starch and those changes affect starch fractions digestion. Starch was isolated from unripe Morado banana and starch purity and amylose content were determined. Central composite design (moisture: 30-40 %; heating time: 6.5-10.5 h; temperature: 100 °C) was employed to evaluate the effect of these factors on the yield of slowly digestible starch (SDS) and resistant starch (RS). Response surface methodology (RSM) was used to optimize HMT conditions for starch production containing the maximum SDS and RS content. Englyst’s method analyzed SDS and RS fractions of native and HMT starches previously gelatinized. Gelatinization parameters, FTIR and X-ray diffraction pattern of native and optimal HMT modified starch were determined. The most adapted treatment for technological requirements was 32.2 % moisture content and 6.5 h of heating time at 100°C. These conditions produced starch with 12 % SDS and 30 % RS content, which did not deviate significantly from model prediction (12 % SDS and 29 % RS). ANOVA indicated that the predictive equation explained 87 % of SDS and 90 % of RS variation. HMT treatment increased the onset, peak and end temperatures as well as gelatinisation enthalpy of starch. The melting temperatures (T_o , T_p and T_e) of the starch crystallites are controlled indirectly by the surrounding amorphous region. After HMT, amylose-amylose interactions reduce the mobility of the amorphous region, and treated starches require a higher temperature for swelling and disruption of the crystalline regions. FTIR spectroscopy showed a major short-range order due to the increase of 1047/1022 cm^{-1} and 995/1022 cm^{-1} intensity ratio. Crystallinity percentage was higher in HMT starch (31.5 %) than native starch (28.9 %). This study showed that HMT induced a major order in Morado banana starch that significantly affected its digestibility, increasing SDS and RS content.

Key words: (Starch; enzymatic hydrolysis; hydrothermal treatments; banana).

DEDICATORIA

A Dios

*A toda mi familia, en especial a mis padres y hermanos que siempre han estado
presentes en cada momento de mi vida*

*A Catalina y Eduardo quienes fueron un motor en este viaje, siendo mí apoyo en cada
momento*

A mi sobrin@ quien desde ahora llego a llenar de amor nuestros corazones

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Luis Arturo Bello Pérez**, a quien agradezco su guía y aporte de todo su conocimiento para el desarrollo de este trabajo y un invaluable enriquecimiento profesional.

A cada uno de los **doctores del PROPAC, en especial a los miembros de este comité**, que me aportaron diversos conocimientos durante el tiempo de mis estudios en Querétaro y el desarrollo de este trabajo.

A **mis compañeros de la Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos generación 2013-2015**, que me aportaron experiencias para mi vida profesional y personal.

A los **compañeros del CeProBi-IPN**, con quienes tuve la oportunidad de compartir muchas experiencias que me enriquecieron profesional y humanamente.

Al **personal académico y de apoyo en el departamento de Desarrollo Tecnológico, especialmente de los laboratorios de Control de Calidad y Análisis Instrumental CeProBi-IPN**, por su siempre buena disposición a colaborar en el desarrollo del trabajo.

Al **Consejo de Ciencia y Tecnología de México (CONACyT)** por los apoyos económicos otorgados durante los estudios de Maestría.

A José, Liz y cada uno de los que han estado presentes en este trayecto de mi vida.

Muchas gracias!

ÍNDICE

Resumen	3
Summary	4
I. INTRODUCCIÓN	11
II. ANTECEDENTES	14
2.1 Plátano	14
2.2 Almidón	15
2.2.1 Estructura y composición del almidón	16
2.2.2 Amilosa	17
2.2.3 Amilopectina	18
2.2.4 Gránulos de almidón	18
2.2.5 Clasificación del almidón según su digestión	19
2.2.6 Digestibilidad del almidón	20
2.3 Tratamientos hidrotérmicos	24
2.3.1 Tipo de tratamientos hidrotérmicos	25
2.3.2 Cambios fisicoquímicos	26
2.3.3 Digestibilidad	28
2.4 Almidón a partir de musáceas	30
III. JUSTIFICACIÓN	33
IV. OBJETIVOS	33
4.1 Objetivo general	33
4.2 Objetivos específicos	33
V. METODOLOGÍA	34
5.1 Aislamiento y caracterización del almidón nativo	34
5.1.1 Extracción del almidón	35
5.1.2 Determinación de la humedad	35
5.1.3 Determinación de la pureza del almidón	36
5.1.4 Porcentaje de amilosa	37

5.1.5 Características morfológicas	38
5.1.5.1 Tamaño y forma del gránulo	38
5.1.5.2 Microscopía óptica de luz y luz polarizada	39
5.2 Tratamientos hidrotérmicos	39
5.2.1 Calor-humedad (HMT)	39
5.2.2 Diseño experimental	39
5.3 Digestión <i>in vitro</i> del almidón nativo y HMT	41
5.3.1 Almidón nativo y HMT	41
5.3.2 Cuantificación de las fracciones de digestión	42
5.4 Relación de digestibilidad con características fisicoquímicas y morfológicas pos tratamientos hidrotérmicos	42
5.4.1 Propiedades térmicas	42
5.4.2 Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier	43
5.4.3 Difracción de Rayos X	43
5.5 Análisis estadístico	44
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
6.1 Aislamiento y caracterización del almidón	45
6.1.1 Características fisicoquímicas	45
6.1.1.1 Pureza del almidón	45
6.1.1.2 Porcentaje de amilosa	46
6.1.2 Características morfológicas	47
6.1.2.1 Tamaño y forma del gránulo	47
6.1.2.2 Microscopía óptica de luz y luz polarizada	48
6.2 Características fisicoquímicas y morfológicas de almidón de plátano Morado modificado por HMT	49
6.2.1 Propiedades térmicas	49
6.2.2 Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier	53
6.2.3 Difracción de rayos X	55
6.3 Digestibilidad <i>in vitro</i> de almidón nativo y HMT	57
6.3.1 Modelamiento estadístico de la fracción de almidón de digestión lenta (ADL)	61

6.3.2 Modelamiento estadístico de la fracción de almidón resistente (AR)	63
6.3.3 Superposición de curvas de nivel y funciones de deseabilidad para obtener el tratamiento óptimo	65
VII. CONCLUSIONES	70
VIII. BIBLIOGRAFÍA	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Microscopía electrónica de barrido de almidón nativo de plátano Morado en diferentes aumentos.	48
2	Microscopía óptica de luz (a) y luz polarizada (b) de almidón nativo de plátano Morado.	49
3	Termograma de almidón nativo y modificado (HMT) de plátano Morado.	52
4	Termograma de almidón modificado (HMT) de plátano Morado en ausencia de humedad.	53
5	Espectro infrarrojo con transformada de Fourier (IRTF) deconvulado de almidón nativo y modificado (HMT) de plátano Morado.	55
6	Patrones de difracción de rayos X de almidón nativo (AN) y modificado (HMT) de plátano Morado.	57
7	Superficie de respuesta para la fracción de almidón de digestión lenta (ADL).	64
8	Superficie de respuesta para la fracción de almidón resistente (AR)	65
9	Curvas de nivel superpuestas para las fracciones de almidón de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR)	66
10	Optimización de almidón de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR) mediante funciones de deseabilidad.	67

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Diseño central compuesto con dos factores de variación: porcentaje de humedad (H) y tiempo (t) expresado en horas.	41
2	Caracterización de almidón de plátano Morado.	46
3	Propiedades térmicas de almidón nativo y modificado (HMT) de plátano Morado.	51
4	Propiedades térmicas de almidón modificado (HMT) de plátano Morado en ausencia de humedad.	54
5	Orden molecular de corto rango de almidón nativo y modificado (HMT) de plátano Morado, determinado por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (IRTF).	56
6	Fracciones de digestión de almidón modificado (HMT) tratado bajo diferentes condiciones de humedad y tiempo de calentamiento.	58
7	Fracciones de digestión de almidón modificado (HMT) sometido a diferentes condiciones de humedad y tiempo de calentamiento, previamente gelatinizado.	61
8	Fracciones de digestión de almidón nativo y modificado (HMT) de plátano Morado tratado bajo condiciones óptimas de humedad y tiempo de calentamiento	68

I. INTRODUCCIÓN

El almidón es un carbohidrato ampliamente difundido en la naturaleza, el cual es almacenado en diferentes órganos de plantas. Su uso se ha extendido a diferentes procesos industriales, debido a sus propiedades fisicoquímicas, funcionales y de digestibilidad, siendo la industria de los alimentos la que más ha aprovechado estas características para emplearlo en diferentes productos.

Los alimentos con almidón, como parte de su composición (pan, pasta, tortillas, etc.) o adicionados (aderezos para ensalada, embutidos, productos congelados, etc.), eran considerados con una carga energética alta; sin embargo, hace 20 años se descubrió que, no todo el almidón es digerido y adsorbido en el intestino delgado de las personas, sino que una parte resiste esta digestión, llegando hasta el intestino grueso donde va a ser fermentado por la microbiota, esto es lo que se denominó como almidón resistente (AR). El AR presenta bajo contenido calórico y los productos de su fermentación (principalmente el ácido butírico) están asociados con efectos benéficos a la salud de los consumidores. También, se encontró que el almidón que es digerido se hidroliza a diferente velocidad, uno es rápidamente digerido y se llamó almidón de digestión rápida (ADR), otro es lentamente digerido y se denominó almidón de digestión lenta (ADL) (Englyst et al., 1992). Tanto el AR como el ADL tienen efectos benéficos a la salud de las personas que lo consumen (Lehmann y Robin, 2007).

El plátano es una de las frutas de mayor producción en el mundo y se ha encontrado que en estado verde o inmaduro tiene gran cantidad de almidón (alrededor de 70% del peso seco de la pulpa) y una fracción importante de este almidón tiene la característica de ser resistente, siendo de interés como materia prima. Sin embargo, durante la cocción, el almidón se gelatiniza, disminuyendo apreciablemente la

resistencia a la hidrólisis por las enzimas digestivas y por lo tanto, su característica nutracéutica (Zhang y Hamaker, 2012).

Los tratamientos hidrotérmicos, con los cuales se modifica la estructura del almidón, pueden ocasionar que la disminución del ADL y AR sea menos drástica cuando el alimento se somete a calentamiento (cocción), lo cual es de interés para la obtención de ingredientes nutracéuticos que se puedan adicionar a productos saludables para los consumidores.

II. ANTECEDENTES

2.1 Plátano

El plátano y banano son plantas Monocotiledóneas, pertenecientes a la familia botánica Musáceae, dentro de la cual el género *Musa* comprende una gran variedad de especies que producen un fruto o baya partenocárpica (se forma sin necesidad de que las flores femeninas sean polinizadas), de forma oblonga, alargada y algo curvada, diferenciándose en parte por su tamaño y peso, ya que generalmente los frutos de plátanos son de mayor tamaño y peso (200 g en promedio) que los frutos de banano (120 g en promedio). Otra de las características que diferencia estos frutos es el color, el cual también está dado por la variedad y por el grado de maduración, ya que el color de la piel o cáscara puede ser de color amarillo verdoso, amarillo, amarillo-rojizo o rojo. El plátano y banano son frutos climatéricos, por lo que se cosechan en estado verde.

La diferenciación genética de plátanos y bananos viene de los cultivares que dieron origen a las variedades cultivadas por poliploidía e hibridación, *Musa acuminata* y *Musa balbisiana*, las cuales son representadas en las composiciones ploídica y genómica de los diferentes clones por las letras A y B, respectivamente. Estos clones se clasifican en grupos por la contribución genotípica y el grado de ploidía con que está constituido el clon o cultivar, así el principal grupo difundido a nivel comercial es el triploide de *M. acuminata* (AAA), dentro del cual se encuentran los bananos Cavendish, seguido por el grupo AAB correspondiente a algunos plátanos. En orden de importancia económica existen grupos triploides (AAA, AAB y ABB), diploides (AA y AB), y tetraploides (AAAA, AAAB y AABB). Las principales variedades o clones son triploides, altamente estériles, partenocárpicos y propagados asexualmente (Lescot, 2008).

En los últimos años, se han realizado diversas investigaciones acerca de las formas de consumo de plátano y banano a nivel mundial, de las cuales ha surgido una clasificación según dicho criterio, encontrando dos formas de consumo predominantes, como postre o para cocción. De esto surgen los grupos de bananos de postre, plátanos de postre, híbridos de postre, bananos de cocción y plátanos de cocción. Estas diferencias en la forma de consumo fueron explicadas por Dufour y colaboradores (2008), quienes encontraron una relación entre el contenido de materia seca y el consumo, ya que los bananos de postre presentaron valores alrededor del 27% inferior a los clones que se consumen cocinados. Otra de las características importantes, relacionadas a la forma de consumo, es el contenido de almidón y la influencia del gen balbisiana (AAB y ABB) en la cantidad de este carbohidrato en el fruto, ya que se ha especificado que los clones con este gen tienen mayor contenido de almidón que los del grupo AAA.

2.2 Almidón

El almidón es el segundo carbohidrato más abundante en la naturaleza, solamente superado por la celulosa. Se puede encontrar en hojas verdes, tallos, semillas o frutos (Zeeman, 2010). Las características físicas, químicas, funcionales y nutricionales del almidón lo diferencian del resto de los carbohidratos. Se considera la reserva energética predominante en plantas y provee del 70 al 80% de las calorías consumidas por los humanos a nivel mundial; además, se considera entre los carbohidratos más digeribles (Whistler y BeMiller, 1997). Además de usar el almidón como fuente de energía, el hombre le ha encontrado diversas aplicaciones (Taggart, 2004). Este carbohidrato se considera como una excelente materia prima para modificar la textura y consistencia de los alimentos (Biliaderis, 1991). Su funcionalidad depende del peso molecular promedio de la amilosa y la amilopectina, así como de la organización molecular de estos glucanos dentro del gránulo.

2.2.1 Estructura y composición del almidón

El almidón está compuesto por dos polímeros distintos, ambos de glucosa, la amilosa y la amilopectina. El almidón presenta en su conjunto una estructura cristalina. Bajo luz polarizada presenta el esquema típico de "cruz de malta", que indica un ordenamiento de los componentes del almidón dentro del gránulo. La amilopectina presenta zonas amorfas y cristalinas, por lo que esta molécula es responsable de la cristalinidad del almidón, debido a que en ella se forman puentes de hidrógeno entre las ramificaciones, dando lugar a una estructura muy estable. Se puede decir que la amilopectina es la parte insoluble, mientras que la amilosa es la parte soluble. La amilopectina constituye alrededor del 70-75 % de los almidones más comunes. Algunos almidones están constituidos exclusivamente por amilopectina y son conocidos como céreos o "waxy".

En general, las variedades céreas gelatinizan a temperaturas más bajas y las ricas en amilosa a temperaturas más altas. Esto se debe a que las moléculas de amilosa, lineales, forman más puentes de hidrógeno entre ellas, formando una estructura de doble hélice. Mayor cantidad de puentes de hidrógeno requieren más energía para romperlos y solubilizar las moléculas (Buleon, 1988).

La cantidad de amilosa y amilopectina tiene influencia en las propiedades funcionales de los almidones, por lo que la proporción de ambos componentes del almidón debe de tomarse en cuenta al desarrollar un producto. La amilosa se caracteriza porque favorece la retrogradación o reorganización de las pastas de almidón durante el enfriamiento, ocasionando el fenómeno de sinéresis, mientras que la amilopectina presenta pastas con mayor viscosidad que no se retrogradan fácilmente al enfriarse (Hoover, 2002).

2.2.2 Amilosa

La amilosa es un polímero lineal de 200 a 2500 unidades de glucosa unidas mediante enlaces α -1,4 y pesos moleculares hasta de un millón de Da; es un α -D-1,4-glucano, cuya unidad repetitiva es la α -maltosa (Badui, 1996); sin embargo, se ha demostrado la presencia de cierta cantidad de enlaces α -1,6 en esta macromolécula (Curá et al., 1995). Dichas ramificaciones se encuentran de manera espaciada e infrecuente, lo que permite observar que la amilosa se comporta como un polímero lineal (Lineback y Rasper, 1988). El modelo simplificado de la estructura de la amilosa es típicamente ilustrada como una estructura de cadena lineal; por motivos de simplicidad, la amilosa es a menudo helicoidal. El interior de la hélice contiene los átomos de hidrógeno y debido a esto es susceptible a formar complejos con moléculas hidrófobas como el yodo, ácidos grasos o hidrocarburos; en este tipo de complejos los grupos hidrofílicos de la cadena están orientados hacia el exterior y los hidrófobos hacia el interior de la cavidad (Guilbot y Mercier, 1985).

En una suspensión acuosa calentada a una temperatura superior de la temperatura de gelatinización del almidón, la amilosa se asocia rápidamente para formar un precipitado insoluble. Las moléculas lineales presentan una cierta tendencia a orientarse paralelamente, asociándose mediante puentes de hidrógeno. Esta asociación forma una doble hélice y produce una estructura cristalina, resultando en una red tridimensional en la que cada vuelta de hélice consta de seis moléculas de glucosa; la afinidad por el agua decrece, aumentando el tamaño del agregado. La amilosa lixiviada a partir del gránulo forma una malla tridimensional y produce un gel (Lenninger et al., 1985).

2.2.3 Amilopectina

La amilopectina es un polímero ramificado formado por cadenas de residuos α -D-glucopiranosidos unidos por enlaces α -1,4 en las partes lineales y con 5-6 % de enlaces α -1,6 en los puntos de ramificación. Las cadenas poliméricas se clasifican como cadenas A (insustituibles) y cadenas B (sustituibles por otras cadenas) (Marchal et al., 2001). En general, la molécula de amilopectina es de 1.0 a 1.5 nm de diámetro y de 12 a 40 nm de longitud (Bello et al., 2002).

Se considera que las cadenas de amilopectina presentan un acomodo radial desde el centro hacia el exterior, las cuales asociadas a la amilosa, dan lugar a las zonas cristalinas y amorfas del gránulo de almidón (Bello et al., 2002). Los gránulos formados por estos polímeros asumen determinada forma y tamaño, así como una relación de amilosa/amilopectina, característicos de cada fuente vegetal. La cristalinidad de los gránulos de almidón se atribuye a las cadenas lineales de la amilopectina.

2.2.4 Gránulos de almidón

El almidón se encuentra organizado en partículas discretas conocidos como gránulos, que pueden verse al microscopio y diferenciarse por su apariencia entre las especies. Estos gránulos tienen un tamaño entre 2 y 100 μ m, dependiendo de la fuente botánica, aunque en una misma fuente aparece una cierta heterogeneidad de tamaño. La forma puede ser circular, elíptica, ovalada, lenticular o poligonal (Jane et al., 1994). La forma y el tamaño de los diferentes gránulos de almidón pueden afectar el comportamiento físico-químico, reológico, textural y morfológico de los productos donde se adiciona como ingrediente (Lindeboom et al., 2004).

En los gránulos de almidón, que no tienen envoltura, las moléculas de amilosa y de amilopectina se disponen en forma radial, formando una serie de capas

concéntricas. En estas capas existen zonas cristalinas, en las que las cadenas están asociadas en forma de hélices

2.2.5 Clasificación del almidón según su digestión

El almidón, según su digestibilidad, se clasifica como de digestión rápida (ADR), de digestión lenta (ADL) y resistente (AR). El AR es la fracción del almidón y los productos de su hidrólisis que escapan a la digestión en el intestino delgado de individuos sanos. Las enzimas digestivas no lo hidrolizan debido a la dificultad del acercamiento enzima sustrato o al arreglo de las regiones cristalinas en el almidón nativo y arreglos formados durante la retrogradación. El AR sigue su tránsito en el sistema digestivo, llegando al colon, donde es fermentado por la microbiota produciendo ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Los AGCC se han asociado con efectos benéficos a la salud de los consumidores, como disminución del colesterol y prevención del cáncer de colon. El AR se considera el tercer tipo de fibra dietética, ya que pueden ofrecer algunos de los beneficios de la fibra insoluble y algunos de los beneficios de la fibra soluble (Englyst et al., 1992). La fibra dietética en definición incluye polisacáridos no almidonados, almidón resistente, oligosacáridos de cadena corta y azúcares alcoholes (ej. sorbitol) (Cummins et al., 2009).

El AR se considera como una fibra no viscosa, la cual puede ser fermentable. Se han identificado cinco tipos de AR, diferenciados por la fuente botánica y el proceso al que es sometido. El primero de ellos se conoce como AR1, el cual se define como gránulos de almidón incrustados en material vegetal no comestible, físicamente inaccesibles, observado generalmente en las semillas, leguminosas o cereales integrales sin procesar; AR2, son gránulos de almidón nativo, el cual se encuentra comúnmente en papa cruda, maíz y trigo, harina de plátano verde, entre otras fuentes; AR3 es el almidón retrogradado, que es la reorganización interna del gránulo de almidón cuando este es cocinado y enfriado, como en las leguminosas, pan, cereales y papas; AR4 que es un almidón químicamente modificado por

procesos como esterificación, transglucosilación, entre otros, y puede tener una gran variedad de estructuras; AR5 es un complejo entre cadenas de amilosa y lípidos formado en almidones con altos contenido de amilosa, es un complejo térmicamente estable y que no puede ser hidrolizado por las enzimas digestivas (Cummings y Stephen, 2007).

En 1995, Goñi resaltó los beneficios del almidón resistente en la salud como la disminución del contenido energético en la dieta, descenso ligero de la saciedad, no modificación de los hábitos intestinales, disminución de triglicéridos y colesterol y su papel preventivo del cáncer de colon.

2.2.6 Digestibilidad del almidón

Algunos hidratos de carbono, tales como los azúcares y algunas fracciones de almidón, son digeridos y absorbidos rápidamente como glucosa en el cuerpo a través del intestino delgado y posteriormente, utilizados para necesidades energéticas a corto plazo o son destinados al almacenamiento. El rápido incremento de glucosa en la sangre, causado por la ingesta de ADR, aumenta los factores de riesgo de obesidad, hiperlipidemia, enfermedades cardiovasculares y diabetes. A diferencia de éste, el ADL es digerido en el intestino delgado a menor velocidad, liberando glucosa a lo largo de este conducto, induciendo menores niveles de glucosa en sangre. El AR, en cambio, se resiste a la digestión y pasa a través del intestino grueso, similar a la fibra dietética. Se ha determinado que la variación en la proporción de amilosa y amilopectina en los gránulos de almidón tiene influencia sobre las propiedades metabólicas y fisicoquímicas como la solubilidad, estabilidad del gel y digestibilidad *in vitro* (Zhou et al., 2002).

La digestión de los gránulos de almidón es un proceso complejo, comprendido por diferentes fases: la difusión de la enzima hacia el sustrato, donde la porosidad de este último es un factor importante; la adsorción de la enzima al material amiláceo y los eventos hidrolíticos (Colonna et al., 1992). Esta digestión también está

relacionada con el tamaño de los gránulos de almidón y su área superficial (Colonna et al., 1992); gránulos como el del almidón de papa, con un área superficial grande y una superficie lisa, sumado a sus propiedades supramoleculares específicas, explican su resistencia a la digestión enzimática. La relación amilosa/amilopectina también tiene un papel importante en esta digestibilidad, ya que la presencia de enlaces α -1,6 disminuye la hidrólisis enzimática (Park y Rollings, 1994). El arreglo cristalino de tipo A y/o B tiene una gran influencia sobre la digestibilidad, ya que estos tipos de cristales difieren entre los arreglos de las doble hélice de las cadenas lineales de la amilopectina y el contenido de agua. El arreglo tipo A es más susceptible a la digestibilidad debido a que tienen mayor contenido de ADR y ADL, comparados con los de tipo B, los cuales contienen mayor contenido de AR (Jane et al., 1997). Marsden y Grey (1985), reportaron que la hidrólisis con la α -amilasa ocurre predominantemente en la región amorfa del gránulo. Cuando el almidón es gelatinizado, se desarregla la red cristalina (Mangala et al., 1999), lo que facilita la acción enzimática (Perera et al., 2001).

Zhang y colaboradores (2008), investigaron la relación entre las propiedades de digestión y la estructura molecular de almidón de diferentes variedades de maíz cocido. Los resultados con digestión *in vitro* mostraron un rango de digestión para ADR entre 70.1 y 98.9 %, para ADL entre 0.2 y 20.3 %, así como para el almidón resistente AR entre 0 y 13.7 % en muestras de harina de maíz. El ADR fue el que se encontró en mayor proporción en todas las muestras analizadas y es consistente con el proceso de cocción, que aumenta la pérdida de ADL (Zhang et al., 2006). Las variedades de maíz presentaron variación en el contenido de ADL y AR, lo que indica que la modificación genética tiene un alto potencial para cambiar la calidad nutricional de materiales ricos en almidón. La manera más efectiva de aumentar el contenido de ADL puede ser reduciendo sustancialmente el contenido de ADR y no el AR. Estos autores también encontraron una correlación significativa ($R=0.76$) entre el contenido de AR y el de amilosa, lo que sugiere que este componente del almidón es la principal molécula relacionada con el AR. De igual forma, en esta investigación reportaron una relación parabólica entre ADL y la proporción en peso

de cadenas corta (CC) y cadena larga (CL) de amilopectina, sugiriendo que las muestras con amilopectina que tengan una alta proporción de cadenas cortas o una alta proporción de largas cadenas, tienen un alto contenido de ADL; así dividieron las muestras en dos grupos: grupo I con una proporción CC/CL entre 0.166 y 0.525 y el grupo II con altos valores de CC/CL (0.52 y 0.78). En base al análisis de correlaciones entre el contenido de ADL y las proporciones CC/CL de los dos grupos, se encontró que el contenido de ADL está principalmente determinado por las cadenas largas de la amilopectina. También se encontró una relación entre el contenido de AR y el de cadenas de amilosa en el grupo I de las muestras, esto es debido a la alta cantidad de amilosa comparada con la de amilopectina cuando se tiene valor de la relación CC/CL bajo. La digestión de la fracción de ADL se realizó entre 20 y 120 min, para dos muestras representativas de los grupos I y II con altos contenidos de ADL, observándose variabilidad en los picos de los productos resultantes de la despolimerización (DP) durante la digestión, los picos con una área de la fracción con una $DP < 34$ fue 39 % del área total, indicando una sustancial proporción de moléculas pequeñas en el material desramificado.

En otra investigación realizada por Zhang y colaboradores (2008a), reportaron el mecanismo de la baja digestión del almidón de maíz gelatinizado, basados en los resultados encontrados en la investigación anteriormente presentada (Zhang y col., 2008). La recristalización de la amilosa ocurre rápidamente y es conocida como retrogradación a corto plazo; mientras que, las moléculas de amilopectina requieren de mayor tiempo para asociarse, en un proceso conocido como retrogradación a largo plazo. Esta retrogradación de la amilopectina está relacionada con su estructura fina (Shi y Seib, 1992, 1995) y es térmicamente reversible en una temperatura menor de 100 °C (Miles et al., 1985). La retrogradación del almidón, particularmente de la amilopectina, es un proceso dinámico conducido por fuerzas termodinámicas hasta llegar al equilibrio. Durante la retrogradación de almidones con mayor cantidad de cadenas largas (ACL), el contenido de AR aumenta mientras que el de ADR se estabiliza después de un periodo de 40 horas. Contrariamente, en almidones con mayor cantidad de cadenas cortas (ACC), los cambios en los

contenidos de ADL, ADR y AR no son significativos durante un periodo de retrogradación aproximado a 7 días. Como se mencionó, la base de la baja digestión de ACC es una propiedad relacionada con la estructura fina de la amilopectina y ramificaciones de cadena corta. En difracción de rayos X, el patrón presentado es un rápido aumento de la cristalinidad en las primeras etapas de la retrogradación y se vuelve constante a los 7 días. Consistentemente, la entalpía en la retrogradación del almidón también incrementó a 3 días de almacenamiento y permaneció constante a los 7 días. Acerca de esto, los autores sugirieron que la retrogradación de la amilopectina en ACL está asociada con la propiedad de baja digestión y que la estructura fina de la amilopectina en ACC es responsable de sus propiedades de baja digestión. Un análisis por CDB de las muestras ACL, mostró una amplia fusión endotérmica, aproximadamente de 40 a 95 °C, sugiriendo estructuras de doble hélice con diferentes DP de las cadenas lineales; un estado físico intermedio durante la retrogradación con cierto ordenamiento de la estructura cristalina puede ser el mecanismo para las propiedades de baja digestión. Así, la propiedad de baja digestión de ACL es dependiente del estado físico de la asociación de la amilopectina durante la retrogradación, y puede ser definida como una entidad física específica de la relación dinámica entre la propiedad de la baja digestión y la retrogradación de la amilopectina, con las primeras etapas de retrogradación favoreciendo la formación de ADL y etapas tardías favoreciendo la formación de AR. En los grupos identificados con la relación CC/CL (Grupo I: bajo CC/CL y grupo II: alto CC/CL) no se identificó una asociación entre la retrogradación y el contenido de ADL en el grupo II, lo que los llevó a concluir que en ACC la propiedad de baja digestión en este grupo es inherente a la estructura fina de la amilopectina; en cuanto al grupo I, estos autores indicaron que la retrogradación del almidón es la base para la aparición de un estado transitorio con alta formación de ADL, y la estructura de la amilopectina es la base fundamental del estado transitorio formado a través de la retrogradación. Finalmente los autores reportaron que la retrogradación de la amilopectina aparentemente contribuye a la formación de AR, como se vieron en sus perfiles de desramificación después de digestión durante 120 min.

Lee y colaboradores (2013) reportaron que el grado de hidrólisis con alfa amilasa pancreática de cerdo es mayor en almidón gelatinizado que en ADL y éste a su vez mayor que AR. Además, indicaron que el almidón con menor grado de digestión es el nativo; este comportamiento lo atribuyen posiblemente al incremento de la cristalinidad por el tratamiento enzimático. Otros autores (Yadav et al., 2007) han reportado que en sistemas *in vitro* e *in vivo*, el almidón nativo tiene menor degradación por la enzimas, a diferencia del almidón gelatinizado, en donde la ruptura y desintegración de la estructura compacta cristalina del grano, aumenta su susceptibilidad a la enzima.

Zhang y colaboradores (2013) realizaron un estudio sobre las diferencias en la susceptibilidad a la acción enzimática de almidón granular y en solución; esta condición de solución da lugar a la gelatinización, donde se presentan residuos granulares denominados “Ghost”, bajo condiciones de gelatinización con baja agitación mecánica o cizallamiento. Estos residuos se pierden bajo condiciones de cizallamiento, ya que esta agitación conduce a su rompimiento, produciéndose moléculas de polímero disueltas o fracciones más pequeñas. Estos autores encontraron que la tasa de digestión de los gránulos de almidón (“Ghost”) es menor que la del almidón cocido, de lo que partieron para proponer que este tipo de gránulos involucra moléculas de amilosa o cadenas largas de amilopectina; además los autores proponen que este fenómeno es debido a los factores estructurales, partículas intactas de muy baja dimensión, donde su tamaño y robustez pueden ser determinados por la velocidad de hinchamiento durante el proceso de gelatinización, en lo que puede influir la presencia de componentes no amiláceos en la superficie del gránulo. Sin embargo, la estructura de estos gránulos aún continúa en investigación.

2.3 Tratamientos hidrotérmicos

Los almidones nativos son aquellos almidones que no han sufrido ningún proceso de modificación durante su obtención; se utilizan porque regulan y estabilizan la textura por sus propiedades espesantes y gelificantes (Cousidine, 1982). Sin embargo, la estructura nativa del almidón puede ser menos eficiente a las condiciones de procesos (temperatura, pH y presión), por lo que reducen su uso en aplicaciones industriales. En general, los almidones nativos presentan baja resistencia a esfuerzos de corte, no son estables a altas temperaturas, presentan alto nivel de retrogradación y sinéresis. Las limitaciones anteriores se pueden superar modificando la estructura nativa del almidón por métodos químicos, físicos (tratamientos hidrotérmicos) y enzimáticos (Fleche, 1985), dando como resultado un almidón modificado. Tanto los almidones nativos como los almidones modificados tienen un número importante de posibles aplicaciones en los alimentos, que incluyen las siguientes: adhesivo, ligante, enturbiantes, formador de películas, estabilizante de espumas, agente antienviejamiento de pan, gelificante, glaseante, humectante, estabilizante, texturizante y espesante.

En general, el almidón es consumido después de ser procesado, donde sus propiedades fisicoquímicas y las características nutricionales se ven afectadas por condiciones como temperatura, tiempo de calentamiento, humedad y número de ciclos de calentamiento-enfriamiento (Sagum et al., 2000). Con el fin de mejorar las propiedades fisicoquímicas del almidón, los tratamientos hidrotérmicos pueden realizarse en almidón nativo o gelatinizado, donde se produce un hinchamiento sin perder su estructura granular, conservando la birefringencia del gránulo.

Jacobs y Delcour (1998) describen los tratamientos hidrotérmicos como modificaciones físicas que ocurren a una temperatura superior a la de transición vítrea, pero sin sobrepasar la temperatura de gelatinización de los gránulos de almidón; dichas modificaciones solo pueden tener lugar cuando los polímeros de almidón en la fase amorfa están en un estado gelatinoso móvil.

2.3.1 Tipo de tratamientos hidrotérmicos

Los tratamientos hidrotérmicos más empleados son el anillamiento o “annealing” y tratamientos de calor con humedad “HMT” (por sus nombre en inglés “Heat-Moisture treatment”). El primero implica una incubación de los gránulos de almidón en exceso o contenido medio de agua (40-55 %); a diferencia de éste, el tratamiento calor humedad (HMT) se realiza con menor proporción de agua (10-35 %) y calentamiento a temperaturas entre 90 y 120 °C, por un periodo de tiempo que puede variar entre 15 min a 16 h (Chung et al., 2009). El ADL y AR son formados durante estos procesos y están asociados con fenómenos de reorganización de la estructura del almidón (Ozturk et al., 2009).

El tratamiento HMT, gracias a la limitada cantidad de agua, permite el control de la movilidad molecular a altas temperaturas. Se han reportado que los cambios inducidos por este tratamiento en la estructura y las propiedades fisicoquímicas del almidón pueden variar según la fuente botánica de la cual se aisló el almidón o por su contenido de amilosa; así, se ha encontrado que los almidones de tubérculos son más sensibles al HMT que los almidones de leguminosas o cereales (Zavareze y Guerra, 2011).

2.3.2 Cambios fisicoquímicos

Los cambios fisicoquímicos, moleculares y estructurales en el almidón, causados por la aplicación de tratamientos hidrotérmicos, incluyen aspectos como cambios en la cristalinidad del gránulo, contenido de las dobles hélices, la cantidad y el aspecto de los complejos formados entre cadenas de amilosa y lípidos, gelatinización y empastamiento, poder de hinchamiento y solubilidad, las propiedades del gel, y la susceptibilidad a la hidrólisis ácida y enzimática. (Jacobs y Delcour, 1998)

El tratamiento HMT se ha investigado en almidón de diferentes fuentes botánicas, dichas investigaciones no han mostrado cambios externos en la morfología del

gránulo, es decir, no cambia el tamaño, la forma ni las características superficiales del gránulo de almidón (Jacobs y Delcour, 1998); sin embargo, Jiranuntakul y colaboradores (2011) observaron una gelatinización parcial en la superficie de los gránulos de almidón de arroz; de igual forma, Kawabata y colaboradores (1994) reportaron la formación de grietas en la superficie del gránulo de almidón de maíz y de papa, los cuales presentaron orificios dentro del gránulo.

Un efecto característico del HMT es la evolución de los patrones de cristalinidad de B a cristalinidad de tipo A o C, en almidones de papa y ñame. El almidón de papa no presentó dichos cambios en todas las condiciones de temperatura y humedad. Los cambios inducidos por HMT en el patrón de difracción de almidones pueden atribuirse a la deshidratación, o por el movimiento de un par de doble hélices en el canal central, este movimiento durante HMT podría alterar algunos cristales de almidón o cambiar la orientación cristalina (Gunaratne y Hoover, 2002). En almidones de otras fuentes botánicas diferentes a las anteriores, no se han reportado cambios en el patrón de difracción de rayos X (Zavareze y Dias, 2011).

HMT causa una reducción en el poder de hinchamiento y la solubilidad del almidón, estos cambios se han atribuido al incremento en la cristalinidad, reducción de la hidratación, incremento en la interacción entre las moléculas de amilosa y amilopectina, fortalecimiento de uniones intramoleculares, formación de complejos entre lípidos y las cadenas de amilosa, y cambios en el arreglo de las regiones cristalinas del gránulo.

Las propiedades de empastamiento también presentan cambios, debido a la asociación entre las cadenas de las regiones amorfas del gránulo, así como a los cambios en la cristalinidad durante el tratamiento hidrotérmico. Como las interacciones intramoleculares se fortalecen gracias al HMT, el almidón requiere de mayor aplicación de calor para su desintegración estructural y la formación de la pasta (Olayinka et al., 2008); este fortalecimiento también tiene efecto sobre una reducción de la lixiviación de amilosa, la cual es más notable en almidones con

mayor contenido de esta fracción del polisacárido, ya que se promueven interacciones adicionales de amilosa-amilosa y amilopectina-amilopectina, lo que causa la reducción en la lixiviación y una disminución en la retrogradación (Chung et al., 2009). Otro aspecto que se ve influenciado por el fortalecimiento de estas interacciones es la firmeza del gel y la adhesividad, permitiendo la formación de más uniones en la fase continua del gel, el cual tiene un comportamiento estable al cizallamiento (Collado y Croke, 1999).

Las propiedades térmicas de los almidones modificados con tratamientos hidrotérmicos también se ven alteradas, notándose principalmente un aumento en el valor de las temperaturas de inicio de gelatinización, temperatura de pico y temperatura final; el incremento en su valor depende de las condiciones de temperatura y humedad aplicadas durante el tratamiento. Algunos autores han atribuido estas variaciones a los cambios estructurales de los gránulos de almidón, siendo de mayor impacto las interacciones amilosa-amilosa y amilosa-lípidos, las que causan estos incrementos en las temperaturas de gelatinización, ya que reducen la movilidad de las regiones amorfas, implicando un mayor requerimiento de calor con el fin de alterar la región cristalina e inducir al hinchamiento del gránulo (Adebowale et al., 2009). En cuanto a la entalpía de gelatinización, en la mayoría de los casos, el HMT ha causado una reducción en su valor, la cual se ha relacionado con la alteración de las dobles hélices (cadenas lineales de la amilopectina) presentes en las regiones cristalinas y no cristalinas de los gránulos (en el caso de la amilosa) (Gunaratne y Hoover, 2002).

2.3.3 Digestibilidad

Se han estudiado los cambios en la digestibilidad de almidón tratado bajo condiciones hidrotérmicas, donde se han reportado diferentes niveles de variación en cuanto a los valores de las fracciones de ADR y ADL, así como de AR. Estas variaciones dependen de las condiciones de temperatura y humedad del tratamiento (Shin et al., 2005)

Shin y colaboradores (2005) reportaron la digestibilidad de almidón de camote sometido bajo diferentes condiciones de temperatura humedad en HMT. El almidón sometido a tratamiento a 100 °C y 20 % de humedad presentó mayor incremento de AR, este incremento lo atribuyeron a la parcial retrogradación (o asociación) de cadenas de amilosa dentro de regiones amorfas, produciéndose una baja accesibilidad enzimática.

Chung y colaboradores (2009) realizaron diferentes tratamientos hidrotérmicos a almidón de maíz, chícharo y lenteja. Estos autores encontraron que el annealing y el HMT incrementan los niveles de ADR y AR, pero disminuyen el valor de ADL, siendo mejores los valores encontrados para HMT que para el almidón tratado con annealing. También, los investigadores reportaron que estos tratamientos incrementaban los valores de ADL y AR en almidón gelatinizado, siendo más pronunciados en HMT. Estos incrementos en ADL y AR sugieren que algunas interacciones formadas durante el tratamiento hidrotérmico pueden continuar estables después de la gelatinización y causar una restricción parcial al acceso enzimático a las cadenas que forman el gránulo.

Jiranuntakul y colaboradores (2011) reportaron incrementos significativos de ADR y ADL gracias al tratamiento hidrotérmico, pero una disminución en la cantidad de AR. Estos autores estudiaron almidones normales y waxy encontrando que los cambios en la digestibilidad son más pronunciados en almidones normales que en los waxy.

En el caso de harina de plátano verde sometida a tratamientos térmicos, se encontró un incremento en las fracciones ADL y AR, y una disminución del contenido de ADR. Estos resultados fueron comparados con almidones provenientes de diferentes especies vegetales con tratamiento hidrotérmicos semejantes que fueron reportados por Chung y colaboradores (2009), quienes explicaron estos cambios se producen por las interacciones amilosa-amilosa y amilosa-amilopectina ocasionadas por las condiciones hidrotérmicas, donde estas interacciones resisten

la gelatinización y tienen un efecto de disminución de la accesibilidad de las enzimas hidrolíticas a los enlaces entre las unidades de glucosa. De igual forma estos autores también reportaron que un periodo de almacenamiento posterior al tratamiento hidrotérmico causa un aumento considerable de estas dos fracciones (Rodríguez-Damian et al., 2013). Lo anterior concuerda con lo expuesto por Bello-Pérez en 2005, quien concluyó que la retrogradación ocasionada por la baja de temperatura incrementa el contenido de almidón resistente.

En la actualidad no se presentan reportes de tratamientos hidrotérmicos en almidón aislado de plátano, ni de sus efectos sobre la digestibilidad.

2.4 Almidón a partir de musáceas

En la actualidad, se le ha prestado mucha atención a los almidones de las musáceas, especialmente del plátano verde, ya que son parcialmente resistentes a la hidrólisis por parte de amilasas digestivas. Se estima que el 84 % del almidón ingerido es capaz de alcanzar el íleon terminal. Algunos autores han reportado fracciones altas de almidón resistente (en un rango de 79 a 95 %) respecto a un 48% de almidón total de la materia seca o del 12.7 % del peso fresco (Englyst y Cummings, 1986; Faisant et al., 1995; Zhang et al., 2005). La pulpa fresca del fruto verde de plátano contiene aproximadamente 62.4 % de agua, 23.3 % de almidón y 2.1 % de glucosa; sin embargo, el contenido de almidón en la pulpa expresado como porcentaje de rendimiento, puede oscilar entre 10 y 80 % de acuerdo a la variedad estudiada, al grado de maduración de la fruta y al método de extracción. En concordancia con lo anterior, algunos autores atribuyen que la pulpa de los plátanos (AAB y ABB) contiene más almidón y ácidos orgánicos que los bananos (AAA), siendo el genoma B el que da al fruto esta característica (Pérez y Marin, 2009).

Los bananos y plátanos son cosechados en el estado de madurez fisiológico verde y durante la maduración disminuyen el almidón, aumenta la fructosa, glucosa y

sacarosa, en la pulpa del fruto. Después de cosechado el fruto y hasta alcanzar su estado de maduración de consumo, se reduce la concentración de almidón, pero se conserva una cantidad considerable de este en la senescencia. Simultáneamente ocurre la síntesis de azúcares, los cuales se incrementan hacia el final del climaterio, indicando cambios acentuados en la actividad respiratoria del fruto; esta transformación altera el sabor, la textura y consistencia del fruto, haciéndolo más dulce y con mayor aceptabilidad. En el plátano estos cambios durante la maduración ocurren a una tasa menor que la que se presenta en banano.

En el plátano Dominico-Hartón, la pulpa contiene mayores cantidades de almidón que la cáscara (alrededor de 3 % de peso fresco). Los frutos presentan porcentajes de almidón tanto en estado verde como amarillo (etapas del color de la cáscara, ver carta de color en Aurore y colaboradores, 2009), observándose una disminución gradual del contenido de almidón a medida que el fruto madura (Offen,1993). A pesar de que ambos órganos muestran cambios similares en los carbohidratos durante la maduración, la degradación del almidón es mayor en la pulpa que en la cáscara. Este porcentaje de almidón tanto en la pulpa como en la cáscara es inversamente proporcional al contenido de azúcares totales y reductores, $R=0.74$ ($p<0.01$). Los frutos verdes de plátano contienen concentraciones de almidón de 77.5 %, en frutos maduros de 36 % y de 2.1 % en muy maduros, lo cual indica que la mayor transformación de almidón a azúcares ocurre hacia los estados finales de maduración de los frutos, siendo explicable que el fruto de plátano de Dominico-Hartón en estado amarillo y medio amarillo tenga mayores concentraciones de almidón como producto de factores genéticos o ambientales (Firmín, 1991).

Agama-Acevedo y colaboradores (2014) aislaron y realizaron una caracterización parcial de almidón de variedades de musáceas de cocción y postre cultivadas en México, encontrando que el almidón de plátano Morado tiene un contenido de amilosa de 31 g/100 g de almidón, mayor que otras variedades (23-26 g/100 g de almidón). De las variedades que analizaron, el plátano Morado tuvo menor cantidad de almidón resistente; sin embargo, estos autores que la forma de los gránulos de

almidón de esta variedad tienen formas alargadas con tamaños entre 30 y 60 μm de longitud y 10 μm de ancho. Dada la forma alargada de estos gránulos, la distribución de tamaño mostró un máximo a las 24 μm , por lo que puntualizaron que el 10 % y 90 % de los gránulos tienen un diámetro aproximado de 5 y 70 μm , respectivamente. Los almidones de maíz con forma elongada tienen altos contenidos de amilosa y vistos bajo luz polarizada presentan varias cruces de malta, una sugerencia a esta situación es la posible unión de varios gránulos de almidón por las moléculas de amilosa (Jane, 2009). En este estudio realizado por Agama-Acevedo y colaboradores (2014) del almidón de diferentes variedades de plátano, los gránulos de todas las variedades analizados bajo luz polarizada sólo presentaron una cruz de malta, indicando que son individuales, incluyendo los de la variedad Morado, a pesar de su alto contenido de amilosa y forma alargada. A partir de esto los autores sugieren ensayos estructurales y reológicos de este almidón, ya que la forma elongada en los gránulos de almidón de plátano Morado es poco común en lo reportado de almidones aislados de los frutos de las musáceas y tal vez estos gránulos presenten nuevas o mejores propiedades funcionales para aplicaciones en los alimentos.

Agama-Acevedo y colaboradores (2015) evaluaron la digestibilidad *in vitro* de diferentes variedades de musáceas, incluido el almidón de plátano Morado. Estos autores analizaron muestras de almidón nativo y gelatinizado, encontrando que el almidón nativo de plátano Morado tiene bajo contenido de ADR (16.6 ± 1.6), a diferencia de su estado gelatinizado, donde esta fracción presentó un aumento hasta 77.7 %. Sin embargo esta variedad presentó mayor contenido de ADL en estado crudo (18.1 %) comparado con la variedad de plátano macho (6.8 %) y valery (4.7 %), las cuales son de mayor consumo.

Debido a las características mencionadas -tamaño y forma del gránulo, bajo contenido de almidón de rápida digestión- de esta variedad de plátano Morado, así como el conocimiento actual del impacto positivo sobre el estado de salud que se deriva de la ingestión de almidón resistente, ha promovido que en los últimos años

se haya incrementado el interés para determinar las propiedades físicas, químicas y funcionales de las harinas y almidón de musáceas. En este sentido, es importante conocer el efecto de los tratamientos hidrotérmicos en almidón de plátano Morado, en estado granular sobre su digestibilidad, y determinar los cambios en las fracciones tanto de almidón de digestión rápida y lenta, como de la fracción de almidón resistente, buscando potenciales características nutracéuticas y aplicaciones en la industria de los alimentos. Aunado a esto, no existen investigaciones que relacionen la digestión del almidón proveniente de esta variedad de musácea con modificaciones mediante tratamientos hidrotérmicos.

III. JUSTIFICACIÓN

México cuenta con un área sembrada en plátano superior a 77 mil hectáreas (INEGI, 2012) lo que lo ubica como el segundo producto frutícola después del aguacate, además, el plátano tiene un consumo *per cápita* de 19.7 kg (García-Mata et al., 2013). El plátano es un fruto climatérico, el cual después de ser cosechado, tiene un proceso de maduración acelerado, lo que ocasiona que cada año se pierda de 30 a 50 % del producto, por lo que se debe buscar alternativas tecnológicas para diversificar su uso y aprovechamiento.

El almidón proveniente de las musáceas en su estado nativo posee una alta resistencia a la hidrólisis por las enzimas digestivas. Recientemente, se ha encontrado que la variedad de plátano Morado presenta un gránulo de almidón alargado y con mayor contenido de amilosa que otras variedades. Los gránulos de almidón alargados se han encontrado en almidones de maíz altos en amilosa, los cuales se han utilizado para producir almidón resistente mediante ciclos de calentamiento-enfriamiento. Por lo que, tomando estas dos características del almidón de plátano Morado se piensa que se puede aprovechar para producir un ingrediente nutracéutico que muestre un alto contenido de ADL y AR, cuyo consumo se ha asociado con efectos benéficos a la salud, usando tratamientos hidrotérmicos, y que esas características se conserven aún después de someter a un proceso de cocción el almidón tratado. El desarrollo de ingredientes nutracéuticos a partir de almidón es un área prioritaria en la industria de alimentos; por lo anterior, con este trabajo se avanza en el conocimiento del efecto que tienen los tratamientos hidrotérmicos sobre cambios en la estructura del almidón y con esto modificar sus propiedades de digestión.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Determinar el efecto de tratamiento hidrotérmico HMT aplicado a almidón de plátano Morado sobre su digestibilidad y las características fisicoquímicas.

4.2 Objetivos Específicos

Caracterizar morfológica y fisicoquímicamente el almidón nativo de plátano Morado.

Modificar el almidón de plátano Morado mediante tratamiento hidrotérmico HMT bajo diferentes condiciones de proceso.

Evaluar la digestibilidad *in vitro* de almidón de plátano Morado, determinando las fracciones de digestión.

Optimizar las condiciones de proceso de tratamiento hidrotérmico con base en las fracciones de digestión.

Establecer las diferencias fisicoquímicas entre almidón de plátano Morado modificado mediante tratamiento hidrotérmico HMT y el almidón nativo, y sus relaciones con las fracciones de digestión.

V. METODOLOGÍA

5.1 Aislamiento y caracterización del almidón nativo

5.1.1 Extracción del almidón

Se empleó almidón nativo de plátano Morado, el cual fue cosechado en estado de madurez verde, cultivado en el estado de Morelos, México, a una altitud aproximada de 1,203 msnm, temperatura media anual de 23 °C, precipitación media anual de 919.6 mm (CRIM, UNAM, 2006). La extracción y aislamiento del almidón se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Whistler (1998) en su patente U.S. 5797985, con algunas modificaciones. Un lote de 250 g de harina de plátano Morado en estado verde se suspendió en 1.25 L de bisulfito de sodio al 1 % (pH 4.5), y se sometió a agitación constante durante 12 h a temperatura ambiente. La mezcla fue tamizada usando una malla US 200, el residuo se lavó con agua destilada, el filtrado se centrifugó a 1,000 g para remover fibra de la solución. Posteriormente, el residuo se re-suspendió en agua destilada y se centrifugó a 1,000 g para precipitar el almidón. El almidón se secó a 40 °C por 12 h en horno de circulación forzada, finalmente se pasó por un tamiz malla 100 US y se almacenó a temperatura ambiente en un recipiente de plástico cerrado herméticamente.

5.1.2 Determinación de la humedad

Para determinar el contenido de humedad en el almidón nativo de plátano Morado se pesó aproximadamente 1 g de muestra, la cual fue puesta sobre una bandeja aluminio. La muestra se llevó a una estufa de circulación forzada y se dejó secar a 100 ± 2 °C durante 3 h (AOAC, 16.032, 1984). El procedimiento se realizó por triplicado. Para cuantificar la humedad se aplicó la ecuación 1.

$$\%H = \frac{(m_1 - m_2)}{m_1} * 100 \quad (1)$$

Donde %H= Porcentaje de humedad; m_1 = Peso de la muestra húmeda (g); m_2 =
Peso de la muestra seca (g).

5.1.3 Determinación de la pureza del almidón

La pureza del almidón nativo se determinó cuantificando el almidón total por el método amiloglucosidasa/ α -amilasa empleando el manual para kit Megazyme, de acuerdo al apartado C de las determinaciones, que es específico para muestras que contienen almidón resistente, pero no D-Glucosa ni maltodextrinas, con algunas modificaciones. Se pesaron 100 mg de la muestra en tubos de ensayo para centrifuga con capacidad de 50 mL, se humedeció la muestra con 0.2 mL de alcohol al 80% (v/v) y se agitó el tubo en un vortex. Se agregaron 2 mL de KOH 2 M agitando constantemente el tubo; posteriormente se introdujo una barra magnética y las muestras se colocaron en un baño de agua fría ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) sobre una plancha de agitación durante 20 min. Luego se añadieron 8 mL del regulador acetato de sodio 1.2 M, pH 3.8 y 0.1 mL de cada una de las enzimas α -amilasa y amiloglucosidasa, respectivamente; inmediatamente los tubos se sumergieron en baño de agua a 50°C durante 30 min, en agitación constante. Posteriormente, la muestra se trasladó a un matraz volumétrico de 100 mL donde se aforó. Se tomó una alícuota de 1 mL y se pasó a un tubo Eppendorf, éste se centrifugó a 1800 g por 10 min. De cada tubo se tomaron 30 μL y se adicionó 1 mL de GOPOD (glucosa oxidasa/peroxidasa); simultáneo a esto, también se preparó un blanco (30 μL de agua destilada y 1 mL de GOPOD y el control con D-glucosa (30 μL de D-glucosa y 1 mL de GOPOD). Los tubos fueron incubados a 50°C durante 20 min y finalmente se leyeron a una absorbancia de 510 nm. Para realizar los cálculos de almidón total, se utilizaron las ecuaciones 2 y 3 (Megazyme, 2011).

$$\%AT = \Delta Abs * F * \frac{FV}{0.03} * \frac{1}{1000} * \frac{100}{W} * \frac{162}{180} \quad (2)$$

Donde %AT= Porcentaje de almidón total (Base húmeda); Δ Abs= Absorbancia respecto al blanco; F= Relación entre el volumen D-glucosa/absorbancia de este volumen de D-glucosa; FV= Volumen Final de dilución; W= Peso de la muestra (mg)

$$\%AT (b. s) = \% AT * \frac{100}{100-\% H} \quad (3)$$

Donde % AT (b.s)= Porcentaje de almidón total en base seca; % AT= Porcentaje de almidón total (base húmeda); % H= Porcentaje de humedad.

5.1.4 Porcentaje de amilosa

La determinación del porcentaje de amilosa se realizó usando el manual de kit Megazyme (K-AMYL 07/11) con algunas modificaciones. Se pesó una muestra de aproximadamente 30 mg de almidón nativo de plátano Morado (pureza del 83.82%) en un tubo de ensayo de 10 mL, se agregaron 2 mL de DMSO (dimetil sulfóxido) con agitación moderada y el tubo se sumergió en baño de agua a ebullición durante 15 min con agitación ocasional. Se sacaron los tubos del baño e inmediatamente se agregaron 4 mL de solvente concavalina A (Con A); la mezcla se pasó a un matraz volumétrico de 25 mL, repitiendo lavados con el solvente Con A al tubo y finalmente se aforó el matraz, a esta solución de llamó "solución A". Se transfirió 1 mL de la solución A en un tubo Eppendorf de 2 mL, se agregaron 0.50 mL de la solución Con A, se homogenizó la mezcla y se dejó reposar por 1 h a temperatura ambiente, para posteriormente centrifugar los tubos a 14,000 g durante 10 min a temperatura ambiente. Se transfirió 1 mL del sobrenadante a un tubo de centrifuga de 15 mL, se agregaron 3 mL de solución tampón de acetato de sodio (100 mM, pH 4.5), se mezcló el contenido y se sometió a baño de agua a ebullición durante 5 min. Se colocó el tubo en un baño de agua de 40 °C para equilibrar su temperatura durante 5 min, luego se agregó 0.1 mL de la mezcla enzimática amiloglucosidasa/ α -amilasa y se incubó a 40 °C durante 30 min; se centrifugó a 2,000 g durante 5 min. Se tomó una alícuota de 30 μ L y se mezcló con 1 mL de reactivo GOPOD, se incubó nuevamente a 40 °C por 20 min. Simultaneo a esto de incubó una solución blanco

(30 µL de solución tampón de acetato de sodio 100 mM, pH 4.5) con 1 mL de GOPOD), una solución patrón D-glucosa (30 µL de la mezcla 0.1 mL D-glucosa+ 0.9 mL buffer de acetato de sodio, con 1 mL de GOPOD). Para la determinación de almidón total se mezclaron 0.5 mL de solución A con 4 mL de acetato de sodio 100 mM, pH 4.5. Se agregaron 0.1 mL de mezcla de enzimas amiloglucosidasa/α-amilasa y se incubó la mezcla a 40 °C por 10 min; se tomó una alícuota de 30 µL y se mezcló con 1 mL de reactivo GOPOD, esto se incubó a 40 °C durante 20 min. La cuantificación del porcentaje de amilosa (% AM) se realizó con la ecuación 4.

$$\% \text{ AM} = \frac{\text{Absorbancia (Con A sobrenadante)}}{\text{Absorbancia (Alícuota de Almidón Total)}} * \frac{6.15}{9.2} * \frac{100}{1} \quad (4)$$

Donde % AM= Porcentaje de amilosa; 6.15 y 9.2 son factores de dilución de Con A y almidón total, respectivamente.

5.1.5 Características morfológicas

5.1.5.1 Tamaño y forma del gránulo

La morfología del gránulo de almidón se analizó usando con un microscopio electrónico de barrido (MEB). Para observar el almidón en el microscopio, este se puso en un porta muestra de carbono utilizando cinta adhesiva de doble cara y se observó en un equipo JEOL JMS 7600F (Akishima, Japón) con el modo de GB-H, con acelerador de voltaje de 1 kV. Se presentan micrografías con aumentos 503 X y 820 X (Hernández-Jaimes et al., 2013).

5.1.5.2 Microscopía óptica de luz y luz polarizada

Se realizó la medición en un microscopio óptico de luz y luz polarizada (Leitz, Wetzlar, Alemania), con objetivo 10 X, equipado con una cámara digital (modelo MTI DC-330, Dage, Chiba, Japón). Las muestras de almidón se colocaron de forma

homogénea sobre un portaobjetos y se humedecieron con agua destilada, se mezclaron con una espátula y se fijaron al cubre objetos. Los gránulos de almidón se seleccionaron al azar (Millán-Testa et al., 2005).

5.2 Tratamientos hidrotérmicos

5.2.1 Calor-Humedad (HMT)

Las muestras de almidón se pesaron en un recipiente con tapa hermética, se adicionó agua destilada hasta llevar la suspensión al porcentaje de humedad de cada tratamiento (respectivo según el diseño experimental), durante la adición de agua las muestras fueron agitadas constantemente para homogenizar la muestra. El recipiente fue sellado y almacenado durante 24 h a temperatura ambiente, posteriormente la muestra se llevó a una estufa de circulación forzada a 100 °C durante el tiempo correspondiente según el diseño experimental. Al terminar el tiempo de calentamiento, el contenedor se dejó cerrado a temperatura ambiente durante 2 h. La muestra de almidón se secó con aire seco hasta llevarla a una humedad uniforme de aproximadamente el 10 % (Chung et al., 2009).

5.2.2 Diseño experimental

Como se revisó en la bibliografía citada acerca de los tratamientos hidrotérmicos, entre las principales condiciones que se deben controlar en este tipo de tratamientos, se incluyen el contenido de humedad, al cual se ajusta la muestra, la temperatura y tiempo durante el cual el almidón es sometido bajo las condiciones combinadas de temperatura y humedad. Para este caso se fijó la temperatura como una condición estable a 100 °C; para los factores tiempo y humedad, se planteó inicialmente un diseño factorial 2³, donde los factores de variación fueron: contenido de humedad (H), con tres niveles (15, 25 y 35 %) y tiempo de calentamiento (t), en los niveles 1, 8 y 16 h; los niveles establecidos para este diseño están basados en la definición de HMT (Chung et al., 2009). Las variables respuesta o dependientes

del diseño fueron el porcentaje en digestión de: almidón resistente (AR), almidón de digestión lenta (ADL) y almidón de digestión rápida (ADR). Cada tratamiento se realizó por triplicado.

A partir de los resultados del anterior diseño experimental, se planteó un diseño central compuesto con dos puntos al centro, seleccionando el tratamiento que más se adecuó a las necesidades tecnológicas de AR y ADL cuando el almidón se sometió a digestión *in vitro* en estado gelatinizado. En el cuadro 1 se resume el número de tratamientos, las variables con valor real y las variables codificadas, (-1, 0, 1) usadas para el análisis estadístico.

Cuadro 1. Diseño central compuesto con dos factores de variación: porcentaje de humedad (H) y tiempo (t) expresado en horas.

Número de tratamiento	Variables reales		Variables codificadas	
	H (%)	t (h)	H (%)	t (h)
1	30	6.5	-1	-1
2	30	8.5	-1	0
3	30	10.5	-1	1
4	35	6.5	0	-1
5	35	8.5	0	0
6	35	8.5	0	0
7	35	10.5	0	1
8	40	6.5	1	-1
9	40	8.5	1	0
10	40	10.5	1	1

5.3 Digestión *in vitro* del almidón nativo y HMT

5.3.1 Almidón nativo y HMT

La digestibilidad *in vitro* del almidón se determinó por el método de Englyst y colaboradores (1992) con algunas modificaciones. α -amilasa pancreática de porcino (0.40 g) se dispersó en agua (2.66 mL) y se centrifugó a 4,000 g por 10 min. El sobrenadante se transfirió a un vaso de precipitado, junto con una mezcla de amiloglucosidasa (98 μ L) y agua destilada (0.25 mL). Esta solución enzimática fue preparada antes de cada digestión. Se pesó una muestra de almidón (200 mg base seca) en un tubo de vidrio con tapa roscada, se adicionaron 2 mL agua destilada. El tubo se sumergió en un baño de agua a ebullición durante 20 min con agitación magnética, este paso se realizó para gelatinizar el almidón. Posteriormente, se adicionaron 4 mL de agua destilada, 1 mL de solución tampón de acetato de sodio (0.5 M, pH 5.2), 2 mL de la solución enzimática y 6 esferas de vidrio, las cuales simulaban los movimientos peristálticos durante la incubación de la muestra en un baño de agua con agitación (37 °C, 160 strokes \cdot min⁻¹). Transcurridos los primeros veinte (20) minutos de la digestión, se tomó una alícuota de 0.05 mL de la muestra, se transfirió a un tubo Eppendorf de 2 mL, con 0.95 mL de etanol (90 %), el tubo se agitó con inversiones repetidas para detener la reacción; de igual forma, después de ciento veinte minutos (120 min), se tomó una segunda alícuota de 0.05 mL, la cual se trató de igual forma que la muestra tomada a los veinte minutos. Los tubos con las alícuotas se centrifugaron a 11,000 g por 5 min. La glucosa hidrolizada se midió con el reactivo GODPOD (glucosa oxidasa peroxidasa) y se cuantificó con el valor de absorbancia a 510 nm.

La clasificación basada en el grado de hidrólisis fue: digestión rápida (digerido antes de 20 min), digestión lenta (digerido entre 20 y 120 min) y almidón resistente (no digerido antes de 120 min).

Para realizar la digestión del almidón crudo, se realizó el procedimiento anteriormente descrito, omitiendo los pasos donde se gelatiniza el almidón en el baño a ebullición durante 20 min.

5.3.2 Cuantificación de las fracciones de digestión

Para la cuantificación de las fracciones de almidón de digestión rápida (ADR) y lenta (ADL), así como de almidón resistente (AR), se empleó una curva estándar de glucosa donde se calculó el porcentaje de glucosa.

Así entonces, las fracciones de ADR, ADL y AR, se calcularon con las siguientes ecuaciones:

$$\text{ADR} = (G_{20} - \text{Gl}) \times 0.9 \quad (5)$$

$$\text{ADL} = (G_{120} - G_{20}) \times 0.9 \quad (6)$$

$$\text{AR} = \text{AT} - (\text{ADR} + \text{ADL}) \quad (7)$$

Donde Gl= Glucosa libre (Cantidad no considerable); G_{20} = Glucosa medida en la muestra transcurridos 20 min; G_{120} = Glucosa medida en la muestra después de transcurridos 120 min; AT=Almidón total.

5.4 Relación de digestibilidad con características fisicoquímicas y morfológicas del almidón modificado.

5.4.1 Propiedades térmicas

Las propiedades térmicas de gelatinización del almidón nativo y modificado HMT se determinaron usando un calorímetro diferencial de barrido (TA Instrument, Q20, New Castle, NJ, USA) previamente calibrado con indio. Se tomó una muestra de 2.2

mg (base seca) de almidón y se puso con 7 μL de agua desionizada en un recipiente de aluminio, inmediatamente se selló y se dejó en reposo durante 1 h previo a su análisis. El contenedor se calentó de 25 a 120 $^{\circ}\text{C}$, con un incremento de temperatura de 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Se usó un recipiente vacío como referencia. Se registraron los resultados de la temperatura de inicio de gelatinización (T_i), temperatura pico (T_p), temperatura final (T_f) y entalpía de gelatinización (ΔH), los datos se obtuvieron directamente del software del equipo (Paredes-López et al., 1994).

5.4.2 Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier

Para analizar los espectros de infrarrojo con transformada de Fourier de las muestras de los almidones nativo y HMT se usó un espectrofotómetro de infrarrojo (Midac, Series M, CA, EE.UU.), equipado con un sistema de reflectancia total atenuada a 25 ± 2 $^{\circ}\text{C}$. Para cada muestra se colectaron 32 barridos con una resolución de 4 cm^{-1} y se obtuvo la media en la región de 400 a 4000 cm^{-1} . Cada muestra se realizó por cuadruplicado (Zamudio-Flores et al., 2010).

5.4.3 Difracción de rayos X

Se pesaron 20 mg base seca de la muestra de almidón, la cual se colocó sobre un porta muestra del difractómetro de rayos X (Bruker advance D8) de ángulo amplio, equipado con una fuente de cobre operado a 35 kV, produciendo una radiación $\text{CuK}\alpha$ con una longitud de onda de 1.542 Å , con una velocidad de 60 segundos por grado. Se tomaron los datos en un intervalo de 3-37 $^{\circ}$ cada 0.05 $^{\circ}$ (Amaya, 2010).

El porcentaje de cristalinidad (% C) se determinó con la ecuación 8, basándose en los resultados del difractograma (Rodríguez-García, 1995).

$$\%C = \frac{A_p}{A_t - N} \quad (8)$$

Donde A_p = Área de picos cristalinos; A_t = Área total bajo la curva (halo amorfo y cristalino); N = Ruido del equipo.

5.5 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se empleó el software JMP Versión 10.1. El análisis para el diseño factorial 2^3 se basó en un análisis de varianza (ANOVA) y un análisis descriptivo. Para el diseño central compuesto se empleó la metodología de superficie de respuesta (MSR) descrita por Castaño y Domínguez (2010); dentro de esta metodología se realizó el análisis de varianza, pruebas de ajuste del modelo, caracterización del punto estacionario, superposición de curvas de nivel y funciones de deseabilidad, para determinar las condiciones óptimas que se adecuaron a las necesidades tecnológicas sobre las respuestas de almidón resistente (AR) y de digestión lenta (ADL).

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 Aislamiento y caracterización del almidón

6.1.1 Características fisicoquímicas

6.1.1.1 Pureza del almidón

La pureza del almidón es un parámetro que permite cuantificar la eficiencia de la técnica de extracción sobre este material. En el cuadro 2 se puede observar que la muestra de almidón aislado de plátano Morado tuvo un porcentaje de almidón total de 83.82 %, menor que la reportada en muestras de almidón de la misma fuente botánica por Agama-Acevedo y colaboradores (2014), quienes encontraron una pureza del 97.12 %.

Cuadro 2. Caracterización de almidón de plátano Morado

Muestra	AT (%)	Amilosa (%)	H (%)
Almidón de plátano Morado	83.82±1.31	31.54±1.65	4.82±0.18

Los valores representan la media de tres repeticiones± error estándar

AT= Almidón total (g)/100 g muestra; H= Contenido de humedad;

Amilosa= Contenido de amilosa (g)/100 g muestra.

Estas diferencias en la pureza del almidón pueden estar relacionadas con el método de extracción (Agama-Acevedo et al., 2014) y con el tiempo de desarrollo de los frutos al momento de la cosecha, ya que algunos días de diferencia en la cosecha después de la polinización del fruto, produce una disminución en el contenido de almidón, incidiendo en las ligeras diferencias en la cantidad de almidón que se puede extraer. Por otro lado, en el fruto verde o inmaduro, dependiendo de la variedad, la pulpa contiene otros componentes como lignina, hemicelulosa, látex y pectinas que limitan el proceso de aislamiento.

6.1.1.2 Porcentaje de amilosa

En el cuadro 2 se puede observar el porcentaje de amilosa del almidón aislado de plátano Morado nativo empleado como materia prima, éste fue de 31.54 %, similar al porcentaje reportado en trabajos anteriores realizados con almidón aislado de esta variedad de *Musa sp.*, donde Agama-Acevedo y colaboradores (2014), reportaron un contenido de amilosa de 31.88 %.

El contenido de amilosa tiene influencia sobre las características fisicoquímicas, funcionales y nutricionales de productos elaborados con almidón. La cantidad de este polisacárido presente en los gránulos de almidón está en función de la variedad, técnica de aislamiento y factores agroclimáticos como el tipo de suelo, clima y/o régimen de lluvia, los cuales tienen efecto sobre su biosíntesis. Un alto contenido en amilosa causa una menor digestibilidad del almidón, debido a una correlación positiva entre el contenido de amilosa y la formación de AR (Berry, 1986). Grandfelt y colaboradores (1995) reportaron que productos elaborados a base de almidón de maíz con alto contenido de amilosa tienen un potencial para promover favorablemente bajas respuestas metabólicas y alto contenido de almidón resistente. Esto se ha atribuido a que las moléculas de amilosa interactúan con la amilopectina, lo cual restringe el hinchamiento del granulo de almidón y reduce el acceso enzimático para hidrolizar las moléculas de almidón (Case et al., 1998; Jiang et al., 2010).

6.1.2 Características morfológicas

6.1.2.1 Tamaño y forma del gránulo

La microscopía electrónica de barrido permite establecer las características de la superficie y el tamaño de los gránulos de almidón. En la figura 1, los gránulos de almidón nativo de plátano Morado presentan formas alargadas y ovaladas, se

pueden observar un gran número de gránulos que aparentemente están en proceso de formación o fueron fragmentados en el proceso de aislamiento del almidón.

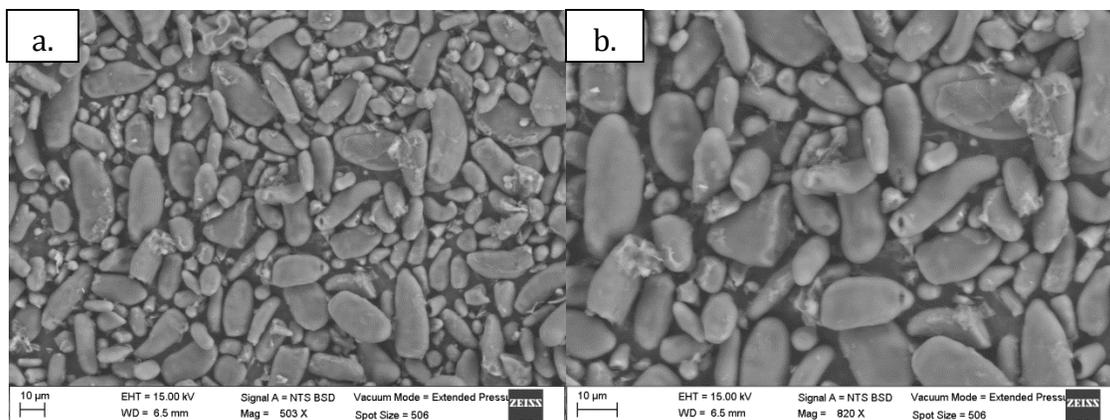


Figura 1. Microscopía electrónica de barrido de almidón nativo de plátano Morado. Aumento 503 X (a) y 820 X (b)

Las partículas grandes tienen un tamaño igual o superior a los 10 µm de largo y menores o iguales que 10 µm de ancho. La superficie de los gránulos es lisa, lo que evidencia la ausencia de algún tipo de poro en la capa externa de los gránulos; este tipo de superficies retrasa la difusión de la enzima hacia el interior del gránulo, lo que resultaría en una baja velocidad de hidrólisis enzimática y mayores fracciones de ADL y AR (Zhang y Hamaker, 2005). El tamaño y la forma de los gránulos tiene efecto sobre las propiedades reológicas y funcionales del almidón. A pesar de que este tipo de forma no es común en los gránulos de almidón, se han encontrado formas alargadas en almidones de maíz altos en amilosa. Esta forma elongada está relacionada con la formación de AR después de someter el almidón a ciclos de calentamiento-enfriamiento (Sajilata et al., 2006).

6.1.2.2 Microscopía óptica de luz y luz polarizada

Los gránulos de almidón nativo de plátano Morado se observaron bajo luz y luz polarizada (Figura 2), donde se puede observar que presentaron birrefringencia, de

lo cual se puede inferir que el proceso de aislamiento de almidón no presentó ningún efecto sobre el arreglo de los componentes del gránulo. En la figura 2.a se puede observar que los gránulos alargados, con forma de varilla, presentan una sola cruz de malta. Agama-Acevedo y colaboradores (2014) reportaron formas de almidón nativo de plátano Morado similares a éste; estos autores observaron que en este almidón, al ser visto bajo luz polarizada, los gránulos solo presentaban una cruz de malta, situación diferente a los reportado por Jane y colaboradores (2009), quienes observaron almidón con alto contenido de amilosa, que presentaban formas alargadas, bajo luz polarizada, encontrando varias cruces de malta; con lo anterior, los autores concluyeron que esta forma alargada de varilla se debía a la unión de dos o más gránulos de almidón gracias a las cadenas de amilosa, lo cual se puntualizó como una característica de los almidones altos en amilosa. Los almidones altos en amilosa son utilizados para producir un ingrediente con alto contenido de AR, esto mediante ciclos de calentamiento-enfriamiento. Debido a las características del almidón de plátano (mayor contenido de amilosa y gránulos alargados), se cree que puede ser utilizado para producir un ingrediente con alto contenido de ADL y AR.

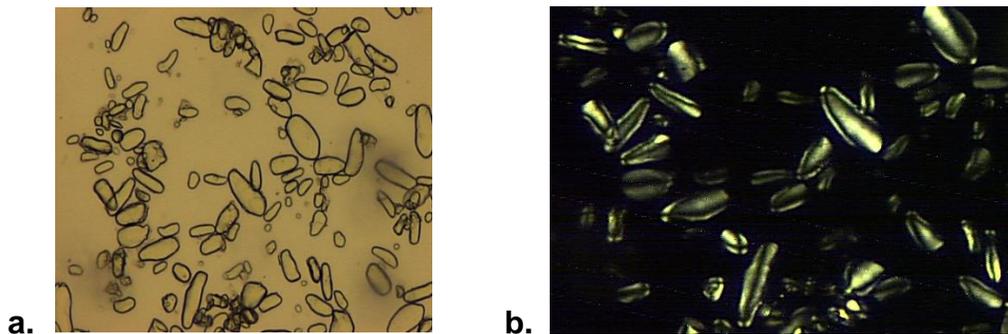


Figura 2. Microscopía óptica de luz (a) y luz polarizada (b) de almidón nativo de plátano Morado.

6.2 Características fisicoquímicas y morfológicas de almidón de plátano Morado modificado por HMT.

6.2.1 Propiedades térmicas

Las propiedades térmicas (T_i , T_p , T_f , ΔH e IG) del almidón nativo y modificado por HMT se pueden observar en el cuadro 3. Estas propiedades evaluadas del almidón de plátano Morado con modificación HMT presentaron un aumento respecto a los mismos parámetros evaluados en el almidón nativo. La T_f tuvo el mayor incremento en 16.42 °C, seguido por T_p (13.95 °C) y la T_i aumentó de 60.24 °C en el almidón nativo a 71.8 °C en el almidón modificado, lo que representa un incremento de 11.5°C; así mismo, los incrementos en estas temperaturas inciden en el aumento del IG que paso de 15.44 a 20.3 °C. En cuanto a ΔH , también presentó un incremento desde 11.4 a 12.6 J·g⁻¹. Los incrementos en T_i , T_p y T_f se han reportado en almidones tratados por HMT de otras fuentes botánicas (Hoover y Manuel, 1996; Gunaratne y Hoover, 2002; Chung et al., 2009), y han sido atribuidos a cambios estructurales dentro del gránulo de almidón, lo cual relaciona interacciones amilosa-amilosa y amilosa-lípidos. Sin embargo, incremento en ΔH no fue reportado por estos autores. Hoover y Manuel (1996) encontraron que ΔH no tuvo reducciones al someter el almidón de maíz al tratamiento HMT a 100 °C. Los parámetros para almidón nativo han sido reportados anteriormente en otras investigaciones realizadas con plátano Morado (Utrilla-Coello et al., 2014; Agama-Acevedo et al., 2014), pero hasta la fecha no se habían reportado los cambios en dichas propiedades cuando el almidón de plátano Morado se ha sometido a modificación física por HMT.

Cuadro 3. Propiedades térmicas de almidón nativo y modificado (HMT) de plátano Morado

Muestra	T_i (°C)	T_p (°C)	T_f (°C)	ΔH (J·g⁻¹)	IG (°C)
Nativo	60.2±0.04	64.5±0.04	75.7±0.0	11.4±0.14	15.4±0.04
HMT	71.8±0.2	78.5±0.01	92.1±0.03	12.6±0.1	20.3±0.3

Los valores representan la media de tres repeticiones ± error estándar

T_i= temperatura de inicio de gelatinización; T_p= temperatura pico de gelatinización; T_f = temperatura final; ΔH= entalpía de gelatinización, IG=intervalo de gelatinización (T_f-T_i).

La influencia del tratamiento HMT sobre las propiedades térmicas depende del porcentaje de humedad, la fuente del almidón y el contenido de amilosa, todos estos factores son importantes en los cambios a nivel molecular y estructural de almidón durante el HMT. Se ha reportado que la gelatinización, la hidratación y el hinchamiento son reflejo del desplegamiento de las dobles hélices (Donovan, 1979). El aumento de T_i, T_p y T_f durante la gelatinización sugiere que las interacciones amilosa-amilosa, amilosa-amilopectina y amilopectina-amilopectina, ocasionadas por el tratamiento hidrotérmico retrasan la movilidad de las zonas amorfas, por lo que el almidón modificado requiere de mayor temperatura para llegar al hinchamiento que contribuye a la alteración o disrupción de las zonas cristalinas.

El incremento en el intervalo de gelatinización (IG) después del tratamiento HMT está relacionado con la distribución de las cadenas de amilosa y amilopectina, además de la heterogeneidad del tamaño del gránulo de almidón, lo cual produce un arreglo semi-cristalino al interior del gránulo con diferente estabilidad (Wongsagonsup et al., 2008).

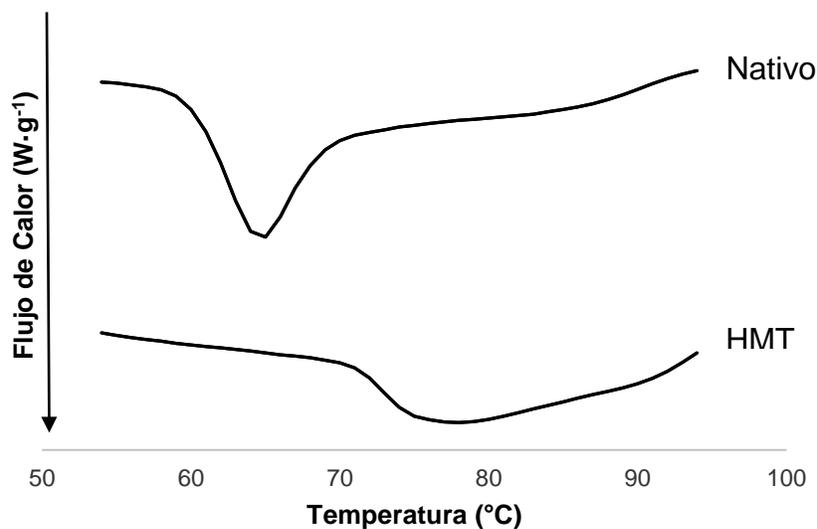


Figura 3. Termograma de almidón nativo y modificado (HMT) de plátano Morado.

Las variaciones en ΔH reflejan principalmente la pérdida o incremento del ordenamiento de las dobles hélices (Cooke y Gidley, 1992). El aumento del valor de ΔH sugiere que las dobles hélices de los gránulos de almidón no fueron afectadas por las condiciones de humedad, tiempo y temperatura del tratamiento hidrotérmico, que, por el contrario incidieron en un aumento en la organización de dobles hélices, presentando una estructura más organizada y más estable térmicamente que el almidón nativo. Se ha reportado que altos valores en la entalpía de gelatinización, se atribuyen a la presencia de un alto número de dobles hélices (Gunaratne y Hoover, 2002). El valor de ΔH también se ve reflejado en el aumento del porcentaje de cristalinidad (ver Figura 6). Hoover y Manuel (1996) reportaron que el ΔH en almidones de diferentes tipos de maíz, incluyendo Amilomaíz V modificados por HMT con 30 % de humedad a 100 °C durante 16 h, no presentó variaciones, indicando que las dobles hélices no sufrían desorganización alguna ocasionada por las condiciones del tratamiento.

Los anteriores resultados de las propiedades térmicas del almidón modificado por HMT respecto al almidón nativo se pueden observar en el termograma presentado

en la figura 3, donde son notables los cambios en los rangos de temperatura que ocurre la transición representada por el desplazamiento de la endoterma a mayor temperatura.

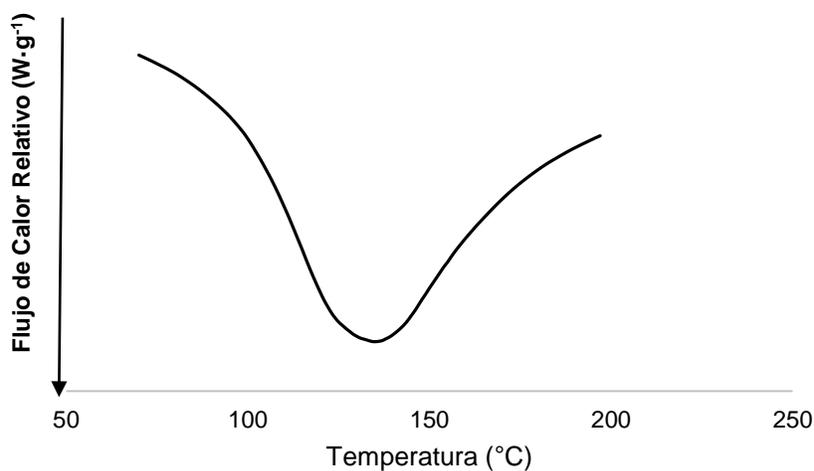


Figura 4. Termograma de almidón modificado (HMT) de plátano Morado en ausencia de agua.

En la figura 4 se presenta el termograma del almidón de plátano Morado modificado por HMT analizado en CDB en ausencia de agua. En este estudio se evaluaron las transiciones de fase, principalmente fusión, ya que no se adicionó agua en la preparación de la muestra. Se observó una gran estabilidad del almidón cuando fue sometido a altas temperaturas, sin condiciones de humedad, con T_i de 99.3 ± 0.9 °C, T_p 134.9 ± 1.0 °C, T_f 181.8 ± 0.2 °C, entalpía de 172.6 ± 0.8 J·g⁻¹ y un intervalo de transición de 82.5 ± 0.7 °C (Cuadro 4). La transición encontrada indica que en el almidón modificado por HMT se encuentra una estructura (arreglo de los componentes del almidón), la cual aún después de ser gelatinizada, presenta un mayor contenido de ADL y AR. Las temperaturas de la transición de fase (desorganización de los componentes del almidón) sugieren que el almidón modificado por HMT puede ser utilizado en productos con bajo contenido de humedad (ej. galletas, pastas) y puede mostrar menor digestibilidad a la encontrada cuando el almidón es gelatinizado. Sin embargo, se necesitarían realizar estudios en productos específicos.

Cuadro 4. Propiedades térmicas de almidón modificado (HMT) en ausencia de humedad.

Muestra	T _i (°C)	T _p (°C)	T _f (°C)	ΔH (J·g ⁻¹)	IT (°C)
HMT	99.3±0.9	134.9±1.0	181.8±0.2	172.6±0.8	82.5±0.7

Los valores representan la media de tres repeticiones ± error estándar

T_i= temperatura de inicio de transición; T_p= temperatura pico de la transición; T_f = temperatura final; ΔH= entalpía de la transición, IT=intervalo de la transición (T_f-T_i).

6.2.2 Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (IRTF)

En la figura 5 se presenta el espectro IRTF de almidón nativo y HMT de plátano Morado. Se puede observar que en la banda donde se presentó mayor incremento de absorbancia fue en 995 cm⁻¹, seguido por los incrementos en las bandas 860, 1020, 1022, 1041, 1076 y 1149 cm⁻¹, y en menor medida en la banda 925 cm⁻¹. van Soest y colaboradores (1995) reportaron que la banda 994, la cual es dada principalmente por vibraciones de enlaces COH, es sensible al contenido de agua y estas vibraciones relacionan interacciones agua-almidón, como los puentes de hidrógeno. Tanner y colaboradores (1987) también reportaron cambios en esta banda, y se atribuyeron dichas variaciones a cambios en el entorno molecular del grupo hidroxilo primario en amilosa tipo V, debido a cambios en las uniones intramoleculares de hidrógeno.

Otros picos de particular interés son 1041 cm⁻¹, 1020 cm⁻¹ y 925 cm⁻¹, el primero asociado a la región cristalina del almidón, el segundo es característico de las regiones amorfas y el último es sensible a presencia de agua (Karim et al., 2000). Las bandas 1047, 1022 y 861 cm⁻¹ son sensibles a cambios en la cristalinidad. La banda 1047 cm⁻¹ parece estar compuesta por la superposición de dos bandas la 1040 y la 1053 cm⁻¹, los incrementos en esta banda representan aumentos en la cristalinidad; sin embargo, esta banda no es sensible al contenido de agua. Incrementos en las bandas 925, 1041 y 1077 cm⁻¹ pueden atribuirse a flexiones de

enlaces C-O-H, en la banda 1150 cm^{-1} debido al estiramiento de C-O y C-C con contribuciones de COH (van Soest et al., 1995).

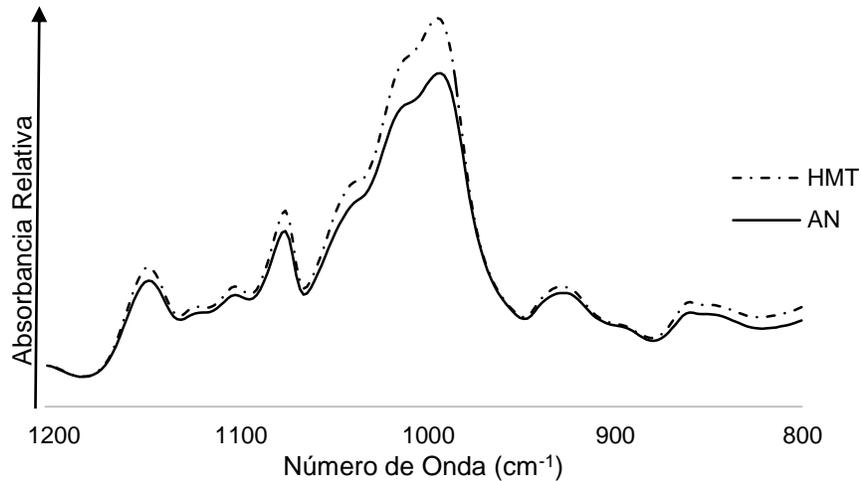


Figura 5. Espectro infrarrojo con transformada de Fourier (IRTF) deconvulrado de almidón nativo (AN) y modificado (HMT) de plátano Morado.

La cantidad de ordenamiento de corto rango puede expresarse usando la intensidad de las bandas más características de las regiones cristalina y amorfa, ésta es la relación R ($1047/1022\text{ cm}^{-1}$), o usando la intensidad de la banda característica del almidón cristalino en 1047 cm^{-1} , la cual es expresada como R ($1047/1035\text{ cm}^{-1}$). Esta última relación es muy sensible a los cambios en el contenido de agua; mientras que la primera está influenciada por cambios en la posición y forma de la banda. En el cuadro 5 se presenta el ordenamiento de corto rango, mediante las relaciones de intensidad $1047/1022\text{ cm}^{-1}$ y $995/1022\text{ cm}^{-1}$. Se puede observar que ambas relaciones resultaron en un aumento ocasionado por el tratamiento HMT. El incremento en la primera relación sugiere que las condiciones de temperatura, humedad y tiempo de calentamiento causan un arreglo de dobles hélices dentro de la lamella cristalina. La segunda está influenciada con la pérdida o conservación de agua, que relaciona el arreglo cristalino del gránulo de almidón durante el tratamiento HMT (Varatharajan et al. 2010); su incremento implica un incremento en el orden molecular observado en la difracción de rayos X (Figura 6).

Cuadro 5. Orden molecular de corto rango de almidón nativo y modificado (HMT) de plátano Morado, determinado por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (IRTF)

Muestra	R (1047/1022 cm ⁻¹) ^a	(995/1022 cm ⁻¹) ^a
Nativo	0.69±0.004	1.19±0.004
HMT	0.70±0.002	1.22±0.004

Los valores representan la media de seis repeticiones± error estándar.

^a Relación de Intensidad.

6.2.3 Difracción de rayos X

El porcentaje de cristalinidad para el almidón nativo de plátano Morado fue de 28.9 %, menor que el presentado por este mismo almidón después de ser sometido a modificación HMT, el cual tuvo un porcentaje de 31.5 % (Figura 6). El efecto del tratamiento HMT sobre la cristalinidad del almidón depende de la fuente de donde se aisló el almidón y de las condiciones de tratamiento. La cristalinidad también está relacionada con diversos factores, entre los cuales se incluye el tamaño del cristal, el número de regiones cristalinas, que son influenciadas por el contenido de amilopectina, y la longitud de sus cadenas, la orientación de las dobles hélices dentro de la región cristalina, y la extensión de orientación de las dobles hélices (Miao et al., 2009).

El almidón nativo presentó un pico más pronunciado en el ángulo 17°, uno de menor intensidad en el ángulo 23° (Figura 6); mientras que el almidón HMT presentó picos de similar intensidad en los ángulos 17° y 23°, y uno de menor intensidad en el ángulo 15°. En este último ángulo, el almidón nativo no presentó un pico sobresaliente en su difractograma. Se ha reportado que los almidones nativos de plátano tienen picos en los ángulos 17° y 23°, con ausencia de pico definido en el ángulo 18°, que los hace asemejarse más al patrón de difracción tipo B con características del patrón A, lo que se conoce como patrón de difracción C_B. Aunque el tratamiento HMT aumentó el porcentaje de cristalinidad, no causó cambios en su

patrón de difracción, situación que se ha presentado en almidones tipo B de otras fuentes botánicas, como el caso de almidón de papa y ñame, cuando son sometidos a este tipo de tratamiento hidrotérmico (Guaratne y Hoover, 2002). Sin embargo, se ha reportado que no todas las condiciones de humedad, tiempo y temperatura inducen cambios en el patrón de cristalinidad desde el tipo B al tipo A, así como tampoco se han presentado este tipo de cambios en almidones modificados por HMT, aislados de fuentes vegetales como la yuca o almidones de cereales (Jacobs y Delcour, 1998). Dependiendo de las condiciones de proceso, los cambios que son inducidos por el HMT sobre el patrón de difracción se han atribuido a la deshidratación, así como al movimiento de un par de dobles hélices dentro del canal central (Zavareze y Dias, 2011).

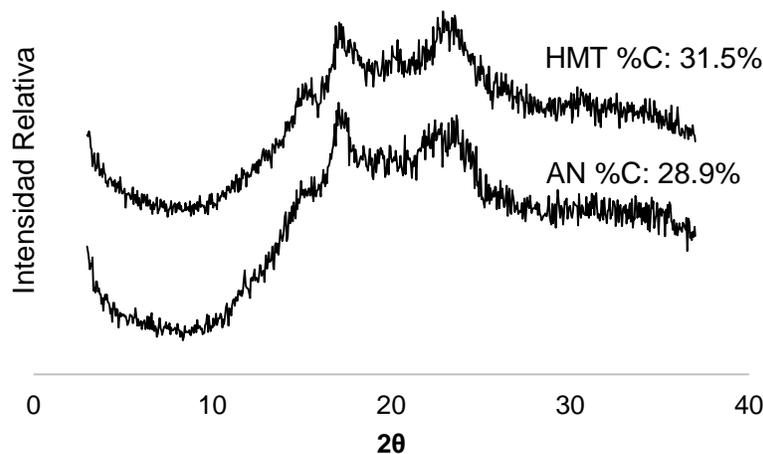


Figura 6. Patrones de difracción de rayos X de almidón nativo (AN) y modificado (HMT) de plátano Morado.

Incrementos en la intensidad de la difracción de rayos X en almidones modificados por HMT son debido a un desplazamiento de las cadenas de doble hélice con los cristales del gránulo de almidón, resultando en una matriz cristalina que es más ordenada que en el almidón nativo (Zavaraze y Dias, 2011). Este ordenamiento de segundo grado en el gránulo de almidón también se ve reflejado, en menor medida, en los resultados del aumento de la entalpía de gelatinización.

6.3 Digestibilidad *in vitro* de almidón nativo y HMT

Los resultados de digestibilidad para el diseño factorial 2³ se presentan en el cuadro 6. Se pueden observar los porcentajes de las dos fracciones de almidón con interés nutracéutico (ADL y AR), cuando el almidón se encuentra en estado crudo como gelatinizado. Esta última presentación del almidón es de gran interés de estudio, ya que su principal forma de consumo es en productos que deben ser sometidos a procesos de cocción con cierto contenido de humedad. En la gelatinización, los gránulos se hinchan y pierden su arreglo molecular, lo que los hace más susceptibles a la hidrólisis enzimática.

Cuadro 6. Fracciones de digestión de almidón modificado (HMT) tratado bajo diferentes condiciones de humedad y tiempo de calentamiento.

Tratamiento	H (%)	t (h)	Almidón crudo (%)		Almidón gelatinizado (%)	
			ADL	AR	ADL	AR
1	15	1	7.6± 1.2	83.0±2.0	4.3±0.2	25.9±0.3
2	15	8.5	8.2±0.8	87.7±0.4	7.7±0.5	26.8±0.7
3	15	16	8.5±0.1	84.0±0.3	4.2±0.3	21.0±0.2
4	25	1	8.9±0.7	57.4±0.6	7.4±0.4	26.8±0.2
5	25	8.5	8.3±0.3	75.5±0.6	6.8±0.4	22.8±0.3
6	25	16	17.9±0.2	56.3±0.2	10.8±0.4	28.1±1.0
7	35	1	15.4±1.2	26.5±1.0	8.6±0.5	24.3±0.7
8	35	8.5	6.3±1.2	34.8±0.2	5.6±0.8	29.3±0.3
9	35	16	7.7±0.4	41.8±0.1	8.5±0.2	24.6±0.3

Los valores representan la media de tres replicas± error estándar

H= porcentaje de humedad; t= tiempo de calentamiento expresado en horas (h); ADL= porcentaje de almidón de digestión lenta; AR= porcentaje de almidón resistente

Cuando el almidón de plátano Morado modificado por HMT en estado crudo fue sometido a hidrólisis enzimática con amiloglucosidasa y α-amilasa pancreática, los

tratamientos con mayor porcentaje de AR se obtuvieron bajo condiciones de 15 % de humedad, a diferencia de los tratamientos con 35 % de humedad que presentaron menor cantidad de esta fracción (26.5, 34.8, y 41.8 % para los tratamientos 7, 8 y 9, respectivamente). Se notó una influencia directa de la humedad sobre la pérdida de AR, lo que indica que a mayor humedad en el tratamiento HMT se obtiene menor porcentaje de AR. El análisis de varianza (ANOVA) indicó que ambos factores de variación (humedad y tiempo), así como su interacción, presentan un efecto estadísticamente significativo sobre la respuesta de AR ($p < 0.0001$). En cuanto a la fracción de ADL, el mejor tratamiento correspondió al número 6, con niveles de humedad y tiempo de calentamiento en 25 % y 16 h, respectivamente, y una respuesta en ADL de 17.9 %, mayor que la presentada por el almidón nativo de plátano Morado (ADL=6.5 %, cuadro 8), lo que representa un incremento del 175.4 % en esta fracción. El ANOVA de ADL indicó que los factores humedad, tiempo y su interacción presentaron un efecto estadístico significativo sobre la respuesta a esta variable ($p = 0.005$; 0.002 ; 0.0001 , respectivamente). Cabe resaltar que en ninguno de los tratamientos de HMT se presentó pérdida de la fracción de ADL; caso contrario a la fracción de AR, la cual se redujo en todos los tratamientos, comparada con el valor del almidón nativo (AR=89.4 %). Lee y colaboradores (2012), encontraron que el nivel de humedad tiene un efecto estadístico significativo tanto lineal como cuadráticamente sobre la producción de ADL, así como la interacción entre la humedad y la temperatura. Los aumentos en la fracción de ADL están dados por la reducción de la fracción de AR, a partir de la cual también aumenta el porcentaje de ADR. Los incrementos en la fracción de ADL se han reportado anteriormente; por ejemplo, Shin y colaboradores (2005) concluyeron que dependiendo de la temperatura y el contenido de humedad del tratamiento, se pueden obtener incrementos de hasta el doble de ADL.

En cuanto a los resultados de digestibilidad cuando el almidón es analizado en estado gelatinizado, el tratamiento con mayor porcentaje de ADL fue el número 6 (10.8 %), indicando un aumento del 44 % respecto a esta fracción en almidón nativo (7.5 %, cuadro 8). El tratamiento número 8 presentó el mayor valor de AR (29.3 %),

valor superior al presentado por el almidón nativo gelatinizado (12.7 %), lo que representa un incremento del 130 % gracias a la modificación HMT. El análisis de varianza mostró que bajo estas condiciones de proceso, la humedad y la interacción tiempo-humedad tienen un efecto estadísticamente significativo ($p=0.0018$ y 0.0035 , respectivamente) sobre la fracción de ADL y de AR ($p= 0.0017$ y <0.0001 , respectivamente); en esta última fracción, el tiempo también presentó un efecto estadísticamente significativo ($p=0.0006$). El proceso de gelatinización aumenta la digestibilidad de los almidones, ocasionando la disminución de ADL y AR del estado nativo al gelatinizado; además, en este proceso se pierde la estructura granular debido al hinchamiento ocasionado por la cocción (Zhang et al., 2008a). Chung y colaboradores (2009) reportaron aumentos en las fracciones de ADL y AR en almidones de maíz, chícharo y lentejas modificados por HMT, valores hasta de 4.7 % para ADL y 11.2 % para AR. Estos aumentos en las fracciones de interés nutracéutico cuando el almidón fue analizado en estado gelatinizado, es decir fracciones termoestables de ADL y AR, se relacionaron con la estabilidad de las interacciones amilosa-amilosa, la cuales indicaron ser más fuertes que las amilosa-amilopectina o amilopectina-amilopectina, y que restringen parcialmente el acceso de las cadenas de almidón a la hidrólisis enzimática.

En la digestibilidad del almidón influyen diferentes factores entre los que se encuentra la relación amilosa/amilopectina, longitud de estas cadenas, arreglo cristalino, tamaño y área superficial del gránulo, siendo la estructura granular cristalina el factor más importante (Zhang y Oates, 1999). La digestibilidad se vio afectada con la aplicación de los tratamientos hidrotérmicos, modificando así la proporción de ADR, ADL y AR de un almidón nativo.

Dando prioridad a los resultados de almidón modificado HMT en estado gelatinizado, en base a que en esta forma es principalmente consumido en los alimentos, y buscando porcentajes de AR cercanos al 30 %, se planteó un diseño central compuesto con dos puntos al centro en el tratamiento número 8, con 35 % de humedad y 8.5 h de calentamiento, el cual resultó estar más acorde a los

requerimientos anteriormente descritos (AR= 29.3 % en estado gelatinizado). La finalidad de este diseño fue encontrar modelos estadísticos que permitieran predecir y optimizar los porcentajes de ADL y AR. Los resultados se presentan en el cuadro 7.

Cuadro 7. Fracciones de digestión de almidón modificado (HMT) sometido a diferentes condiciones de humedad y tiempo de calentamiento, previamente gelatinizado.

Tratamiento	H (%)	t (h)	Almidón gelatinizado	
			ADL (%)	AR (%)
1	30	6.5	11.5±0.2	29.5±1.5
2	30	8.5	6.5±0.3	31.6±0.5
3	30	10.5	3.1±0.6	35.9±1.5
4	35	6.5	10.9±0.7	27.0±0.2
5	35	8.5	5.3±0.5	30.9±0.6
6	35	8.5	5.3±0.1	30.7±0.6
7	35	10.5	16.9±0.3	26.5±0.2
8	40	6.5	10.2±1.0	13.9±0.5
9	40	8.5	9.3±0.2	18.0±0.8
10	40	10.5	7.9±0.5	16.8±0.6

Los valores representan la media de tres repeticiones± error estándar

H= porcentaje de humedad; t= tiempo de calentamiento expresado en horas (h); ADL= porcentaje de almidón de digestión lenta; AR= porcentaje de almidón resistente.

En el diseño central compuesto, el tratamiento con 30 % de humedad y 10.5 h de calentamiento presentó menor fracción de ADL (ADL=3.1 ± 0.6 %), mientras que el máximo fue con 35% de humedad y 10.5 h (ADL=16.9 ± 0.3 %); esta respuesta presentó bajos valores en el punto central evaluado (H: 35 %; t: 8.5 h); aparentemente el comportamiento de esta variable no arrojó una superficie que represente valores máximos, ya que desde el punto central de los factores de

variación hacia los niveles máximos y mínimos tuvo un comportamiento variable, en los que aumentó y disminuyó según la interacción de los niveles de humedad y tiempo de calentamiento; en ambos casos se observó que independiente de la humedad (30 o 40 %) cuando el tiempo de calentamiento se aumentaba, la respuesta de ADL disminuía, situación que no se presentó en el nivel de 35 % de humedad, ya que el tiempo de calentamiento que presentó mayor fracción de ADL fue a 10.5 h.

En cuanto al AR, el valor mínimo se obtuvo con 40 % de humedad y 6.5 h de calentamiento ($AR=13.9 \pm 0.5$ %), mientras que el máximo fue con 30 % de humedad y 10.5 h ($AR=35.9 \pm 1.5$ %). En estos resultados se puede observar el efecto estadístico significativo lineal ($p<0.01$) y cuadrático ($p<0.05$) de la humedad sobre el AR. Los valores menores de AR se presentaron con 40 % de humedad, lo que indica que a mayores cantidades de agua en el tratamiento HMT menor fracción de AR; esto puede deberse a que la cantidad de agua añadida al sistema y la alta temperatura de proceso, causan un desarreglo molecular al interior del gránulo de almidón, desestabilizando las interacciones amilosa-amilosa, amilosa-amilopectina y amilopectina-amilopectina, lo que conlleva a una mayor susceptibilidad enzimática. En los niveles de humedad de 30 y 35 %, las fracciones de AR se encontraron en un rango entre 26.5 y 35.9 %, parámetros deseados para obtener un ingrediente con características nutracéuticas.

6.3.1 Modelamiento estadístico de la fracción de almidón de digestión lenta (ADL).

De los resultados de ADL presentados en el cuadro 7, se realizó un análisis de superficie de respuesta para obtener un modelamiento estadístico que permitió predecir la fracción de ADL.

En cuanto a los parámetros de validación del modelo, el R^2 tuvo un valor de 0.95 y R^2 ajustado de 0.87, indicando un ajuste del 87 % del modelo a los datos

experimentales. El análisis de varianza (ANOVA) demostró que existe un efecto estadístico significativo del modelo ($p= 0.033$), indicando que al menos uno de los parámetros estimados tiene un efecto importante sobre los resultados de ADL. El modelo estadístico está representado por la ecuación 9:

$$\text{ADL (\%)} = 5.8 + 1.06H - 2.9t + 1.52Ht + 1.56H^2 + 1.05t^2 \quad (9)$$

Donde ADL: almidón de digestión lenta; H: humedad (%); t: tiempo (h).

En la caracterización del punto estacionario, la solución resultó ser un mínimo, con valores críticos en los niveles 27.2 % y 13.5 h para la humedad y el tiempo, respectivamente, teniendo como respuesta 1.3 % de ADL. En la figura 7 se puede observar la superficie de respuesta para ADL. Concordante con un punto estacionario mínimo, los eigenvalores obtenidos son positivos (2.1 y 0.50), representados por las siguientes ecuaciones 7 y 8 de eigenvectores (Ecuaciones 10 y 11):

$$W_1: 0.81H + 0.58t \quad (10)$$

$$W_2: -0.58H + 0.81t \quad (11)$$

El comportamiento de la respuesta, según los eigenvectores, indica que al aumentar el tiempo de calentamiento resulta en una disminución en el porcentaje de ADL, situación inversa a la encontrada para la humedad, la cual debe disminuir para presentar el mismo efecto.

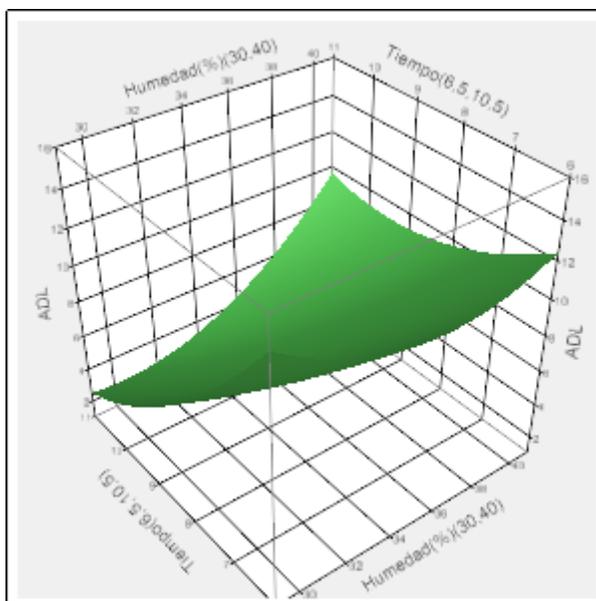


Figura 7. Superficie de respuesta para la fracción de almidón de digestión lenta (ADL).

6.3.2 Modelamiento estadístico de la fracción de almidón resistente

Para el modelamiento estadístico de la fracción de AR, se encontraron los siguientes parámetros de validación del modelo: R^2 de 0.95 y R^2 ajustado de 0.90, indicando que hay una representatividad del 90 % del modelo hacia los resultados experimentales. El ANOVA presentó tener un valor p de 0.0069, lo cual expresa que existe un efecto estadísticamente significativo de la humedad y el tiempo de calentamiento sobre la fracción de AR. De los parámetros estimados del modelo, la humedad y el factor cuadrático de ésta resultaron tener un efecto estadístico (valores p de 0.0009 y 0.0464, respectivamente).

El modelo estadístico para AR está representado por la ecuación 12:

$$AR (\%)= 29.89-8.05H+1.44t-0.89Ht-4.12H^2-2.19t^2 \quad (12)$$

Donde H: humedad (%); t: tiempo de calentamiento (h); AR: fracción de almidón resistente (%).

En la caracterización del punto estacionario, la solución resultó ser un máximo (Figura 8), con valor crítico en los niveles 29.8 % y 9.57 h de humedad y tiempo de calentamiento, respectivamente, para un valor predicho de 34.4 % de AR. De acuerdo a lo anterior, un punto estacionario máximo tiene eigenvalores negativos; para este modelo estos tuvieron valores de -2.09 y -4.22, representados por los siguientes eigenvectores (Ecuaciones 13 y 14):

$$W_1: -0.21H+0.97t \quad (13)$$

$$W_2: 0.97H+0.21t \quad (14)$$

Según los eigenvectores anteriores, aumentos en la humedad resultan en una disminución de la fracción de AR, mientras que el tiempo debe disminuir para lograr el mismo resultado.

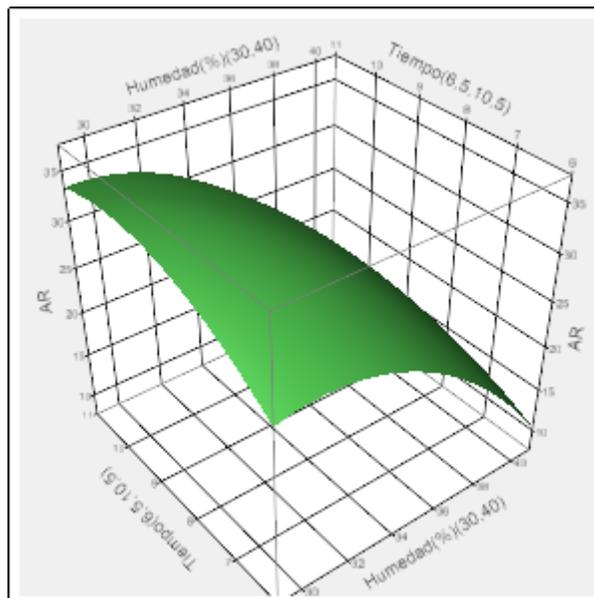


Figura 8. Superficie de respuesta para la fracción de almidón resistente (AR)

6.3.3 Superposición de curvas de nivel y funciones de deseabilidad para obtener el tratamiento óptimo.

Debido a que la superficie resultante para ADL no representa una solución de maximización, se emplearon dos tipos de análisis para establecer un tratamiento que cumpliera con los requerimientos establecidos anteriormente descritos (AR cercano al 30 % y el mayor porcentaje de ADL cuando el almidón se encuentra en estado gelatinizado). El primero de ellos y más aplicado cuando se tienen dos respuestas medidas simultáneamente es la superposición de curvas de nivel, las cuales se presentan en la figura 9; en esta figura se pueden observar las curvas de nivel para ADL (en color rojo) y AR (en color azul). En la parte izquierda superior de la figura se encuentra la región óptima para AR y una región mínima para ADL; sin embargo, cuando se fijan niveles de tiempo menores de 9 h con humedades entre 30 y 32.5 %, se obtienen valores mayores de ADL, cumpliendo el requerimiento de AR aproximado a 30 %.

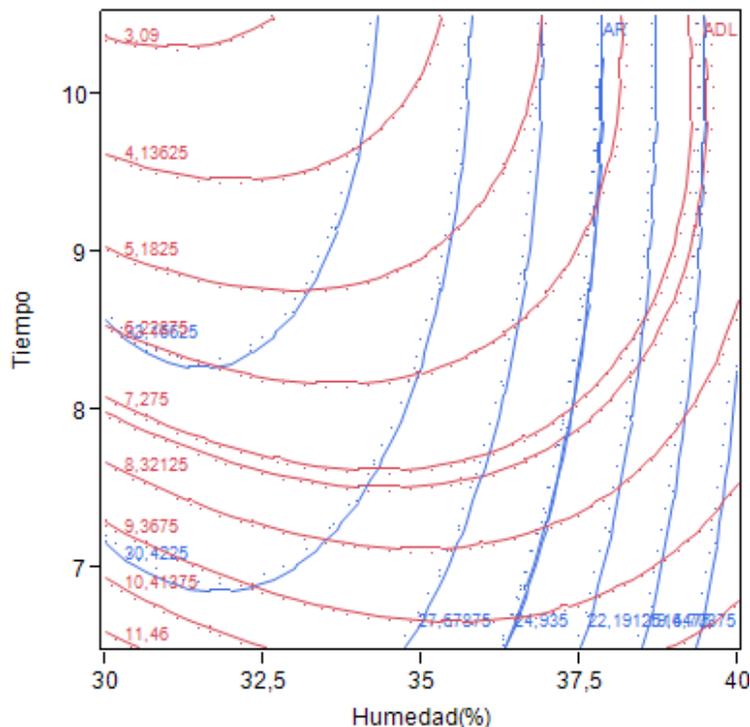


Figura 9. Curvas de nivel superpuestas para las fracciones de almidón de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR)

El segundo análisis se realizó aplicando funciones de deseabilidad, con AR mayor o igual a 29 % y ADL mayor o igual a 12.5 %. Dentro de las condiciones de deseabilidad se establecen valores para las respuestas requeridas entre 0 y 1, siendo 0 la respuesta menos deseada y 1 la que más cumple con los valores ideales. La aplicación de la función de deseabilidad, según los parámetros fijados, fue determinada de la siguiente forma: respuestas de ADL de 3, 13.1 y 16.3 % se establecieron con deseabilidad de 0.066, 0.964 y 0.99, respectivamente; en el caso de AR, las respuestas de 12.5, 33.99 y 37.5 % se establecieron con deseabilidad del 0.066, 0.97 y 0.98 (Figura 10). En los dos análisis, los niveles indicados para cumplir con estos requerimientos fueron de 32.2 % de humedad y 6.5 h de calentamiento a 100 °C, para obtener una respuesta predicha de 29 % de AR y 12 % de ADL. Con estos niveles de humedad y tiempo de calentamiento, la deseabilidad corresponde al 89.2 % (Figura 10).

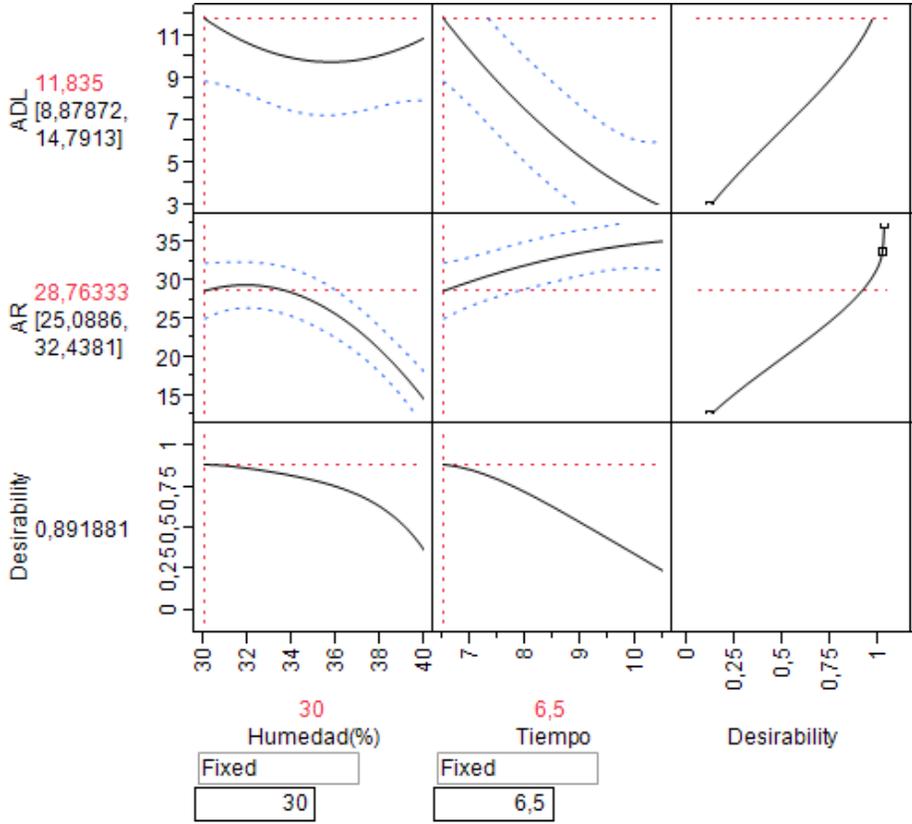


Figura 10. Optimización de almidón de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR) mediante funciones de deseabilidad.

El tratamiento con las condiciones de 32.2 % de humedad y 6.5 h de calentamiento fue realizado por triplicado, determinándose sus fracciones de digestión para compararlos con el valor predicho y, posteriormente, a este almidón se le realizaron los análisis moleculares y estructurales para relacionarlos con su digestibilidad.

En el cuadro 8 se pueden observar los resultados de la digestibilidad del tratamiento seleccionado como vía para validar los modelos estadísticos. Los resultados de las fracciones de ADL y AR obtenidos experimentalmente son similares a los predichos por la función de deseabilidad y por la superposición de curvas de nivel, lo que indica los modelos encontrados si permiten predecir dichas fracciones.

Cuadro 8. Fracciones de digestión de almidón nativo y modificado (HMT) de plátano Morado tratado bajo condiciones óptimas de humedad y tiempo de calentamiento

Muestra	H (%)	t (h)	Crudo		Gelatinizado	
			ADL	AR	ADL	AR
Almidón HMT	32.2	6.5	13.6±0.7	59.9±1.5	12.1±0.6	30.7±0.6
Almidón nativo			6.5±0.4	89.4±0.4	7.5±1.0	12.7±0.5

Los valores representan la media de tres repeticiones ± error estándar

H= porcentaje de humedad; t= tiempo de calentamiento expresado en horas (h); ADL= porcentaje de almidón de digestión lenta; AR= porcentaje de almidón resistente.

El incremento en las fracciones ADL y AR sugiere que algunas interacciones formadas durante HMT se conservan después de la gelatinización, de este modo se restringe parcialmente el acceso enzimático para hidrolizar las cadenas del almidón. Se ha reportado que las interacciones más fuertes formadas durante el

tratamiento hidrotérmico son entre cadenas de amilosa, las cuales requieren de mayor temperatura para ser alteradas.

El incremento en ADL puede atribuirse a la organización de dobles hélices aumentada por el tratamiento hidrotérmico, la cual está evidenciada en el aumento de la entalpía de gelatinización y el aumento del porcentaje de cristalinidad expresado en la difracción de rayos X y en la espectroscopía IRTF. Los aumentos en la cantidad de AR, cuando el almidón se lleva a la gelatinización, reflejan la estabilidad de ciertas interacciones entre las cadenas del almidón, lo cual fue visible al analizar las muestras de almidón por CDB, donde las propiedades térmicas de gelatinización aumentaron en sus valores significativamente.

O'Brien y Wang (2008) postularon que almidones con estructura cristalina tipo B (tubérculos y almidones con alto porcentaje de amilosa) o tipo A+B, tienen puntos de ramificación en mayor proporción en las regiones amorfas del gránulo, lo que lo provee de una mayor estructura cristalina, que lo hace más resistente a la hidrólisis por las enzimas digestivas.

VII. CONCLUSIONES

El tratamiento HMT del almidón de plátano Morado permite la obtención de almidón con características nutraceuticas, al inducir el aumento de fracciones de almidón de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR) bajo ciertas condiciones específicas de humedad y tiempo de calentamiento. Con el análisis de superficie de respuesta se encontró que no todas las condiciones de humedad y tiempo de calentamiento son favorables para obtener aumentos considerables en dichas fracciones; sin embargo, se lograron obtener modelos estadísticos a partir de los cuales se puede predecir las respuestas de ADL y AR. El mejor tratamiento para obtener fracciones de interés tanto de ADL como AR fue a 32.2 % de humedad y 6.5 h de calentamiento, obteniendo una fracción de almidón nutraceutico mayor al 40 % con un incremento del 100 %, respecto al almidón nativo.

Esta resistencia a la digestión de almidón modificado por HMT es debido al ordenamiento, tanto de corto como de largo rango; el primer caso se ve evidenciado en el fortalecimiento y organización de dobles hélices, observado en los incrementos en la intensidad de algunas bandas en la espectroscopía IRTF y por los incrementos en las propiedades térmicas de gelatinización, en especial ΔH , la cual sugiere una estructura de dobles hélices más organizadas que en el almidón nativo. En general, el ordenamiento de largo rango fue notable gracias al incremento de la cristalinidad.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Adebowale, K. O., Henle, T., Schwarzenbolz, U., Doert, T. 2009. Modification and properties of African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa* Hochst. Ex. A. Rich.) Harms starch. I: Heat moisture treatments and annealing. *Food Hydrocolloids*. 23: 1947-1957.

Agama-Acevedo, E., Rodríguez-Ambriz, S.L., García-Suárez, F.J., Gutierrez-Méraz, F., Pacheco-Vargas, G., Bello-Pérez, L.A. 2014. Starch isolation and partial characterization of commercial cooking and dessert banana cultivars growing in México. *Starch/Stärke*. 66: 337-344.

Agama-Acevedo, E., Núñez-Santiago, M.C., Alvarez-Ramirez, J., Bello-Pérez, L.A. 2015. Physicochemical, digestibility and structural characteristics of starch isolated from banana cultivars. *Carbohydrate Polymers*. 124: 17-24.

Amaya, F.C., Osorio-Díaz, P., Agama-Acevedo, E., Yee-Madeira, H., Bello-Pérez, L.A. 2011. Physicochemical and digestibility properties of Double-Modified Banana (*Musa paradisiaca* L.) Starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59: 1376-1382.

Association of official analytical chemist, (AOAC). 1984. Fourteenth edition, Arlington, Virginia, USA.

Aurore, G., Parfait, B., Fährasmane, L. 2009. Bananas, raw materials for making processed food products. *Food Science and Technology*. 20: 78-91.

Badui, S. 1996. Química de los alimentos. Longman de México S.A de C.V. ed. México D.F

Bello-Pérez, L. A., Méndez-Monatealvo, G., Solorza-Feria, J. 2002. Estructura molecular de almidones. Memorias de Investigación 2002. CeProBi-IPN, México.

Bello-Pérez, L.A., Aparicio-Sanguilan, A., Méndez-Montalvo, G., Solorza-Feria, J., and Flores-Huricochea, E. 2005. Isolation and partial characterization of mango (*Mangifera indica* L.) starch: morphological, physicochemical and functional studies. *Plant Foods for Human Nutrition*. 60: 7-12.

Berry, C.S. 1986. Resistant starch, formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fiber. *Journal of Cereal Science*. 4: 301-314.

Biliaderis, G. 1991. The structure and interactions of starch hydrolyses on network properties. *Cereal Chemistry*. 67: 240-246.

Buleon, C. 1988. Gelation and crystallization of maize starch after pasting, drum-drying and extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*. 7: 123-134.

Case, S.E., Capitani, T., Whaley, J.K., Shi, Y.C., Trzasko, P., Jeddcoat, R., Goldfarb, H.B. 1998. Physical properties and gelation behavior of a low amylopectin maize starch and other high amylose maize starches. *Journal of Cereal Science*. 27: 301-314.

Castaño Tostado, E., Domínguez Domínguez, J. 2010. *Diseño de Experimentos: Estrategias y Análisis en Ciencia y Tecnología*. Primera edición. p 303-334. Universidad Autónoma de Querétaro. México.

Chung, H.J., Liu, Q., Hoover, R. 2009. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers*. 75: 436-447.

Collado, L. S., y Corke, H. 1999. Heat-moisture treatment effects on sweet potato starches differing in amylose content. *Food Chemistry*. 65: 339-346.

Colonna, P., Leloup, V., Buleon, A. 1992. Limiting factors of starch hydrolysis. *European Journal of Clinical Nutrition*. 46: S17-S32.

Cooke, D. y Gidley, M.J. 1992. Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinization: origin of the enthalpic transition. *Carbohydrate Research*. 227: 103-112.

CRIM, *Centro Regional de Investigaciones Multidisciplinarias*. 2006. Yautepec: Suelos Agropecuarios, Universidad Nacional Autónoma de México. México. Pág: 337-348. Disponible en:
http://www.crim.unam.mx/drupal/crimArchivos/Colec_Dig/2006/Manuel_A_Guerrero/Yautepec.pdf. Visitado del 7 de Abril de 2014.

Cummings, J.H., Stephen, A.M. 2007. Carbohydrate terminology and classification. *European Journal of Clinical Nutrition*. 61 (Suppl 1): S5-S18.

Cummings J.H., Mann J.I., Nishida C., Vorster, H.H. 2009. Dietary fiber: an agreed definition. *Lancet*. 373: 365-366.

Curá, J.A., Jansson, P.E., Krisman, C.R. 1995. Amylose is not strictly linear. *Starch/Starke*. 47: 207-209.

Donovan, J.W. 1979. Phase transitions of the starch-water system. *Biopolymer*. 18: 263-268.

Dufour, D., Giraldo, A., Gibert, O., Sanchez, T., Reynes, M., Gonzalez, A., Fernandez, A., Pain, J.P., Diaz, A., 2009. Differentiation between cooking bananas and dessert bananas. Morphological and compositional characterization of

cultivated Colombian Musaceae in relation to consumer preferences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57 (17): 7857-7869.

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

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

Faisant, N., Gallant, D.J., Bouchet, B., Champ, M. 1995. Banana starch breakdown in the human small intestine studied by electron microscopy. *European Journal of Clinical Nutrition*. 49: 98-104.

Firmin, A. 1991. Chemical and physical changes in plantains (*Musa paradisiaca*) during ripening. *Tropical Science*. 3: 183-187.

Flores-Gorosquera, E., García-Suarez, F., Flores-Huicochea, E., Núñez-Santiago, M.C., González-Soto, R.A., Bello-Pérez, L.A. 2004. Rendimiento del proceso en la extracción de almidón a partir de frutos de plátano (*Musa paradisiaca*). Estudio en planta piloto. *Acta Científica Venezolana*. 55 (1): 86–90.

García-Mata, R., Gonzales-Machomorro, M.F., García-Sánchez, R.C., Mora-Flores, J.M., González-Estrada, A., Martínez-Damián, M.A. 2013. El mercado del plátano (*Musa paradisiaca*) en México, 1971-2017. *Agrociencia*. 47: 399-410.

González-Soto, R.A., Mora-Escobedo, R., Hernández-Sánchez, H., Sánchez-Rivera, M., Bello-Pérez, L.A. 2007. The influence of time and storage temperature on resistant formation from autoclaved debranched banana starch. *Food Research International*. 40: 304-310.

Goñi, I., Garcia-Alonso, A., Saura-Calixto, F. 1997. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*. 17: 427-437.

Granfeldt, Y., Drews, A., Björck, I. 1995. Arepas made from high amylose corn flour produce favorably low glucose and insulin responses in healthy humans. *Human and Clinical Nutrition*. 125(3): 459-465.

Guilbot, A., Mercier, C. 1985. In: O. Aspinall (Ed.) *the Polysaccharides*. p 209-282. Academic press, New York.

Gunaratne, A., Hoover, R. 2002. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydrate Polymers*. 49: 425–437.

Hernández-Jaimes, C., Bello-Pérez, L.A., Vernon-Carter, E.J., Alvarez-Ramirez, J. 2013. Plantain starch granules morphology, crystallinity, structure, transition, and size evolution upon acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*. 95: 207-213.

Hoover, R., Manuel, H. 1996. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of normal maize, waxy maize, dull waxy maize and amylo maize V starches. *Journal of Cereal Science*. 23: 153-162.

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

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2012. *El Sector alimentario en México 2012*. Número 26.

Jacobs, H., Delcour, J.A. 1998. Hydrothermal modifications of Granular Starch, with Retentions of the Granular Structure: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46 (8): 2895-2905.

Jane, J. L., Kasemsuwan, T., Leas, S., Zobel, H., Robyt, J.F. 1994. Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. *Starch/Stärke*. 46: 121-129.

Jane, J.L., Wong, K., McPherson, A.E. 1997. Branch-structure difference in starches of A- and B X-ray patterns revealed by their Naegeli dextrans. *Carbohydrate Research*. 300: 219-227.

Jane, J. L. in: BeMiller, J., Whistler, R. (Eds.). 2009. Structural characteristics of starch granules II. p 193-227. Academic Press, New York.

Jiang, H., Campbell, M., Blanco, M., Jane, J.L. 2010. Characterization of maize amylose-extender (ae) mutant starches. Part II: Structures and properties of starch residues remaining after enzymatic hydrolysis at boiling-water temperature. *Carbohydrate Polymers*. 80(1): 1-12.

Jiranuntakul, W., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., Pucha-arnon, S., Uttapap, D. 2011. Microstructural and physicochemical properties of heat-moisture treated waxy and normal starches. *Journal of Food Engineering*. 104: 246-248.

Karim, A.A., Noziah, M.H., Seow, C.C. 2000. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*. 71: 9-36.

Kawabata, A., Takase, N., Miyoshi, E., Sawayama, W., Kimura, T., and Kudo, K. 1994. Microscopic observation and X-ray diffractometry of heat/moisture-treated starch granules. *Starch/Stärke*. 46: 463-469.

Lee, K.Y., Lee, S.; Lee, H.G. 2013. Influence of storage temperature and autoclaving cycles on slowly digestible and resistant starch (RS) formation from partially debranched rice starch. *Starch/Stärke*. 65: 694-701.

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

Lenninger, A. L.; Nelson, D.L., Cox, M.M. 1985. *Las bases moleculares de la estructura y Función celular-2da Ed.* Barcelona, Omega.

Lescot, T. 2008. La diversité génétique des bananaiers en chiffres. *Fruitrop*. 155: 29-33.

Lineback, D.R., Rasper, V.F. *Wheat Carbohydrates*. 1988. In: Y. Pomeranz (Ed.) *wheat: Chemistry and technology Vol I*. p 277-372. American Association of Cereal Chemists Inc, St. Paul Minnesota.

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

Mangala, S. L., Udayasankar, K., Tharanathan, R. N. 1999. Resistant starch from processed cereals: The influence of amylopectin and non-carbohydrate constituents in its formation. *Food Chemistry*. 64: 391-396.

Marchal L.M., Zordenvan, J., Bergsma, J., Beeftink, H.H., Tramper, J. 2001. Montecarlo simulation of alfa amylolysis of amylopectin potato starch. Part 1: modelling of the structure of amylopectin. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 24: 163-170.

Marsden, N. C., Grey, P. P. 1985. Enzymatic hydrolysis of cellulose in lignocellulosic materials. *Critical Reviews in Biotechnology*. 3: 235–276.

MEGAZYME. 2011. Total Starch Assay Procedure (Amyloglucosidase/ α -Amylase Method), K-TSTA 07/11.

Miles, M. J., Morris, V. J., Orford, P. D., Ring, S. G. 1985. The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrates Research*. 135: 271–281.

Millan-Testa, C.E., Mendez-Montealvo, M.G., Ottenhof, M.A., Farhat, I.A., Bello-Perez, L.A. 2005. Determination of the molecular and structural characteristics of okonia, mango and banana starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 495-501.

O'Brien, S., Wang, W.Y. 2008. Susceptibility of annealed starches to hydrolysis by alpha amylase and glucoamylase. *Carbohydrate Polymers*. 72: 597-607.

Offem, O.J., Thomas, O.O., 1993. Chemical changes in relation to mode and degree of maturation of plantain (*Musa Paradisiaca*) and banana (*Musa sapientum*) fruits. *Food Research International*. 26: 187-193.

Olayinka, O. O., Adebawale, K. O., and Olu-Owolabi, B. I. 2008. Effect of heat-moisture treatment on physicochemical properties of white sorghum starch. *Food Hydrocolloids*. 22: 225–230.

Ozturk, S., Koxsel, H., Kahraman, K. K. W., Ng, P. 2009. Effect of debranching and heat treatments on formation and functional properties of resistant starch from high-amylose corn starches. *European Food Research and Technology*. 229: 115–125.

Palma-Rodríguez, H. M., Agama-Acevedo, E., Mendez-Montealvo, G., Gonzalez-Soto, R. A., Vernon-Carter, E. J., Bello-Pérez, L. A. 2012. Effect of acid treatment on the physicochemical and structural characteristics of starches from different botanical sources. *Starch/Stärke*. 64: 115–125.

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

Park, J. T., Rollings, J. E. 1994. Effects of substrate branching characteristics on kinetics of enzymatic depolymerization of mixed linear and branched polysaccharides: I. Amylose/amylopectin α -amylolysis. *Biotechnology and Bioengineering*. 44: 792-800.

Perera, C., Lu, Z., Sell, J., Jane, J. 2001. Comparison and physicochemical properties and structures of sugary-2 corn starch with normal and waxy cultivars. *Cereal Chemistry*. 78: 249-256.

Pérez, E., Marín, J. 2009. Situación actual de las harinas de banano: Usos potenciales en la agroindustria nacional. *Producción Agropecuaria*. 2(1): 65-68.

Rodríguez-Damián, A.R., de la Rosa-Millán, J., Agama-Acevedo, E., Osorio-Díaz, P., Bello-Pérez, L.A. 2012. Effect of different thermal treatments and storage on starch digestibility and physicochemical characteristics of unripe banana flour. *Journal of Food Processing and Preservation*. 37: 987-998.

Rodríguez-García, M. E. 1995. Aplicaciones de la espectroscopia fotoacústica al estudio de propiedades térmicas y estructurales de biopolímeros y semiconductores, Tesis Doctorado, CINVESTAV-IPN, México.

Sagum, R., Arcot, J. 2000. Effect of domestic processing methods on the starch, non-starch polysaccharides and *in vitro* starch and protein digestibility of three varieties of rice with varying levels of amylose. *Food Chemistry*. 70: 107–111.

Sajilata, M.G., Singhal, R.S., Kulkarni, P.R. 2006. Resistant starch- A review. *Food Science and Food Safety*. 5: 1-17.

Shi, Y. C., Seib, P. A. 1992. The structure of four waxy starches related to gelatinization and retrogradation. *Carbohydrates Research*. 227: 131–145.

Shi, Y. C., Seib, P. A. 1995. Fine structure of maize starches from four wx-containing genotypes of the W64A inbred line in relation to gelatinization and retrogradation. *Carbohydrates Polymers*. 26: 141-147.

Shin, S. I., Kim, H. J., Ha, H. J., Lee, S. H., Moon, T. W. 2005. Effect of hydrothermal treatment on formation and structural characteristics of slowly digestible non-pasted granular sweet potato starch. *Starch/Stärke*. 57, 421-430.

Taggart, P. 2004. Starch as an ingredient: manufacture and applications. In: A.C. Eliasson (Ed.) *Starch in Food: Structure, functions and applications*. p 363-392. CRC press. Boca raton, Florida.

Tanner, S.F., Ring, S.G., Whittam, M.A., Bleton, P.S. 1987. High resolution solid state ¹³C N.M.R study of some α (1-4) linked glucans: the influence of water on structure and spectra. *International Journal of Biological Macromolecules*. 9: 219-224.

Utrilla-Coello, R.G., Bello-Pérez, L.A., Rodríguez, E., Vernon-Carter, E.J., Alvarez-Ramirez, J. 2013. Microstructure of retrograded starch: Quantification from lacunarity analysis of SEM micrographs. *Journal of Food Engineering*. 113: 775-781.

Utrilla-Coello, R.G., Rodríguez-Huezo, M.E., Carrillo-Navas, H., Hernández-Jaimes, C., Vernon-Carter, E.J., Alvarez-Ramirez, J. 2014. *In vitro* digestibility, physicochemical, thermal and rheological properties of banana starches. *Carbohydrates Polymers*. 101: 154-162.

van Soest, J.J.G., Tournois, H., de Wit, D., Vliegenthart, J.F.G. 1995. Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier Transform IR spectroscopy. *Carbohydrate Research*. 279: 201-214.

Varatharajan, V., Hoover, R., Liu, Q., Seetharaman, K. 2010. The impact of Heat-moisture treatment on the molecular structure and physicochemical properties of normal and waxy potato starches. *Carbohydrate Polymers*. 81: 466-475.

Whistler, R., BeMiller, J. 1997. *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*. p 241. Eagan Press, St. Paul, Minnesota.

Whistler, R.L. 1998. Banana Starch Production. U.S. Patent 5'797.985, August 25th, 1998.

Wongsagonsup, R., Varavinit, S., BeMiller, J.N. 2008. Increasing slowly digestible starch content of normal and waxy maize starches and properties of starch products. *Cereal Chemistry*. 85: 738-745.

Yadav, A. R., Mahadevamma, S., Tharanathan, R. N., Ramteke, R. S. 2007. Characteristics of acetylated and enzyme-modified potato and sweet potato flours. *Food Chemistry*. 103: 1119-1126.

Zavareze, E.d.R., Guerra Dias, A.R. 2011. Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate Polymers*. 83: 317-328.

Zamudio-Flores, P.B., Vargas-Torres, A., Gutiérrez-Meraz, F., Bello-Pérez, L.A. 2010. Caracterización fisicoquímica de almidones doblemente modificados de plátano. *Agro ciencia*. 44: 283-295.

Zeeman, S.C., Kossmann, J., Smith, A.M. 2010. Starch: Its Metabolism, Evolution, and Biotechnological Modification in Plants. *Annual Review of Plant Biology*. 61: 209-234.

Zhang, P., Whistler, R.L., BeMiller, J.N., Hamaker, B.R. 2005. Banana starch: production, physicochemical properties and digestibility-a review. *Carbohydrates Polymers*. 59: 443-458.

Zhang, G., Venkatachalam, M., Hamaker, B. R. 2006. Structural basis for the slow digestion property of native cereal starches. *Biomacromolecules*. 7: 3259-3266.

Zhang, G., Ao, Z., Hamaker, B. R. 2008. Nutritional property of endosperm starches from maize mutant: A parabolic relationship between slowly digestible starch and amylopectin fine structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 4686-4694.

Zhang, G., Sofyan, M., Hamaker, B. R. 2008a. Slowly digestible state of starch: Mechanism of slow digestion property of gelatinized maize starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 4695-4702

Zhang, B., Dhital, S., Gidley, M.J. 2013. Synergistic and antagonistic effects of α -amylase and amyloglucosidase on starch digestion. *Biomacromolecules*. 14: 1945-1954.

Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., Blanchard, C. 2002. Composition and functional properties of rice. *International Journal of Food Science and Technology*. 37: 849-868.

ABREVIATURAS

ΔH	Entalpía de transición térmica
%C	Porcentaje de cristalinidad
Å	Amstrong
Abs	Absorbancia
ACC	Almidón de cadenas cortas
ACL	Almidón de cadenas largas
ADL	Almidón de digestión lenta
ADR	Almidón de digestión rápida
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
AN	Almidón nativo
ANOVA	Análisis de varianza
AR	Almidón resistente
AT	Almidón total
b.s	Base seca
CC	Cadena corta de amilopectina
CDB	Calorimetría diferencial de barrido
CL	Cadena larga de amilopectina
Con A	Concavalina A
Da	Dalton
DMSO	Dimetil sulfóxido
DP	Despolimerización
DRX	Difracción de rayos X
<i>g</i>	gravedad centrifuga
GOPOD	Glucosa oxidasa/peroxidasa
H	Humedad
HMT	Tratamiento calor-humedad (Heat-Moisture Treatment)
IG	Intervalo de gelatinización ($T_f - T_i$)
IT	Intervalo de transición ($T_f - T_i$)
IRTF	Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier

KOH	Hidróxido de potasio
kV	kilo Volt
MEB	Microscopio electrónico de barrido
MSR	Metodología de superficie de respuesta
p	Valor p
t	Tiempo
T _i	Temperatura inicial de transición térmica
T _f	Temperatura final de transición térmica
T _p	Temperatura pico de transición térmica