



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Doctorado en Ingeniería de Materiales
Agregación en Gránulos de Almidón

TESIS
Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

Doctor en Ingeniería de Materiales
Presenta:

M. en C. Marcia Canónico Franco
Dirigido por:

Dr. Alberto Herrera Gómez

Dr. Alberto Herrera Gómez
Presidente

Dr. Gonzalo Ramos López
Secretario

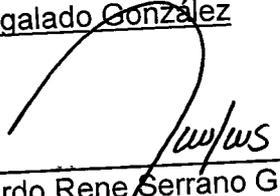
Dr. Gilberto Herrera Ruiz
Vocal

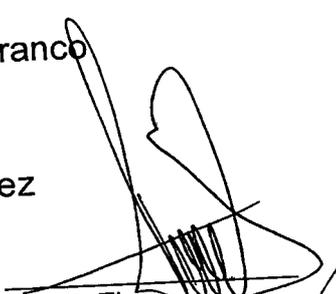
Dr. Gerardo Trápaga Martínez
Vocal

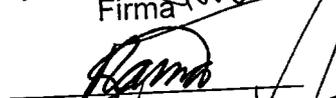
Dra. Martha Martín Polo
Vocal

Dr. Gabriel Luna Bárcenas
Suplente

Dr. Carlos Regalado González
Suplente

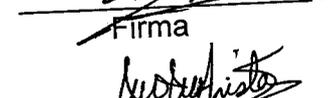

M. en I. Gerardo Rene Serrano Gutiérrez
Director de la Facultad de Ingeniería

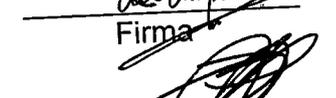

Firma


Firma

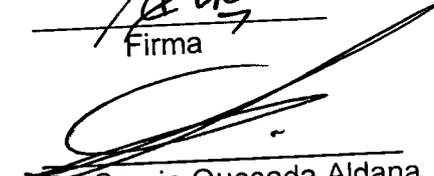

Firma


Firma


Firma


Firma


Firma


Dr. Sergio Quesada Aldana
Director de Investigación y
Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Noviembre 2004
México.

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

No. Adq. H69489

No. Título _____

Clas. TS

664.2

C2279

Resumen

Los materiales y alimentos que contienen elevados porcentajes de almidón sufren, al ser procesados, cambios en sus propiedades reológicas (textura). La textura es percibida como uno de las propiedades que determinan la calidad del producto final (pan, tortilla, almidones modificados, etc.). Ésta está relacionada con el tamaño de los gránulos de almidón, la composición del almidón (contenido de amilosa y amilopectina), la interacción entre los gránulos de almidón y otras sustancias presentes en el material (agua, lípidos, proteínas, celulosa, etc.), y la consecuente interacción entre los mismos gránulos. La carencia de una cuantificación clara de estas interacciones es un problema añejo, lo que ha impedido la liberación de la industria del almidón de su carácter artesanal, y establecer un modelo que correlacione cuantitativamente a sus propiedades macroscópicas con sus propiedades microscópicas. Las interacciones involucradas en la agregación de los gránulos de almidón no son entendidas. El objetivo de este trabajo fue el estudio de las interacciones gránulo-gránulo que producen la agregación entre ellos. Las muestras utilizadas consistieron de almidón de maíz grado reactivo mezclado con agua desionizada (50% en peso base húmeda). Imágenes de agregados indicaron que los agentes responsables de la formación de los agregados son gránulos gelatinizados. Se desarrolló un tratamiento térmico que garantizó la homogeneidad en el cocimiento a lo largo de cada muestra, y un alto control de la temperatura y tiempo de cocción. Esto permitió un estudio sistemático y cuantitativo del efecto del tiempo y temperatura del tratamiento sobre la agregación. La metodología desarrollada para cuantificar la agregación empleó solventes, dispersión de luz y análisis multidimensional. A través de un estudio sistemático de la cinética de desagregación, se estableció que los agregados están conformados en forma fractal: un grupo de almidones forman un pequeño agregado (Clase 1), la unión de varios de estos agregados forman un agregado de mayor tamaño (Clase 2) y así sucesivamente, observándose hasta cinco clases de agregados. Por otro lado, a través de un estudio de la cinética de agregación se cuantificó la energía de activación de las reacciones químicas involucradas en convertir al almidón en un agente agregante.

Palabras Clave: Almidón, Agregación, Desagregación, Distribución de tamaño de partícula, Dispersión de luz.

Abstract

Materials and foods containing a large percentage of starch undergo, changes in their rheological properties (texture) when they are processed. Texture is perceived as determinant regarding the quality of the final product (bread, tortilla, modified starch, etc.). It is influenced by many factors, such as the size distribution of the starch granules, their chemical composition, the interaction among the starch and other substances present in the material (e.g. water, lipids, proteins, cellulose, etc.), and the inevitable interaction among the granules themselves. The lack of a clear quantification of these interactions is an old issue, and has prevented the starch industry to get rid of its craftsmen character, and to establish a model capable of quantitatively correlate the macroscopic properties with their microscopic properties of these materials. The objective of this work was the study of the granule-granule interactions responsible for the aggregation among them. The samples consisted of maize starch (reactive degree) mixed 1:1 with water. Images of aggregates indicated that the agent responsible for the formation of the aggregates is gelatinized granules. The thermal treatment employed guaranteed the homogeneity of the cooking degree all along the sample, and a precise control of the cooking temperature and time. This allowed for a systematic and quantitative study of the effect of time and temperature of the thermal treatment of the aggregation. The methodology for the quantification of the aggregation (also developed for this study) employed solvents, light dispersion, and multidimensional analysis. Through a systematic study of the segregation kinetics, it was established that the aggregates are conformed in a fractal-like structure: a few granules conform an aggregate (Class 1), the union of various Class 1 aggregates conform another type of aggregate (Class 2), and so on, observing up to five classes. Through a study of the aggregation kinetics, it was possible to quantify the activation energy of the chemical reactions involved in the transformation of a starch granule into an aggregating agent.

Key Words: starch, aggregation, desegregation, particle size distribution, light scattering.

A mis Hijos

Marcia, Ezequiel, Paulina y Emilio Bajonero Canónico, pues ellos son el motivo por el cual yo me esfuerzo por ser mejor, y por su comprensión que hicieron posible terminara mis estudios de doctorado.

Agradecimientos

Al Dr. Alberto Herrera Gómez, por su dirección en la realización del presente proyecto, por compartir conmigo su experiencia, y por darme esta oportunidad.

Al Dr. Gonzalo Ramos López, por el apoyo brindado durante la realización de este proyecto.

Al Dr. Gerardo Trápaga Martínez, por el apoyo y asesoría brindadas durante la realización de este proyecto.

Al Programa de Posgrado de la Facultad de Ingeniería de la U.A.Q. por la confianza que depositaron en mi al permitirme ser su alumno.

A la Facultad de Química de la U.A.Q. por el apoyo económico brindado a través de la beca y descarga académica otorgada para la realización de este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado a través de la beca crédito.

Al Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV) Unidad Querétaro, por el apoyo y facilidades brindadas en la realización del presente trabajo.

Al Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada (CICATA) por el apoyo y facilidades brindadas en la realización del presente trabajo.

A la Q. F. B. Marcela Gaytán Martínez y al Q. en A. José Juan Vélez Medina Auxiliares de Investigación del Laboratorio de Materiales Orgánicos (CINVESTAV-QRO), por su valiosa colaboración y participación en los diversos análisis realizados en el presente trabajo.

Al Q. en A. Martín Adelaido Landaverde y al Ing. Electrónico José Eleazar Urbina Álvarez, del laboratorio de Caracterización de Materiales (Rayos X y Microscopía), por haber participado en el presente estudio.

Al Dr. José Martín Yáñez Limón (Profesor Investigador), por su participación y valiosa asesoría en el desarrollo del presente trabajo.

Mi más sincero agradecimiento a la Sra. Ma. Guadalupe Yolanda Romero Ríos, Secretaria ejecutiva del Posgrado en Ingeniería de la U. A. Q., por el invaluable apoyo secretarial, administrativo y de gestoría proporcionado durante la elaboración del doctorado, y sobre todo por su valiosa y sincera amistad.

Al Dr. Francisco Servando Aguirre Tostado por el valiosísimo apoyo brindado, por sus observaciones y comentarios realizados a mi trabajo, así como por su valiosa y sincera amistad.

A mis compañeros M en C. Sandra Mayen, al M en C. José Santos, a M. En C. Guadalupe Barreiro, por su valioso apoyo y sincera amistad.

Contenido

Resumen	ii
Abstract	iii
A mis Hijos.....	iv
Contenido	vii
Índice de Figuras	viii
Índice de Cuadros.....	x
1. Introducción	1
1.1 Motivación	1
1.2 El Almidón	2
1.3 Objetivo Principal	8
1.4 Objetivos Específicos.....	8
2. Metodología	9
2.1 Preparación de muestras.....	9
2.2 Medición de la agregación a través de la dispersión de luz	10
2.3 Cuantificación de agregados	11
2.4 Análisis de la distribución de tamaño de partícula	11
2.5 Otras técnicas convencionales	12
3. Estudio de los parámetros de preparación de las muestras	15
3.1 Efecto del líquido dispersante en la desagregación	15
3.2 Reproducibilidad	20
3.3 Efecto de la temperatura de cocimiento	21
3.4 Efecto de las sales durante la dispersión	23
3.5 Determinación del grado de gelatinización.....	25
3.6 Efecto del tiempo de cocción.....	27
4. Estudio de la Desagregación	29
4.2 Mecanismo de desagregación.....	32
4.3 Análisis de la evolución de la distribución	34
4.4 Estructura de los agregados.....	35
4.5 Modelación de la cinética de desagregación.....	36
5. Efecto de la temperatura de dispersión.....	41
5.1 Comportamiento	41
5.2 Análisis.....	43
6. Cinética de Agregación.....	48
6.1 Obtención de las concentraciones iniciales de las distintas clases de agregados	48
6.2 Análisis.....	51
7. Trabajo Futuro	57
8. Conclusiones	58
9. Bibliografía.....	60

Índice de Figuras

Figura 1.1.	Componentes del almidón. a) Amilosa: polímero lineal, flexible compuesto de residuos de D-glucosas unidas por enlaces $\alpha - (1 \rightarrow 4)$. b) Amilopectina: polímero ramificado compuesto por residuos de D-glucosas unidas por enlaces $\alpha - (1 \rightarrow 4)$ y $\alpha - (1 \rightarrow 6)$.	4
Figura 2.1.	Arreglo experimental para la medición de distribución de tamaño de partícula a través de la dispersión de luz láser.	10
Figura 3.1.	Fotografías de microscopía óptica de almidón cocido a 65°C dispersado en solventes con distinta constante dieléctrica: a) agua b) glicerol c) etanol, d) isopropanol.	17
Figura 3.2.	Distribución de Tamaño de Partícula para muestras de almidón cocidas a 65°C y dispersadas en glicerina, agua, etanol e isopropanol.	18
Figura 3.3.	Tamaño promedio de los gránulos individuales en función de la temperatura de cocción. En agua continúan absorbiendo ya que están en exceso de agua durante la medición.	19
Figura 3.4.	Distribución de tamaño de partícula para muestras de almidón crudo dispersadas a temperatura ambiente en diferentes solventes. La diferencia es debida a los distintos índices de refracción.	19
Figura 3.5.	Intervalo de valores de la distribución para muestras preparadas en diferentes días bajo las mismas condiciones (69°C, dispersión en agua), mostrando la reproducibilidad en las mediciones.	20
Figura 3.6.	Distribuciones de tamaño de partícula para muestras de almidón cocidas en agua a diferentes temperaturas por espacio de 5 minutos y dispersadas en agua.	22
Figura 3.7.	Distribuciones de tamaño de partícula para muestras de almidón cocidas a diferentes temperaturas por espacio de 5 minutos y dispersadas en etanol.	22
Figura 3.8.	Distribución de tamaño de partícula para muestras de almidón cocidas a 63°C y dispersadas 6 minutos en soluciones con diferentes concentraciones de CaCl_2 .	23
Figura 3.9.	Distribución de tamaño de partícula de muestras de almidón cocidas a 63°C, dispersadas en diferentes concentraciones de NaCl en a) 6 min y en b) 60 min.	24
Figura 3.10.	Distribuciones de tamaño de partícula para muestras cocidas a 63°C y dispersadas diferentes tiempos (4-210 minutos), en soluciones de etanol- NaCl : a) 0.018 moles/Lt. de NaCl , y b) 0.0375 moles/Lt. de NaCl .	24
Figura 3.11.	Entalpía de gelatinización obtenida por DSC, en función del contenido de humedad a partir de almidón crudo.	25
Figura 3.12.	Porcentaje de gelatinización en función de la temperatura de cocción por DSC.	26
Figura 3.13.	Porcentaje de gránulos que no presentan cruz de malta.	27
Figura 3.14.	Distribución de tamaño de partícula para muestras cocidas diferentes tiempos a 63°C y dispersadas en etanol por 6 minutos.	28
Figura 4.1.	a) Imagen ESEM de almidón cocido a 65°C y dispersado en etanol. Es posible observar, además de los gránulos individuales, agregados de dos Clases diferentes. b) Papel de un gránulo pequeño en la aglutinación de cuatro gránulos pequeños.	31
Figura 4.2.	Imagen de un agregado obtenida con un microscopio óptico en a) campo normal y b) con luz polarizada.	31
Figura 4.3.	Comparación de la distribución para dos muestras dispersadas en etanol cocidas a 65°C.	32
Figura 4.4.	Evolución de la distribución de tamaño de los agregados inducida por agitación	

(aproximadamente 600 rpm) a temperatura ambiente. 34

Figura 4.5.	a) Descomposición de una curva de distribución en Clases de agregados. b) Tamaño representativo de las Clases de agregados graficada en función del número de Clase	36
Figura 4.6.	Evolución de las poblaciones de las diferentes Clases de agregados con tiempos de dispersión de (1.5-390 min) para cada temperatura de cocción.	37
Figura 4.7.	Tiempo de vida de los agregados en función de temperatura de cocimiento.	39
Figura 5.1.	a) Distribución de tamaño de partícula de muestras de almidón cocidas a 63°C, dispersadas y medidas a diferentes temperaturas. b) Descomposición de las curvas de distribución de tamaño de partícula en Clases de agregados, de muestras de almidón cocidas a 63°C, dispersadas a 40 y 50°C. Las diferencias entre las distintas temperaturas son posiblemente debidas a cambios en el índice de refracción.	42
Figura 5.2.	Evolución de la distribución de tamaño de los agregados inducida por agitación a diferentes temperaturas	43
Figura 5.3.	Evolución de las poblaciones de los diferentes clases de agregados de muestras cocidas 5 minutos a 63°C, con tiempos de dispersión de (4-390 minutos) para cada temperatura de dispersión (10, 25, 30, 40 y 50°C).	45
Figura 5.4.	Evolución de las distintas clases de agregados obtenidas del análisis de las distribuciones de tamaño de partícula.	46
Figura 5.5.	Tiempo de vida de los agregados en función de la temperatura de dispersión.	47
Figura 6.1.	Evolución de la distribución de tamaño de los agregados inducida por el aumento en el tiempo de cocción.	50
Figura 6.2.	Representación de las concentraciones de las diferentes clases de agregados en función del tiempo de cocción.	51
Figura 6.3.	Representación esquemática del mecanismo de reacción propuesto para la agregación de gránulos de almidón	52
Figura 6.4.	Representación de $\ln k$ versus $1/T$.	55

Índice de Cuadros

Cuadro 1.1	Propiedades de los componentes del almidón (Biliaderis et. al., 1991)	3
Cuadro 3.1	Constantes dieléctricas de los solventes usados.	16
Cuadro 4.1	Diámetros aproximados de las distintas clases de agregados.	35
Cuadro 6.1	Constantes de velocidad de las reacciones químicas y su correspondiente energía de activación.	55

1. Introducción

1.1 Motivación

El almidón cocido en agua posee diferentes propiedades reológicas (textura, elasticidad, adhesividad): puede formar una masa suave, una masa chiclosa, o engrudo, dependiendo del grado de interacción entre los gránulos de almidón y el agua, y de la temperatura y tiempo de cocción. Las interacciones pueden ser de tipo polar o enlaces de H, y dan lugar a la formación de agregados que se definen como gránulos de almidón que están fundidos juntos o deformados de tal manera que no hay un límite físico separando las partes del gránulo. La necesidad de cuantificar la agregación de gránulos de almidón, surgió al intentar correlacionar ésta con las propiedades fisicoquímicas (viscosidad relativa y cristalinidad) y propiedades térmicas (temperatura de gelatinización, entalpía y capacidad calorífica) de alimentos con alto contenido de almidón. Bajo la hipótesis de que las propiedades reológicas y la agregación de gránulos de almidón son originadas por el mismo tipo de cambios fisicoquímicos y estructurales, se propuso medir esta interacción a través de la cuantificación de la agregación de los gránulos. Es importante resaltar que no existía en la literatura reportes de métodos de cuantificación de agregados, por lo que se desarrolló una metodología o protocolo.

La motivación del trabajo fue entender el mecanismo de agregación de gránulos de almidón para, en un futuro, desarrollar una técnica de caracterización que describa cuantitativamente (en contraste con artesanal) cambios en las etapas iniciales de elaboración de productos de almidón. El grado de agregación es medido por dispersión de luz, técnica que es capaz de dar información en forma rápida y detallada de la distribución de tamaño de partícula. Con ésta técnica y el protocolo desarrollado, se obtuvo información con más precisión y reproducibilidad de la que se lograría con Tamizado y Análisis de Imagen. En este trabajo se propone un procedimiento para medir la población y tamaño de los agregados de almidón, se demuestra también la correlación y la sensibilidad de la agregación con los parámetros de cocimiento, así como el efecto del solvente utilizado en la dispersión de las muestras de almidón cocidas en agua. Se propuso además un mecanismo de agregación y desagregación, de gránulos, de almidón, que reprodujo aceptablemente los datos experimentales obtenidos, lo cual permitió obtener los tiempos de vida media, las

constantes de velocidad de reacción y las energías de activación para la agregación de cada Clase de agregado.

Las propiedades reológicas y la agregación de almidón se producen por el mismo tipo de cambios fisicoquímicos y estructurales en los alimentos con altos contenidos de almidón. La cuantificación de agregados de almidón permitirá medir con rapidez y precisión los cambios en los alimentos con alto contenido de almidón.

1.2 El Almidón

1.2.1 Composición química

El almidón sirve de reserva energética en el reino vegetal y se encuentra en pequeños corpúsculos discretos que reciben el nombre de gránulos. El tamaño y la forma del gránulo son característicos de cada especie botánica. En un mismo cereal se distinguen varios tipos de gránulos; en general, los que se encuentran en la zona más exterior del endospermo son poliédricos, mientras que los del interior son redondos. Se ha reportado que los gránulos pequeños tienen una mayor solubilidad en agua y una alta capacidad de absorción de agua (Singhal y Kulkarni, 1988). Los almidones normales contienen alrededor de un 25% de amilosa. Algunas variedades seleccionadas de maíz ricas en amilosa, llegan a contener hasta un 85%, si bien las variedades habituales en el comercio contienen un máximo de 65%. En consecuencia estos almidones son difíciles de gelatinizar, porque algunos requieren temperaturas superiores a los 100°C. En el extremo contrario algunos almidones están constituidos exclusivamente por amilopectina. Estos son el maíz céreo, la cebada cerea y el arroz céreo o glutinoso. Estos, en solución dan lugar a pastas claras.

Cuadro 1.1 Propiedades de los componentes del almidón (Biliaderis et. al., 1991)

Propiedad	Amilosa	Amilopectina
Estructura molecular	Esencialmente lineal	Ramificada
Grado de polimerización	10 ³	10 ⁴ a 10 ⁵
Complejo con yodo	Azul (650 nm)	Púrpura (550 nm)
Afinidad de yodo	19-20 %	1 %
Estabilidad en solución acuosa	Retrograda fácilmente,	Estable
Digestibilidad (%)		
β-amilasa	70	55-60
β-amilasa y dextrinasa	100	100
Propiedades de película	fuerte	Quebradiza

1.2.2 Estructura química del almidón

La amilosa está formada por una cadena lineal de aproximadamente 500-6000 residuos de D-glucosa unidos por enlaces glucosídicos α - (1→4), repartidos en un número de cadenas que va de 1 a 20. Cada cadena presenta un grado de polimerización promedio de 500 unidades de glucosa (siendo el grado de polimerización el número de unidades de glucosa que se encuentran unidas en una cadena). Sin embargo, se ha demostrado la presencia de cierta cantidad de enlaces α -(1→6) en esta macromolécula (Hood, 1982). Dichas ramificaciones se encuentran de manera espaciada, lo que permite observar que la amilosa se comporte como un polímero lineal. Las propiedades de la molécula de amilosa se resumen en la Cuadro 1.1. Muchas de estas propiedades se pueden explicar en términos de su habilidad para adoptar diferentes conformaciones moleculares. Debido a su carácter lineal, la amilosa forma complejos con moléculas hidrofóbicas como el yodo, los ácidos grasos o los hidrocarburos. El acomplejamiento de la amilosa con estas moléculas produce un tipo de estructura helicoidal, formada con 6 unidades de glucosa por giro de la hélice. En éste tipo de complejos los grupos hidrofílicos de la cadena se orientan hacia el exterior y los hidrofóbicos hacia el interior de la cavidad (Guilbot y Mercier, 1983).

Dependiendo de la fuente la amilopetina es el principal componente en la mayoría de los almidones (entre 70-80%), alcanzando en ciertos casos niveles hasta de un 98-99% en los almidones tipo ceroso o waxy. Debido a esto, la amilopetina es quizás el componente que tiene mayor importancia en términos de las propiedades del almidón. En el Cuadro 1.1 se resumen las principales propiedades de la amilopetina. Debido a que la estructura y propiedades de la amilopetina contribuyen notablemente en la composición y funcionalidad del gránulo, esta molécula ha sido estudiada ampliamente en términos de su tamaño molecular, ramificación y longitud de las cadenas internas y externas (Zobel, 1988; Thurn y Burchard, 1985).

1.2.3 Cambios en el almidón producidos por tratamiento térmico

El gránulo de almidón está organizado en una estructura anillada, con las moléculas de amilopetina perpendiculares a los anillos y dirigidas hacia la superficie exterior del gránulo. Las moléculas de amilopetina se alinean a lo largo de un eje que se extiende desde el hilo del gránulo (el hilo es una hendidura que constituye el centro de nucleación alrededor del cual se desarrolla el gránulo) hasta el exterior del mismo. Las regiones de estas moléculas largas y ramificadas forman cristales. Los gránulos son birrefringentes, es decir, tienen dos índices de refracción por lo cual cuando se irradian con luz polarizada desarrollan la conocida "cruz de malta". Debido a la orientación regular de las regiones amorfas y cristalinas. Las regiones amorfas o no-cristalinas contienen a las moléculas de amilosa y secciones de moléculas de amilopetina que no están en los cristales. Cuando el gránulo de almidón absorbe agua las áreas amorfas se pueden mover más libremente dentro del gránulo (Hoseney et al., 1986).

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, pero se hinchan cuando se calientan en un medio acuoso. Inicialmente el hinchamiento es reversible y la birrefringencia del gránulo no se pierde. Sin embargo, cuando se alcanza cierta temperatura, el hinchamiento llega a ser irreversible y la estructura del gránulo se altera significativamente (Lai y Kokini, 1991). Este proceso es conocido como gelatinización y la temperatura a la cual ocurre se le conoce como temperatura de gelatinización. Cuando el gránulo alcanza esta temperatura pierde su birrefringencia, la amilosa se difunde hacia el agua y la amilopetina queda dentro del gránulo para finalmente perder su estructura. La amilosa fuera del gránulo

forma una malla y produce un gel. En general la solubilización de las moléculas de almidón, el hinchamiento e hidratación y la pérdida de la estructura granular son colectivamente definidos por el término gelatinización (Lund, 1984; Biliaderis, 1991a). Para una población de gránulos la temperatura de gelatinización varía en un intervalo de 5 a 10°C. Esta variación indica que las fracciones del gránulo muestran diferentes comportamientos de gelatinización. Las temperaturas de gelatinización reportadas para algunos almidones son: papa: 55-66°C; trigo: 52-63°C; maíz (con 25% de amilosa) 62-72°C, arroz 66-77°C y yuca 61-71°C (Guilbot y Mercier, 1985).

El hinchamiento de los gránulos de almidón que se presenta durante la gelatinización provoca que la viscosidad del medio se incremente. Las estructuras moleculares de los constituyentes del almidón contribuyen al incremento en la viscosidad. Inicialmente la gelatinización ocurre en las regiones del gránulo más accesibles que son las amorfas. Conforme la temperatura se incrementa los enlaces de hidrógeno intermoleculares que mantienen la integridad estructural de las regiones cristalinas se destruyen. Las moléculas de agua solvatan los grupos hidroxilos liberados y el gránulo continúa hinchándose. Como consecuencia de una severa destrucción de los enlaces de hidrógeno, el gránulo se hidrata completamente y finalmente la malla micelar se separa y difunde dentro del medio acuoso. Después de la destrucción de los gránulos, la viscosidad disminuye. El incremento de la viscosidad en las primeras etapas del calentamiento se debe principalmente a la liberación de la amilosa. En las últimas etapas, el incremento continuo de la viscosidad se debe a interacciones del material extragranular y al hinchamiento de los gránulos.

Se ha postulado (Biliaderis, 1991b) que son tres los procesos que constituyen el fenómeno de la gelatinización del almidón. Estos procesos están basados en la termodinámica de no-equilibrio:

- difusión de agua dentro de los gránulos de almidón,
- un proceso de fundición caracterizado por una transición hélice-enrollamiento que es facilitada por la hidratación e
- hinchamiento del gránulo como resultado de la desintegración de los cristales.

La gelatinización del almidón es un proceso obligado como un pretratamiento para convertir el almidón nativo a diferentes productos procesados como maltodextrinas, glucosa y alcohol (Lee y Kim, 1990). Los geles obtenidos una vez que el almidón ha sufrido la gelatinización presentan diversas propiedades las cuales van a depender del contenido de amilosa, amilopectina (Leloup y col., 1990), % de humedad y de la temperatura y tiempo de cocimiento.

En varios estudios se ha usado Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) para medir el calor específico del almidón durante el calentamiento. Noel y Ring (1992) evaluaron el calor específico como función de la temperatura y composición del almidón y explicaron las discontinuidades en términos de la transición vítrea. Hwang (1999) uso DSC para medir el calor específico aparente y el calor de gelatinización de almidón de maíz (Eastman Kodak Company, New Cork con 25% de amilosa) a diferentes temperaturas y con diferentes contenidos de humedad. Hwang determinó el grado de gelatinización para cada muestra de almidón midiendo el área bajo la curva de los termogramas de las muestras de almidón de acuerdo a Lund (1981), asignando un grado de gelatinización (D_g) de cero para el gránulo de almidón sin tratamiento y un grado de gelatinización del 100% al porcentaje de humedad a la cual ocurrió la gelatinización completa de la muestra (61.6%). La entalpía de la muestra totalmente gelatinizada (ΔH_T) se utilizó como referencia para determinar el grado de gelatinización de las mezclas de almidón, con la siguiente ecuación:

$$\text{Ec. 1.1} \quad D_g = \frac{\Delta H_T - \Delta H_m}{\Delta H_T}$$

donde ΔH_m es la entalpía requerida para gelatinizar la muestra con tratamiento previo. Cuando la cantidad de agua es limitada, no ocurre una gelatinización completa en el intervalo usual de temperatura; sin embargo, conforme la temperatura se incrementa los gránulos de almidón se vuelven progresivamente más móviles y eventualmente las regiones cristalinas se disuelven (Slade y Levine, 1991). Las propiedades termofísicas (temperaturas de gelatinización, entalpías de transición y capacidades caloríficas) y de transporte de materiales almidonosos son importantes en el análisis de ingeniería y evaluación de la calidad del producto asociado con el procesamiento y almacenamiento de alimentos como masa para pan, para tortillas, etc. La gelatinización del almidón es importante en los

procesos de: cocimiento, esterilización por calor, extrusión y deshidratación que sufren los alimentos con alto contenido de almidón.

El rango de temperatura de gelatinización de almidón de maíz normal (27 % de amilosa) es de 62-72°C (Noel et al., 1992). Pflugfelder (1988) reportó que en el intervalo 62-63°C el porcentaje de gránulos gelatinizados (cuantificados por microscopía óptica polarizada) semeja al correspondiente a masa de maíz para la fabricación de tortilla.

1.3 Objetivo Principal

El Objetivo Principal de este estudio fue cuantificar el efecto de los parámetros de los tratamientos térmicos sobre la agregación de los gránulos.

Para lograr esta cuantificación fue necesario atacar los siguientes objetivos

1.4 Objetivos Específicos

Objetivo 1 Desarrollar un protocolo reproducible de preparación de muestras

La uniformidad de la temperatura de cocimiento es de especial importancia durante el tratamiento térmico del almidón en condiciones limitadas de agua. Esto se debe a que los gránulos de almidón que se cuecen primero absorben el agua de sus alrededores, limitando la disponibilidad de agua a los gránulos aún crudos y exacerbando así las diferencias en el grado de cocción (Sección 2.1 y 2.1.2).

Objetivo 2 Encontrar una técnica adecuada de cuantificación de la agregación

Hasta antes de este estudio, la agregación no había sido una cantidad cuantificable, por lo que hubo que definir el sistema que se habría de estudiar (Secciones 2.3 y 3.1).

Objetivo 3 Dilucidar la estructura y mecanismo de agregación

Para cuantificar el efecto de los parámetros de cocimiento sobre la agregación, es necesario primero definir qué aspectos de la agregación se cuantificarán. Esta definición es imposible si no se conoce la estructura y mecanismo de formación de los agregados (Capítulo 4).

2. Metodología

2.1 Preparación de muestras

En esta sección se describe las condiciones de preparación de muestras que comparten todos los experimentos realizados. Los detalles de cada experimento se describen en la sección correspondiente.

2.1.1 Almidón

Las muestras de almidón se prepararon a partir de un mismo lote de almidón de maíz grado reactivo Sigma-Aldrich con aproximadamente 27% de amilosa y 73% de amilopectina. El contenido del frasco se homogenizó y se conservó a temperatura ambiente en un lugar seco durante el periodo que requirieron los experimentos. El contenido inicial de humedad estimado por pérdida de peso en estufa fue del 10%. Las muestras consistieron de 2.00g de almidón mezclado con 1.6mL de agua a temperatura ambiente, resultando muestras con contenido de humedad del 50%.

2.1.2 Cocimiento

Para minimizar gradientes de temperatura durante el cocimiento, la muestra de almidón agua al 50%, se homogeneizó dentro de la bolsa, obteniéndose una masa. La masa se extendió dentro de la bolsa de polietileno en forma de una película delgada de 0.5mm de espesor, 8cm de largo por 5 de alto. La bolsa se selló y se sumergió en un baño a temperaturas controladas de 60, 61.5, 63, 65, 67 y $69 \pm 0.1^\circ\text{C}$, los tiempos de cocción de las muestras fueron de 0.5 a 30 minutos, dependiendo del objetivo del experimento, finalmente las muestras fueron enfriadas dentro de un recipiente con agua a temperatura ambiente para detener el cocimiento.

2.1.3 Dispersión

El total de la muestra cocida en agua se colocó en un baso de precipitado de 250 ml con 90 mL de dispersante, se agitó con un agitador magnético (de 2 cm de largo por 0.6 cm de diámetro) sobre un plato de agitación. Para tener el agitador bien centrado y siempre en

el mismo lugar, se dibujo la base del baso de precipitado sobre el plato de agitación y se agitó la muestra a una velocidad controlada dentro del rango de 500-600 rpm.

2.2 Medición de la agregación a través de la dispersión de luz

Esta técnica se usa con éxito en industrias tales como la del cemento [Bumiller et al., 1998] y aerosol [Wang et al., 1998], y más recientemente en la industria alimenticia [Sahai et al., 2001]. Un haz de luz láser ilumina una región donde se encuentran las partículas suspendidas y un arreglo de fotoceldas provee la dependencia angular de la luz dispersada (ver Figura 2.1). Asumiendo una forma esférica de partículas (para los gránulos y agregados de gránulos de almidón). A través de un software, el patrón de dispersión es transformado en una distribución de tamaño de partícula. Los cálculos son realizados usando la teoría de dispersión de Mie [Craig et al., 1994] o alguna aproximación a ésta. Estos cálculos consideran que las partículas dispersantes de luz tienen una geometría esférica. Cuando las partículas no son esféricas, los resultados deben de interpretarse a través de diámetros efectivos que dependen de los detalles de la geometría de las partículas.

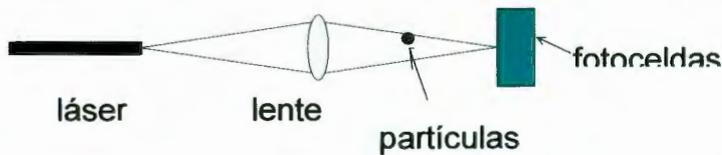


Figura 2.1. Arreglo experimental para la medición de distribución de tamaño de partícula a través de la dispersión de luz láser.

El grado de detalle en la distribución de tamaño de partícula que la dispersión de luz provee es mucho mayor del que se puede obtener por tamizado, ya que con ésta técnica se obtiene la separación discreta de partículas, mientras que con el granulómetro la separación abarca todos los tamaños comprendidos entre 0.03 y 500 μ m, permitiendo la realización de estudios que serían imposibles a través de tamizado [Loveland, 2000; Etzler, 1997]. Otra metodología empleada es el Análisis de Imágenes [Harrigan, 1997; Bechtel et al., 2000], la cual ofrece una mayor resolución que por tamizado, pero los tiempos para la acumulación de información pueden ser largos.

2.3 Cuantificación de agregados

Para la determinación del tamaño de partícula se empleó la técnica de dispersión de luz láser, usando un granulómetro comercial (Cilas 400). La dispersión así obtenida se hizo pasar por una malla No. 80 para retener partículas mayores que 500 μm (el tamaño de partícula que puede medir el granulómetro es de 0.03 a 500 micras) y después se colocó en el depósito del granulómetro con 400 mL de dispersante. El equipo se programó para agitar la muestra antes y durante la medición, hacer 20 mediciones del tamaño de partícula, mandar los datos al software y mostrar la distribución de tamaño de partícula. Automáticamente el equipo tira la muestra y lava con el mismo solvente que con el que realizó las mediciones.

2.4 Análisis de la distribución de tamaño de partícula

El análisis cuantitativo de las curvas obtenidas para las distribuciones de tamaño de partícula fue realizado través de un programa AAnalyzer (Herrera-Gómez, A., 1998, Herrera-Gómez, et al., 2001) capaz de efectuar una descomposición en picos usando curvas gaussianas, permitiendo variar la posición y ancho (FWHM) de los picos. Como lo menciona A. Herrera-Gómez, el análisis simultáneo de los datos permite extraer una gran cantidad de información, no visible en la primera distribución. Al hacer el ajuste simultáneo de todas las gráficas se obtiene una Chi cuadrada que indica que tan bueno ha sido el ajuste. Dependiendo de este valor se agregan o quitan picos, hasta que se obtienen Chi cuadrada del orden de 0.0003-0.005. El programa calcula el área bajo cada uno de los picos con los que se están ajustando las diez gráficas simultáneamente, y va buscando el centro que las ajusta mejor.

Se analizó un mínimo de tres muestras en cada uno de los tratamientos que se realizaron (una vez eliminadas las muestras que están por arriba o debajo del promedio, de tal manera que para algunos experimentos se corrieron más de cinco muestras) para el estudio del almidón. Del análisis cuantitativo se obtienen gráficas como la que se muestra en la Figura 3.2. El área de cada gaussiana se normalizó, es decir se sumo el área de todos los picos que ajustaron una distribución de tamaño de partícula y el área de cada pico se dividió entre el área total. Los datos de las áreas normalizadas de cada muestra (tres o más

muestras) se promediaron obteniendo así los datos experimentales que se muestran en las gráficas para el estudio de la cinética de desagregación, y de agregación.

2.5 Otras técnicas convencionales

2.5.1 Microscopía óptica

Se emplearon dos técnicas microscópicas: Microscopía Electrónica de Bajo Vacío (ESEM) y Microscopía Óptica. Las imágenes fueron preparadas dispersando 0.1 g de muestra en 100 mL de dispersante. Para microscopía óptica la solución se agitó con un agitador magnético durante 6 minutos, (para comparar los tamaños observados al microscopio con las mediciones de distribución de tamaño de partícula) y se colocaron dos gotas en un portaobjetos. Las ampliaciones para la observación fueron de 45 y 100x y las imágenes se adquirieron con una cámara fotográfica comercial de 35mm marca Reflex. La determinación de birrefringencia se realizó en tres imágenes conteniendo alrededor de 80 gránulos.

2.5.2 Microscopía electrónica

Para microscopía electrónica la muestra se agitó durante 1.5 min para conservar agregados de mayor tamaño. Para la observación se depositaron dos gotas en un portaobjetos conductor y después de evaporar el solvente, se introdujeron a la cámara de bajo vacío del ESEM. Se eligieron valores bajos de vacío, energía y corriente para minimizar las modificaciones en las muestras.

2.5.3 Calorimetría diferencial de barrido

Para encontrar el porcentaje de gelatinización máxima de la muestra de almidón crudo con humedad de 50 % (base seca), se prepararon muestras pesando en cápsulas de aluminio dos miligramos de almidón crudo, llevando a humedad de 22.33-84.95 % (base seca) adicionando agua desionizada. Las cápsulas de aluminio fueron selladas y la Calorimetría Diferencial de Barrido se hizo usando un modelo Pyris I marca Perkin Elmer, el intervalo de temperatura fue de 40 a 100°C con una velocidad de 5 °C/min.

Previo al análisis, las muestras de 10mg de almidón/agua al 50% preparado y cocido (Secciones 2.1 y 2.1.2) a diferentes temperaturas por 5 minutos fueron colocadas en

cápsulas de aluminio (Perkin-Elmer) y selladas herméticamente utilizando una prensa mecánica. Se utilizó un calorímetro diferencial de barrido (Perkin Elmer Modelo Pyris I) conectado a una computadora para control y análisis de datos. El intervalo utilizado fue de 40 a 100 °C con una velocidad de 5°C/min. Una vez alcanzada la temperatura final, el sistema se enfrió hasta 40°C nuevamente para cargar la siguiente muestra.

El equipo fue calibrado con estándares de Indio y Zinc tanto para la temperatura de fusión como para el área del pico correspondiente a la entalpía de fusión. Las muestras se corrieron por duplicado y se utilizó una celda vacía para obtener la línea base de operación. El grado de gelatinización fue determinado midiendo el área bajo la curva de los termogramas (Lund, 1981).

2.5.4 Análisis de la cinética de transformaciones

Las transformaciones que sufrieron los gránulos de almidón al agregarse y segregarse, fueron estudiadas a través de reacciones representadas por la ecuación estequiométrica $\alpha A + \beta B + \gamma C \rightarrow \lambda L$. En gran número de sistemas, la velocidad de reacción está dada por

$$\text{Ec. 2.1} \quad \frac{d[A]}{dt} = -k [A]^\alpha [B]^\beta [C]^\gamma$$

Donde k es la constante de velocidad de reacción, la cual depende de la temperatura, presión, del grado de dificultad para romper los enlaces químicos existentes y de crear condiciones de energía y geometría necesarias para formar otros nuevos, y del transporte de las especies reaccionantes desde y hacia el sitio de la reacción. En todos los casos considerados, si la reacción global consta de varias etapas en serie, la etapa más lenta de la serie es la que ejerce mayor influencia ya que controla la velocidad de la reacción. Un problema importante es determinar qué variables afectan a cada una de estas etapas y en qué grado. Sólo cuando se conoce la magnitud de cada factor, se obtiene una representación clara del efecto de estas variables sobre la velocidad de reacción y podemos extrapolar estas velocidades a condiciones nuevas y diferentes.

El concepto de que la velocidad de reacción química a una temperatura dada depende de la concentración fue generalizado por Guldberg y Waage en 1863. Ellos

establecieron la Ley de Acción de Masas, la cual establece que la velocidad a la que se produce una reacción química es proporcional a la concentración de cada uno de los reactivos. Guldberg y Waage demostraron que el equilibrio químico puede explicarse cuantitativamente para una reacción reversible suponiendo un equilibrio dinámico en el que la velocidad de reacción directa es igual a la velocidad inversa. En reacciones de una etapa, la ley de acción de masas puede aplicarse directamente a las concentraciones de los reactivos. Si la reacción procede a través de una serie de etapas sucesivas, esta ley debe aplicarse a cada etapa individual de la reacción.

En sistemas macroscópicos, lejos del cero absoluto, la velocidad de una reacción depende de la temperatura (T) a través de la relación de Arrhenius:

$$\text{Ec. 2.2} \quad k = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right)$$

Donde E_a es energía de activación de un mol de reacción, R es la constante universal de los gases, y A guarda la dependencia con el resto de las variables. Los valores de E_a típicamente están dentro del intervalo 50-200 KJ/mol.

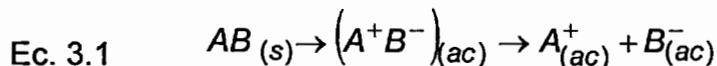
3. Estudio de los parámetros de preparación de las muestras

Para definir el sistema a estudiar se realizaron los siguientes estudios preliminares debido a que no existía ningún protocolo reportado en la literatura.

3.1 Efecto del líquido dispersante en la desagregación

Las muestras preparadas (Sección 2.1) se cocieron (Sección 2.1.2) durante 5min a temperatura de 65°C. Después de ser enfriadas se dispersaron (Sección 2.1.3) a temperatura ambiente durante 6 minutos. Los dispersantes usados fueron: agua, glicerina, etanol e isopropanol. El tiempo y temperatura utilizados en este estudio fueron escogidos como resultado de los experimentos preliminares, porque son los que permitieron observar diferencias significativas en todos los solventes.

En algunas disoluciones de electrolitos los iones pueden agruparse para formar pares iónicos



Es decir agrupaciones de iones que si bien se mantienen en solución no aportan la misma carga que si estuvieran totalmente libres. La posibilidad de que se formen este tipo de agrupaciones depende del solvente empleado. Para esto debe tenerse en cuenta que cuando se tienen dos especies de carga opuesta en solución existirá una fuerza de atracción entre ellas, que es inversamente proporcional a un parámetro termodinámico llamado constante dieléctrica del medio. Es decir que a mayor **constante dieléctrica** menor será esta fuerza de atracción y por lo tanto mayor la cantidad de iones libres. El agua es uno de los solventes con constante dieléctrica más alta, por lo tanto la mayoría de los sólidos iónicos se disuelven y disocian completamente. A continuación se muestran las constantes dieléctricas de los solventes utilizados en este trabajo.

Cuadro 3.1 Constantes dieléctricas de los solventes usados.

Solvente	Fórmula	Constante Dieléctrica
Agua	H ₂ O	78.54
Glicerina	(CH ₂) ₂ (CH)(OH) ₃	42.5
Metanol	CH ₃ OH	32.63
Etanol	CH ₃ CH ₂ OH	24.3
Alcohol Isopropílico	CH ₃ (CH ₂) ₂ OH	20.1

Las muestras preparadas se cocieron durante 5 minutos a temperatura de 65°C, después de ser enfriadas se dispersaron a temperatura ambiente durante 6 minutos. Los dispersantes usados fueron: agua, glicerina, etanol e isopropanol. La Figura 3.1 muestra imágenes de campo claro obtenidas por microscopía óptica para suspensiones (preparadas como se indica en la sección 2.5) en agua, glicerina, etanol e isopropanol de almidón cocido a 65°C por 5min.

Utilizando líquidos de distinta polaridad se encontró que las características de agregados varían considerablemente cuando se dispersan en líquidos de diferente constante dieléctrica.

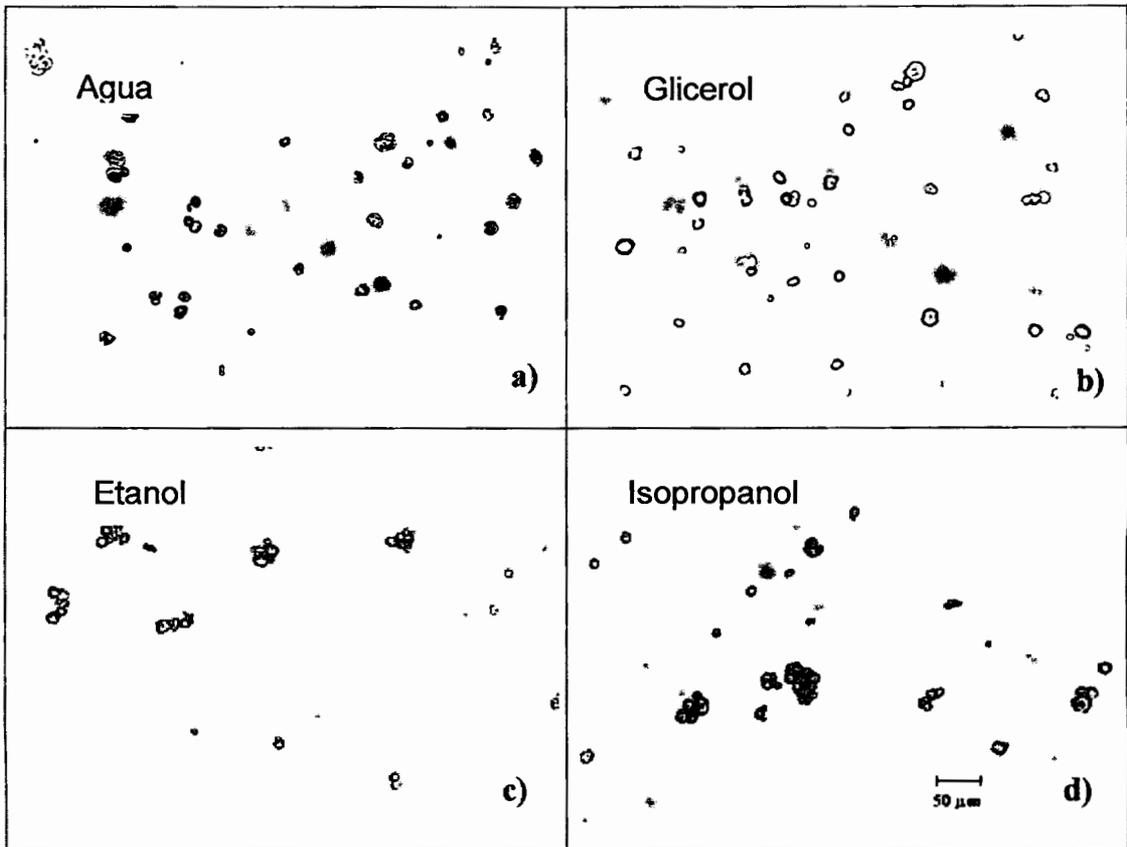


Figura 3.1. Fotografías de microscopía óptica de almidón cocido a 65°C dispersado en solventes con distinta constante dieléctrica: a) agua b) glicerol c) etanol, d) isopropanol.

Las suspensiones en agua y glicerina mostraron principalmente gránulos sencillos, mientras que las suspensiones en etanol y en isopropanol mostraron además agregados de diferentes tamaños. La Figura 3.2 muestra la distribución de tamaño de partícula para muestras de almidón cocidas a 65°C y dispersadas en los solventes mencionados. La ordenada representa la distribución en volumen respecto al logaritmo del tamaño ($dV/d(\log x)$), mientras que la abscisa representa los diámetros efectivos. Para el agua y la glicerina el pico predominante tuvo su máximo alrededor de 16 μm , que corresponde al tamaño de gránulos individuales de almidón de maíz (DaSilva et al., 1997; Peterson y Fulcher, 2001). También se observaron picos a menores tamaños que probablemente correspondan a los corpúsculos grasos presentes en los granos de almidón. Estos no fueron observados cuando la muestra se dispersó en los alcoholes, debido posiblemente a que son disueltos por estos líquidos. Para los dispersantes de menor constante dieléctrica que tienen una fuerza de atracción mayor, (etanol e isopropanol) la mayor parte del volumen

correspondió a agregados, en consistencia con las observaciones microscópicas. Estos resultados también sugirieron que los gránulos se mantienen unidos por interacciones de tipo polar (que pueden ser: puentes de hidrógeno, dipolo-dipolo, etc.), y que los solventes con mayor constante dieléctrica que tienen una fuerza de atracción menor son más eficientes para causar una mayor disgregación. Con estos resultados se eligió al etanol como el solvente que menos afectó la distribución de tamaño de partícula de las muestras tratadas térmicamente, y además de su baja toxicidad y costo.

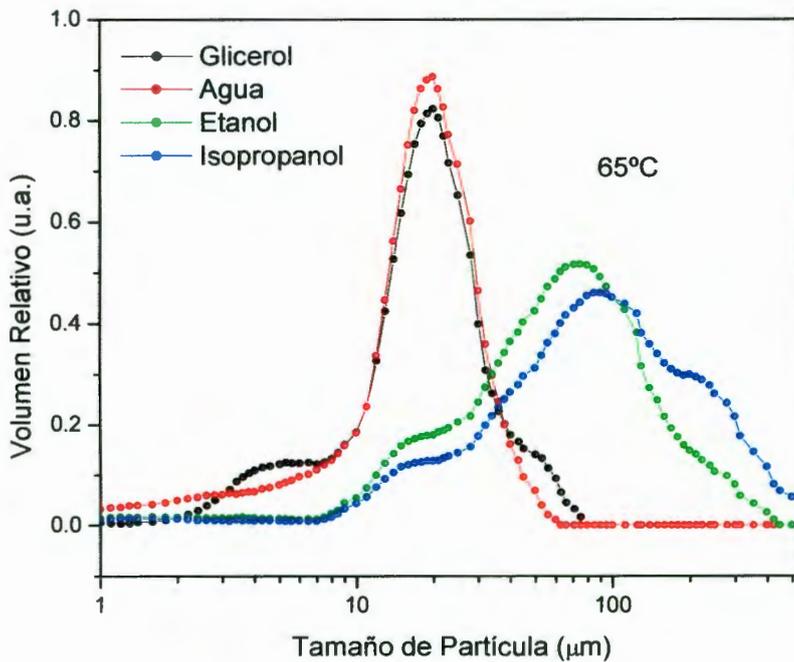


Figura 3.2. Distribución de Tamaño de Partícula para muestras de almidón cocidas a 65°C y dispersadas en glicerina, agua, etanol e isopropanol.

Para la dispersión en agua el pico correspondiente a gránulos individuales dominó, y a mayores temperaturas presentó un desplazamiento hacia tamaños mayores debido a que ya tuvo un tratamiento térmico y se encuentra en un exceso de agua. En comparación con las muestras dispersadas en etanol donde observamos que el tamaño del gránulo sencillo permanece constante (Figura 3.3).

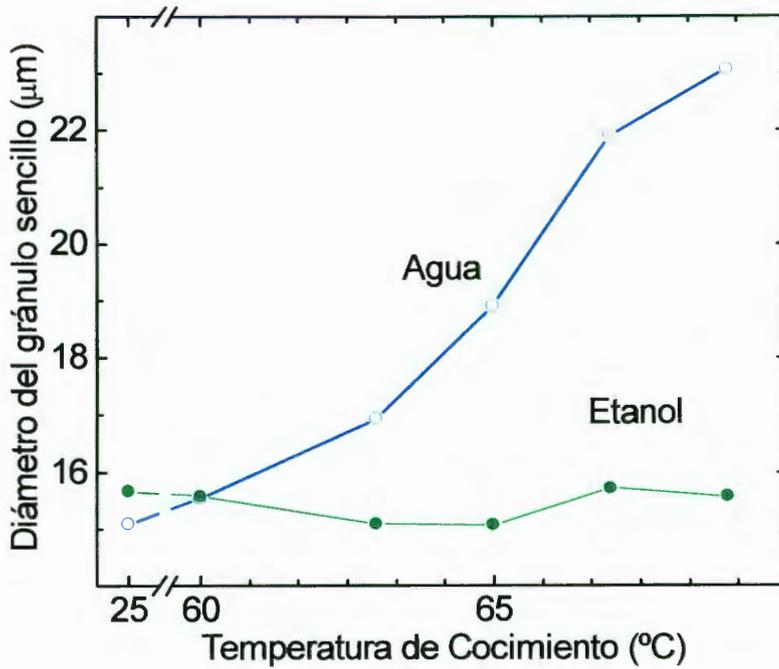


Figura 3.3. Tamaño promedio de los gránulos individuales en función de la temperatura de cocción. En agua continúan absorbiendo ya que están en exceso de agua durante la medición.

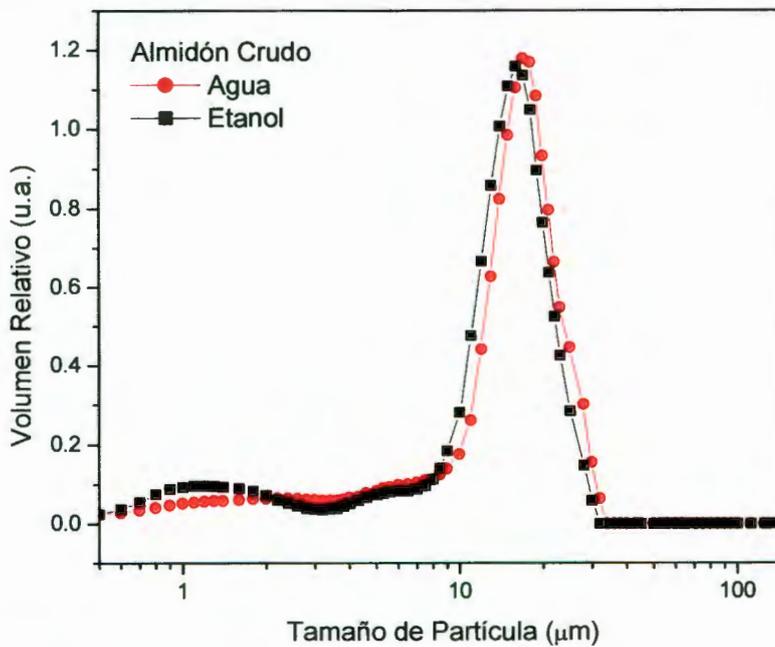


Figura 3.4. Distribución de tamaño de partícula para muestras de almidón crudo dispersadas a temperatura ambiente en diferentes solventes. La diferencia es debida a los distintos índices de refracción.

La Figura 3.4 muestra la distribución de tamaño de partícula para almidón crudo (9-30 μm) dispersado a temperatura ambiente en agua y etanol. Se observó un ligero corrimiento hacia tamaños más grandes de la muestra de almidón dispersada en agua. Este cambio probablemente no es real y sea debido a la diferencia en índice de refracción entre el agua y el alcohol.

3.2 Reproducibilidad

El muestreo apropiado de polvos requiere de un protocolo elaborado, ya que la fuerza de gravedad causa la segregación del polvo por tamaños [Hirshfeld y Rapaport, 1997]. A través de homogeneizar a los polvos de manera apropiada, y de cocerlos uniformemente, fue posible obtener resultados altamente reproducibles. Esto permitió observar tendencias claras de las distribuciones al variar las condiciones experimentales. La Figura 3.5 muestra el rango de valores del volumen relativo de muestras preparadas en días diferentes bajo las mismas condiciones. Mediciones con resultados similares se realizaron para otras combinaciones de temperatura de cocimiento y de solvente.

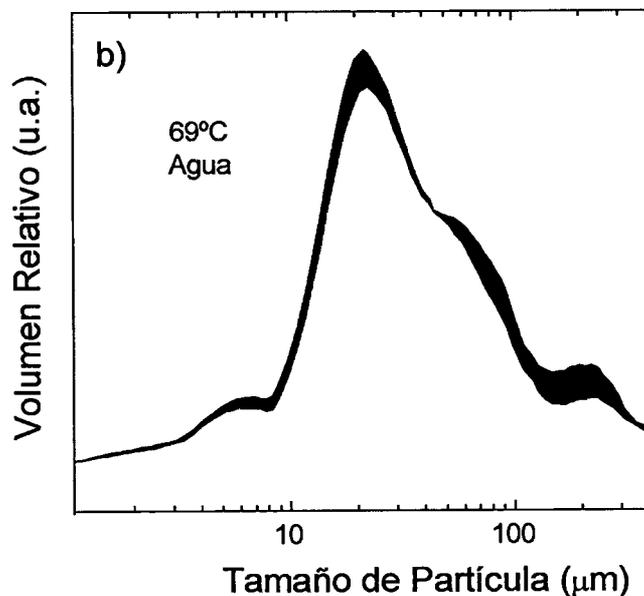


Figura 3.5. Intervalo de valores de la distribución para muestras preparadas en diferentes días bajo las mismas condiciones (69 $^{\circ}\text{C}$, dispersión en agua), mostrando la reproducibilidad en las mediciones.

3.3 Efecto de la temperatura de cocimiento

Las muestras de almidón se prepararon (Sección 2.1), y cocieron (Sección 2.1.2), durante 5 minutos a temperaturas de 60, 63, 65, 67 y $69 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$. Después de ser enfriadas se dispersaron (Sección 2.1.3) a temperatura ambiente durante 6min. Los dispersantes usados fueron: etanol y agua.

Las correspondientes distribuciones de tamaño de partícula obtenidas al dispersar las muestras en agua se muestran en la Figura 3.6. Las distribuciones mostraron un pico predominante que corresponde al gránulo sencillo de almidón, (alrededor de $15\mu\text{m}$). Las muestras cocidas a 60°C mostraron una distribución similar a la muestra cruda, pero con un pequeño cambio en la posición del máximo. Conforme la temperatura de cocimiento se incrementó, el centro del pico correspondiente al gránulo sencillo de almidón cambió a tamaños más grandes y su altura disminuyó. Agregados más grandes comenzaron a aparecer para temperaturas de cocimiento de 67°C y mayores.

Las distribuciones correspondientes a las muestras dispersadas en etanol se muestran en la Figura 3.7. La tendencia del pico correspondiente al gránulo sencillo de almidón fue bastante similar al observado en agua, pero su altura disminuyó más rápido conforme se incrementó la temperatura de cocimiento. La presencia de material con tamaños mayores de $40\mu\text{m}$ se observaron alrededor de 63°C . A la temperatura más alta (69°C) el pico predominante se situó alrededor de $200\mu\text{m}$. Para temperaturas de cocimiento de 63°C y mayores, el pico correspondiente al gránulo sencillo de almidón fue más pequeño que el correspondiente a los agregados. La distribución de tamaño para las muestras dispersadas en etanol mostró una marcada dependencia con la temperatura de cocimiento (Figura 3.7).

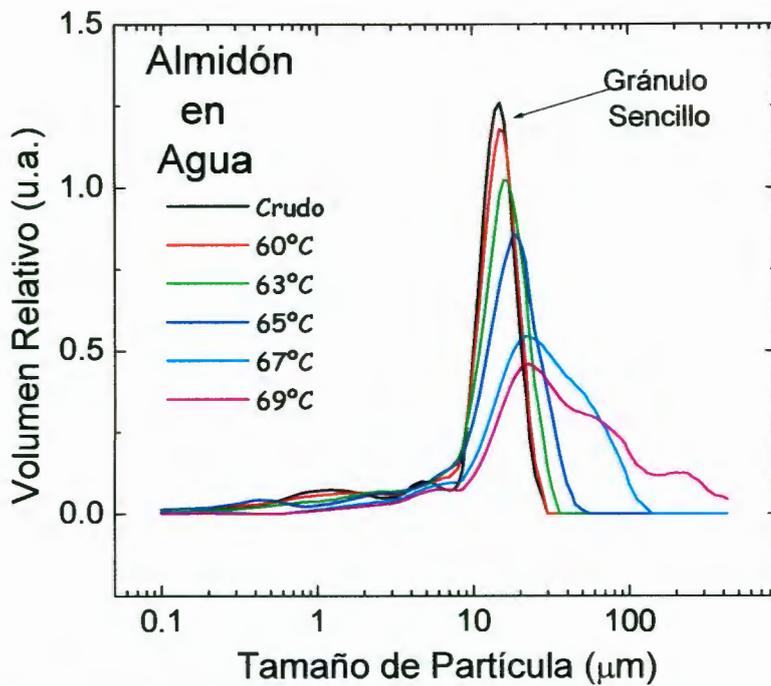


Figura 3.6. Distribuciones de tamaño de partícula para muestras de almidón cocidas en agua a diferentes temperaturas por espacio de 5 minutos y dispersadas en agua.

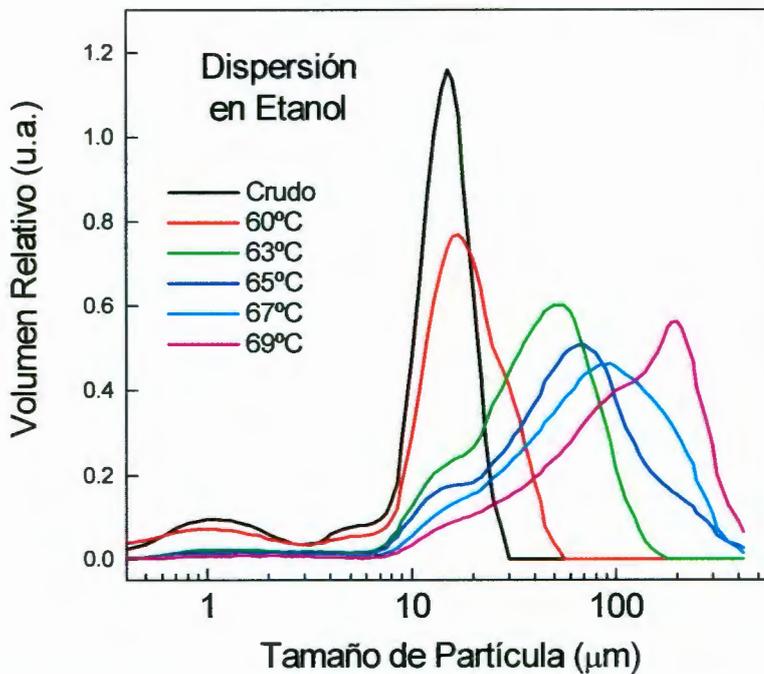


Figura 3.7. Distribuciones de tamaño de partícula para muestras de almidón cocidas a diferentes temperaturas por espacio de 5 minutos y dispersadas en etanol.

3.4 Efecto de las sales durante la dispersión

Las muestras preparadas (Sección 2.1.1) y cocidas (Sección 2.1.2) a 63°C, se dispersaron 6 minutos (Sección 2.1.3) a temperatura ambiente en 90 ml de alcohol etílico con diferentes concentraciones de sales, las sales utilizadas fueron: CaCl₂ (0.018, 0.036, 0.054, 0.144 mol/L de etanol) y NaCl (0.018 y 0.375 mol/L de etanol), para el NaCl se probaron dos tiempos de dispersión, 6 y 60 minutos. Para cada concentración y tiempo de dispersión se realizaron un mínimo de tres muestras. En las distribuciones de tamaño de partícula obtenidas para las diferentes concentraciones de CaCl₂ no se observan cambios significativos en la Figura 3.8, lo mismo se observa en las distintas concentraciones de NaCl, Figura 3.9a, donde aun las muestras que tuvieron un mayor tiempo de dispersión no muestran diferencias significativas, (Figura 3.9 b).

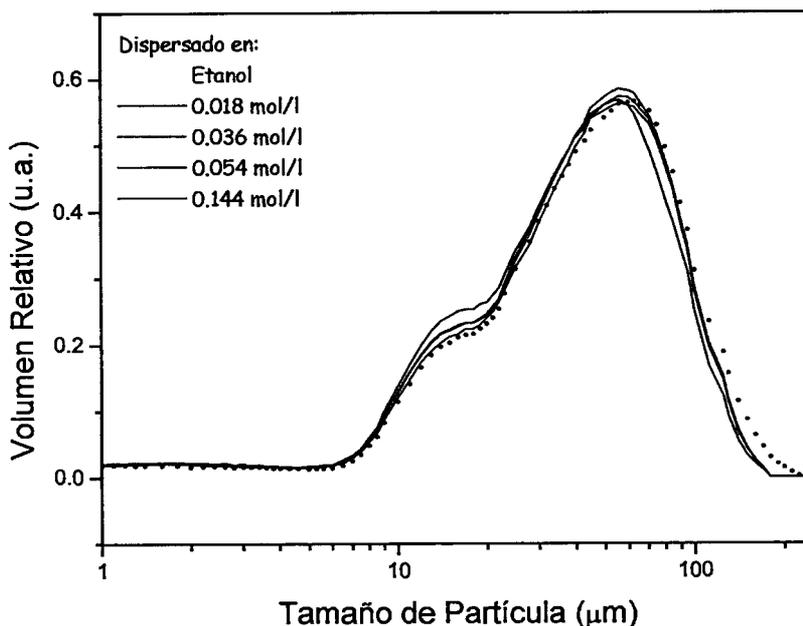


Figura 3.8. Distribución de tamaño de partícula para muestras de almidón cocidas a 63°C y dispersadas 6 minutos en soluciones con diferentes concentraciones de CaCl₂.

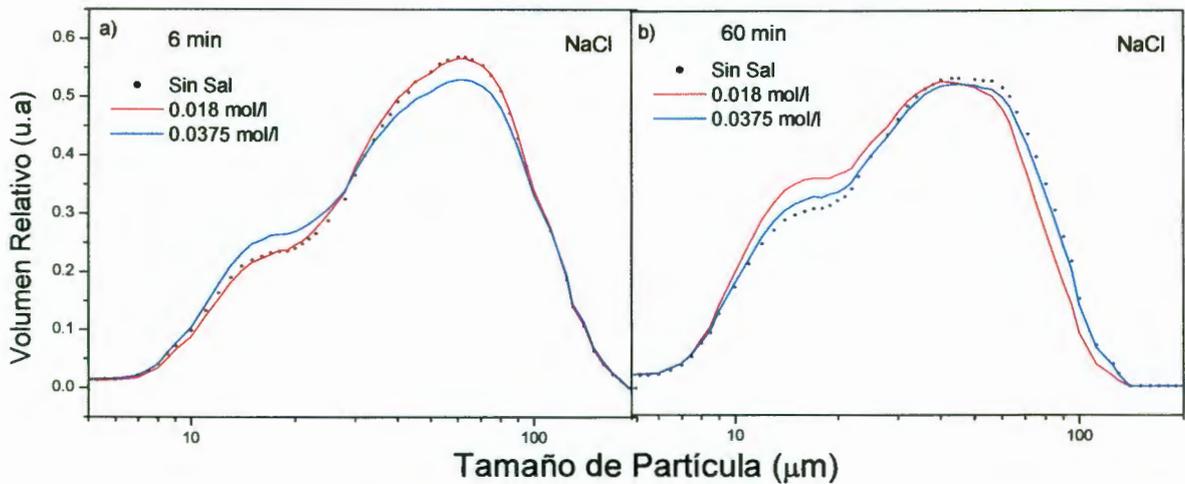


Figura 3.9. Distribución de tamaño de partícula de muestras de almidón cocidas a 63°C, dispersadas en diferentes concentraciones de NaCl en a) 6 min y en b) 60 min.

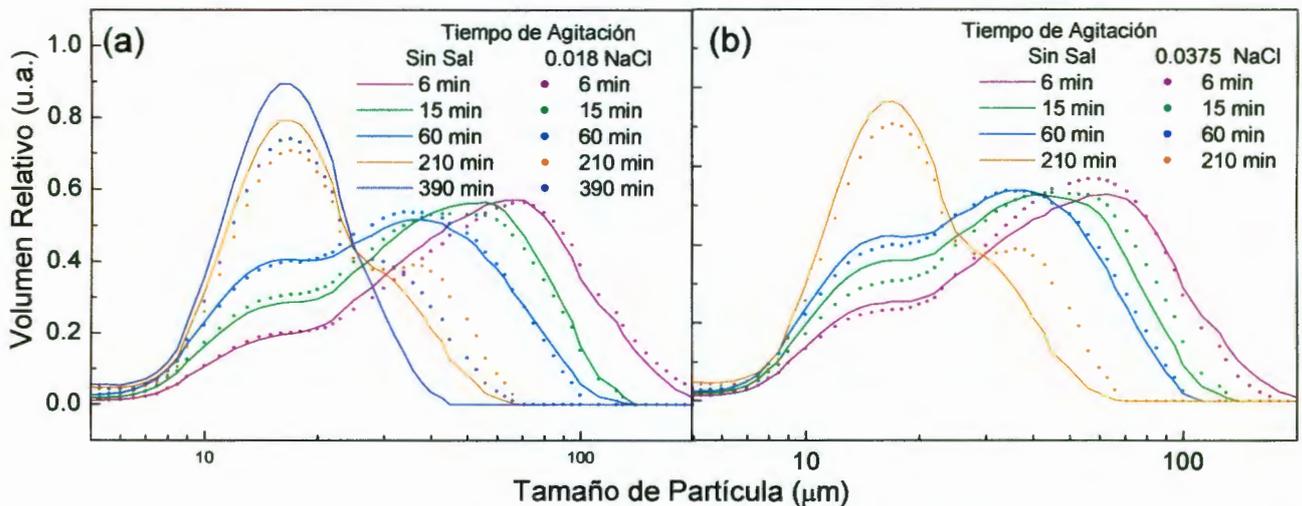


Figura 3.10. Distribuciones de tamaño de partícula para muestras cocidas a 63°C y dispersadas diferentes tiempos (4-210 minutos), en soluciones de etanol-NaCl: a) 0.018 moles/Lt. de NaCl, y b) 0.0375 moles/Lt. de NaCl.

Para estudiar la velocidad de reacción entre los distintos tipos de agregados y la solución de etanol/NaCl, se midió la distribución de tamaño de partícula de muestras preparadas (Sección 2.1), y cocidas (Sección 2.1.2) durante 5 minutos a 63°C y dispersadas (Sección 2.1) con tiempos de dispersión de 4-210 minutos, para dos concentraciones de NaCl. La distribución de tamaño de partícula para muestras dispersadas en etanol sin NaCl

(línea punteada) y muestras dispersadas en solución 0.018 mol/L de NaCl (línea continua) (Figura 3.10a), de igual manera en la Figura 3.10b se comparan las distribuciones de tamaño de partícula dispersadas en etanol y en solución de 0.0375 mol/L de NaCl, observándose en ambas gráficas, (a) y (b) a partir de 120 minutos de dispersión a 25°C una tendencia a deshacer agregados. Comprobándose que la cinética de ésta reacción es lenta y que la presencia de sales no afecta la formación de agregados, lo que sugiere que la interacción almidón-almidón es de tipo polar.

3.5 Determinación del grado de gelatinización

De la Figura 3.11 se obtuvo la entalpía (3.7 J/g) que corresponde al 100% de almidón gelatinizado y la entalpía ($\Delta H_T = -2.5$ J/g) que corresponde al almidón con 50% de humedad.

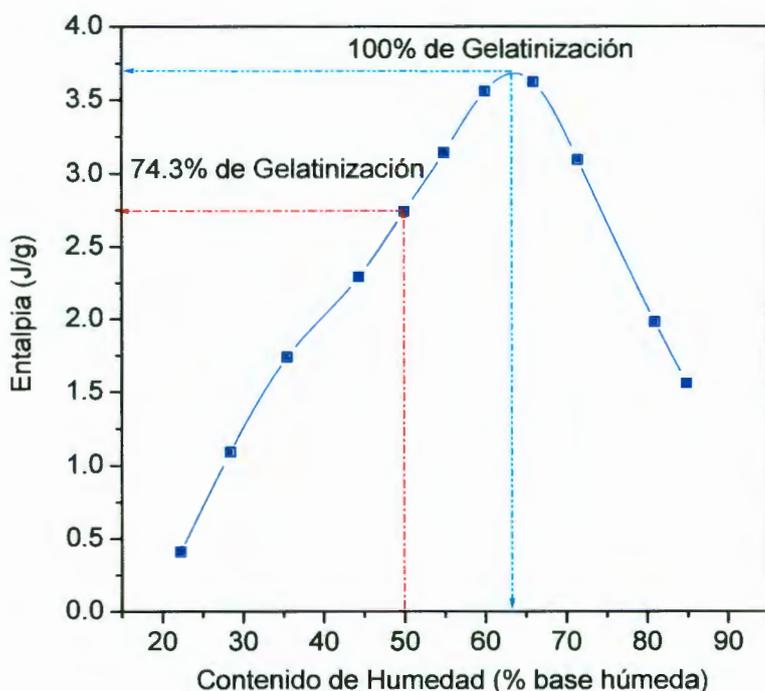


Figura 3.11. Entalpía de gelatinización obtenida por DSC, en función del contenido de humedad a partir de almidón crudo.

Con estos datos se calculó que el porcentaje máximo de gelatinización que tiene una muestra de almidón con 50% de humedad es de 74.3%. Con la entalpía del máximo porcentaje de gelatinización calculado para las muestras de almidón con 50% de humedad, y asignándole 0% de gelatinización a las muestras de almidón crudo se calculó el porcentaje

de gelatinización para las muestras precocidas a las temperaturas de 60, 63, 65 y 67°C, con la Ec. 1.1. Los resultados se muestran en la Figura 3.12.

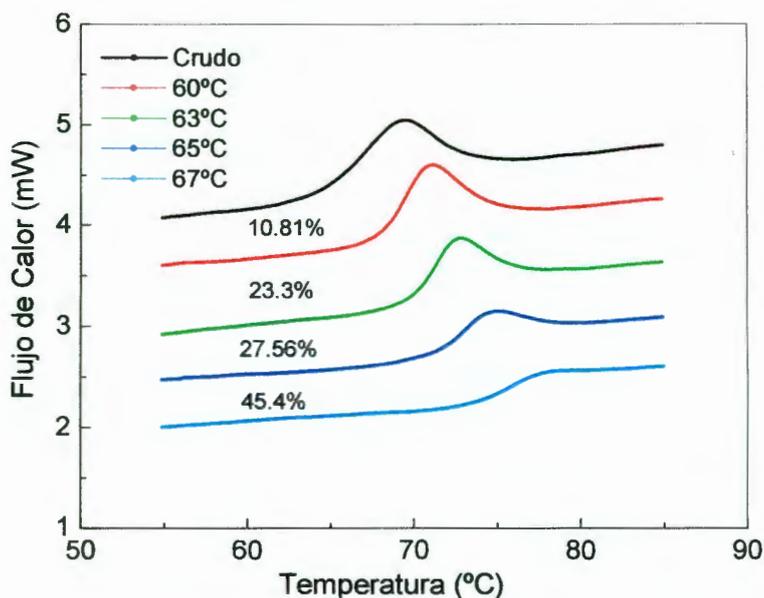


Figura 3.12. Porcentaje de gelatinización en función de la temperatura de cocción por DSC.

El comportamiento de la entalpía coincidió con un aumento en la agregación para temperaturas por encima de los 60°C (Figura 3.7 y Figura 3.12) con la poca proporción de gránulos sin birrefringencia a esa temperatura. La interacción almidón-almidón, es determinada por cambios locales, mientras que DSC mide cambios globales. La determinación de "cruz de malta" es una técnica muy empleada para cuantificar gelatinización [Gómez et. al., 1992]. El conteo por "cruz de malta" puede llevar a resultados contradictorios porque los gránulos muy gelatinizados pueden escapar a la vista bajo el microscopio (Figura 3.13). La formación de agregados está relacionada con el número de gránulos gelatinizados y puede ser considerada como una manera más rápida y representativa de la cuantificación de gránulos gelatinizados.

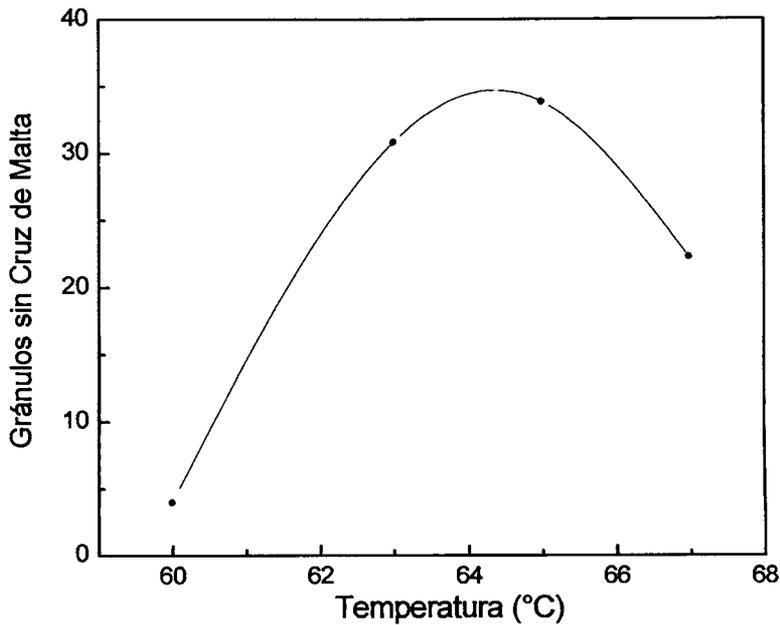


Figura 3.13. Porcentaje de gránulos que no presentan cruz de malta.

3.6 Efecto del tiempo de cocción

Para realizar este estudio se escogió la temperatura de 63°C porque permite un rango más amplio de tiempos de cocción donde todavía es posible dispersar la muestra. En la Figura 3.14 se muestra la distribución de tamaño de partícula para muestras de almidón cocido a 63°C durante diferentes tiempos (0.5-30 minutos), observándose un aumento en el tamaño de los agregados conforme aumenta el tiempo de cocción. A 0.5 minutos tenemos principalmente el pico que corresponde al gránulo sencillo de almidón y empieza a aparecer un segundo pico. De 1 a 9 minutos de cocción se observan dos picos bien definidos el que corresponde al gránulo sencillo de almidón tiene una disminución aproximadamente del 50% en el primer minuto de cocción, y después va disminuyendo de manera más lenta a partir de los 3 minutos de cocción, mientras que el segundo pico tiene su máximo al minuto de cocción y a partir de los tres minutos comienza a disminuir haciéndose más ancho. Por último vemos la aparición de un tercer pico aproximadamente a los 30 minutos de cocción.

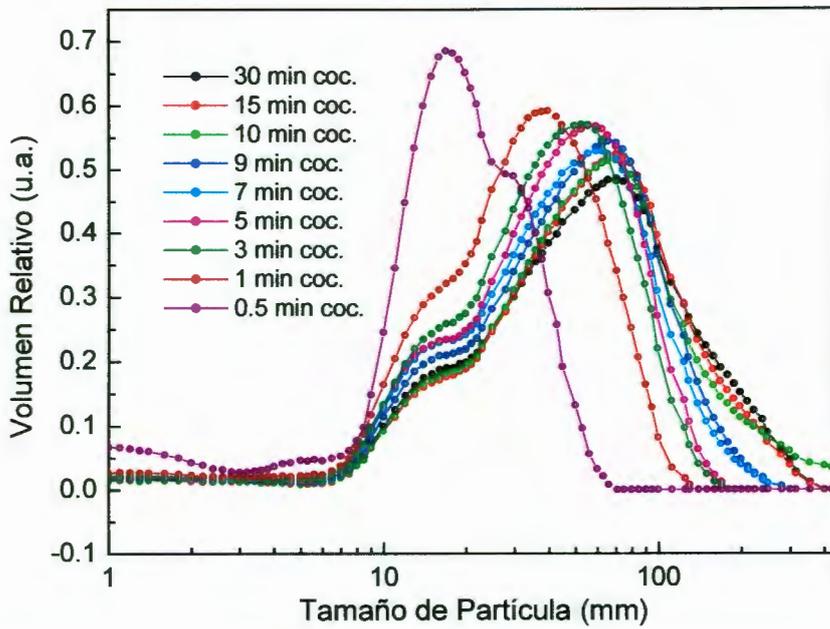


Figura 3.14. Distribución de tamaño de partícula para muestras cocidas diferentes tiempos a 63°C y dispersadas en etanol por 6 minutos.

La mayor parte de los cambios se observan en tiempos de cocción menores a 7 minutos, por lo que se escogió el intervalo de tiempo de 0.5-7 minutos de cocción para el estudio de la cinética de desagregación y agregación

4. Estudio de la Desagregación

Los agregados son formados durante el proceso de cocimiento con agua limitada, por lo que su mecanismo no puede ser directamente seguido. Como una primera aproximación se estudió la cinética de desagregación de agregados con el tiempo de dispersión, para caracterizar la estabilidad de los agregados formados. La presencia de agregados ya ha sido reportado en la bibliografía usando ESEM y microscopía óptica, [Farmakis et al., 2000]; [Gallant et al., 1997].

Las muestras de almidón se cocieron durante 5 minutos a temperaturas de 61.5, 63, 65, y $67 \pm 0.1^\circ\text{C}$ y se dispersaron en etanol a temperatura ambiente, los tiempos de dispersión fueron de 1.5, 4, 6, 15, 60, 150, 210 y 390 minutos.

4.1.1 Clases de agregados

En las curvas de distribución tamaño de partícula es posible distinguir picos y hombros bien definidos que sugieren la existencia de varias Clases de agregados de gránulos de almidón, dependiendo de su forma y número de gránulos que participan en el agregado (Figura 3.2). Observaciones de estos agregados se hicieron (Sección 2.5.2) usando ESEM y microscopía óptica (Sección 2.5.1). La (Figura 4.1) muestra imágenes ESEM de menor y mayor acercamiento de agregados de almidón formados a temperaturas de cocción de 65°C y dispersados en etanol. La Figura 4.1a muestra imágenes de menor acercamiento de agregados de almidón de diferentes tamaños y sugiere la formación de agregados de tamaños característicos. Esta observación fue hecha en muchas otras imágenes microscópicas a diferentes acercamientos (no mostradas aquí). La Figura 4.1b muestra una imagen de mayor acercamiento formada por algunos gránulos de almidón. Los gránulos individuales muestran dos formas: esférica e irregular. La forma esférica corresponde a gránulos no gelatinizados, mientras que la irregular "sugiere" que el gránulo ha tenido una gelatinización parcial. La estructura formada por gránulos aglutinados alrededor de un gránulo gelatinizado forma una primera Clase de agregados (tamaño de agregado), mientras que la segunda Clase está formada por uniones de los primeros agregados entre sí. El gránulo marcado como "2" en la Figura 4.2a es un ejemplo de un

gránulo gelatinizado actuando como enlace entre un agregado de primer Clase y otros gránulos.

El número de sitios de interacción entre dos gránulos está relacionado a la superficie de contacto que a su vez depende de la capacidad de deformación de los gránulos (la deformación que sufren es ocasionada por el grado de gelatinización que ha sufrido el almidón durante el tratamiento térmico, las cadenas de amilosa se salen del gránulo, y éste va perdiendo su estructura cristalina). El papel aglutinante de los gránulos gelatinizados no sólo se debe a su mayor número de puntos de interacción, sino a que adquieren una mayor capacidad de deformación y pueden interaccionar con otros gránulos a través de un área mayor (Figura 4.1b).

4.1.2 Papel de los gránulos gelatinizados

Para esclarecer el papel de los gránulos gelatinizados en la formación de los agregados subsecuentes se hicieron una serie de observaciones con microscopía óptica. La Figura 4.2 muestra un agregado de almidón bajo campo brillante y bajo luz polarizada. El tamaño y las fronteras de cada gránulo pueden ser identificadas. Se observan gránulos cuyas fronteras no han sido deformadas. El gránulo marcado con el número "2" actúa como gránulo aglutinante de gránulos alrededor del gránulo "1" y del otro lado del gránulo "2". En la Figura 4.2b, se observa un mapa de los diferentes grados de birrefringencia de un agregado. Los gránulos "1" y "2" no mostraron birrefringencia, mientras los demás mostraron distintos grados de birrefringencia, indicando que: o están parcialmente o no están gelatinizados. Esta imagen sugiere que los agregados se forman alrededor de gránulos gelatinizados. Una posible explicación del origen de diferentes Clases de agregado surgió al observar el papel que juegan los gránulos gelatinizados en la formación de los agregados. Mientras que la mayor parte de los gránulos en la periferia del agregado mostrado en la Figura 4.2b manifestaron birrefringencia, el gránulo aglutinante (marcado como "1") no mostró birrefringencia.

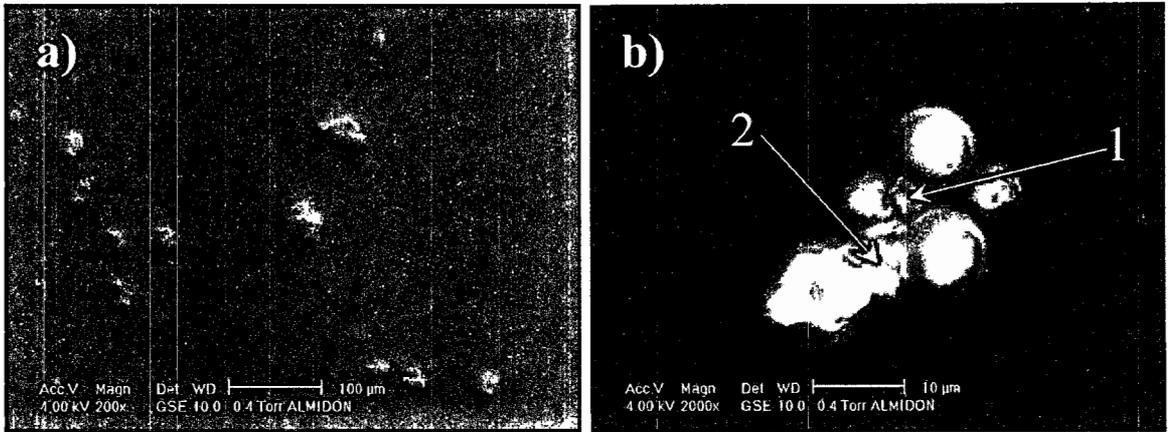


Figura 4.1. a) Imagen ESEM de almidón cocido a 65°C y dispersado en etanol. Es posible observar, además de los gránulos individuales, agregados de dos Clases diferentes.
 b) Papel de un gránulo pequeño en la aglutinación de cuatro gránulos pequeños.

Considerando que las muestras se cocieron con agua limitada en forma empaquetada, es probable que los agregados se formen alrededor de aquellos gránulos con un mayor grado de gelatinización.

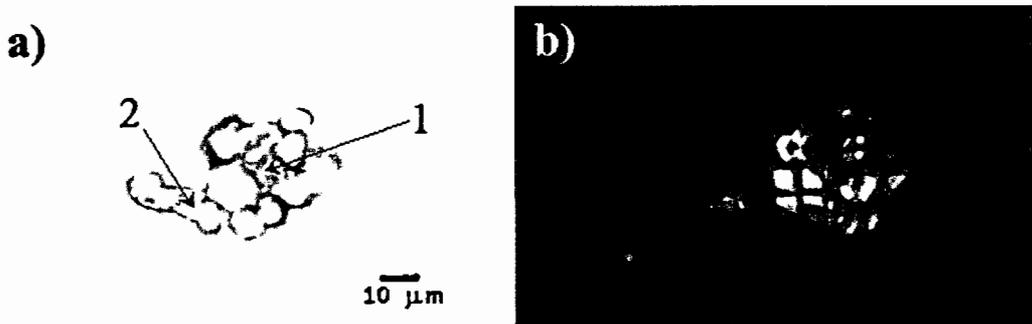


Figura 4.2. Imagen de un agregado obtenida con un microscopio óptico en a) campo normal y b) con luz polarizada.

La competencia por el agua durante el proceso de gelatinización hace menos probable que dos gránulos adyacentes logren gelatinización. Un gránulo gelatinizado puede ser rodeado por un número limitado de gránulos parcialmente o no gelatinizados, formando agregados de tamaños característicos. Es importante enfatizar que los gránulos gelatinizados tienen mayor facilidad de deformarse, lo cual permite una mayor área de contacto con otros gránulos, formando así agregados más estables. Este mecanismo puede explicar la formación de clases de agregados de distintos tamaños.

No es claro si un gránulo de almidón tiene que estar completamente gelatinizado para aglutinar a otros o si un gránulo parcialmente gelatinizado puede tener su superficie gelatinizada disponible para aglutinar a gránulos no gelatinizados. Como una primera aproximación podemos considerar solo a los gránulos de almidón completamente gelatinizados como los responsables del mecanismo de agregación. Este mecanismo es también consistente con la formación de los diferentes tamaños de agregados dependiendo de la temperatura de cocimiento. A bajas temperaturas de cocimiento la fracción de gránulos gelatinizados es pequeña y solo se forman agregados del primer Clase. Al incrementar la temperatura de cocción la fracción de gránulos gelatinizados aumenta y agregados más complejos pueden ser formados.

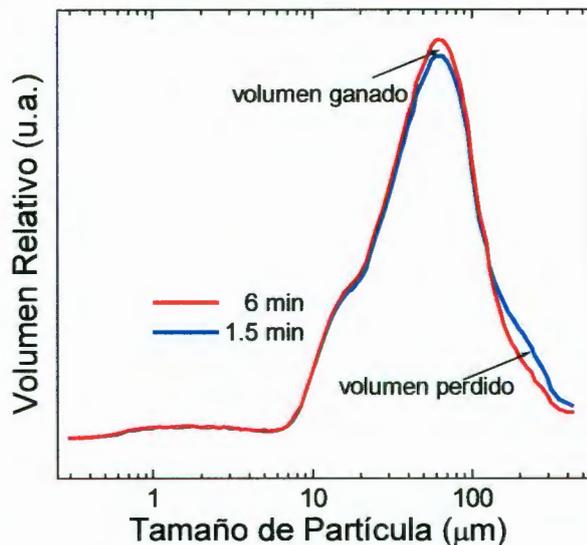


Figura 4.3. Comparación de la distribución para dos muestras dispersadas en etanol cocidas a 65°C.

4.2 Mecanismo de desagregación

En la Figura 4.3 se observa la distribución de tamaño de partícula de muestras cocidas a 65°C y dispersadas en etanol usando diferentes tiempos de dispersión. Para tiempos cortos (1.5 minutos) un volumen relativamente grande puede observarse para tamaños alrededor de 150µm, comparado con el tiempo de dispersión de 6 minutos. La diferencia entre estas dos curvas se le llamó "volumen perdido". Para tamaños entre 50 y 60µm un incremento en volumen puede observarse con el incremento en el tiempo de dispersión (se le llamó "volumen ganado"). Los dos volúmenes son aproximadamente

iguales. La destrucción de los mayores no se reflejó en el incremento en la población del gránulo sencillo de almidón. Si no que el material formó parte de otra clase de agregado. Esto sugiere que ***la destrucción de agregados de mayor tamaño no es por desmoronamiento gradual al liberar gránulos sencillos, sino por fracturas de los agregados de mayor tamaño a favor de agregados más pequeños.***

4.2.1 Cinética de desagregación

La Figura 4.4 muestra un estudio sistemático de la influencia del tiempo de dispersión en la población de agregados de almidón cocidos a diferentes temperaturas y dispersados en etanol. La cinética de desagregación aportó información valiosa para explicar el mecanismo de agregación. Un aumento en el tiempo de dispersión provocó la desaparición de los agregados más grandes y un crecimiento continuo de la población de gránulos individuales. Los tiempos usados van desde 1.5 hasta 390 minutos. A los cuatro minutos de dispersión, se observaron claramente dos poblaciones de tamaños de agregados para la temperatura de cocción 61.5°C Figura 4.4a. Con el incremento en el tiempo de dispersión, el volumen de los picos correspondientes a los tamaños más grandes disminuyó , mientras que la de los otros tamaños de agregados se incrementó. Alrededor de los 150 minutos de dispersión se observó solo un tamaño de agregado para la temperatura de 61.5°C. A temperaturas mayores (Figura 4.4b, c,) se requirieron tiempos de 390 min (para las temperaturas de 63 y 65°C) y mayores de 390 minutos (para 67°C), para tener una sola población de tamaño de gránulo alrededor de las 18 μm .

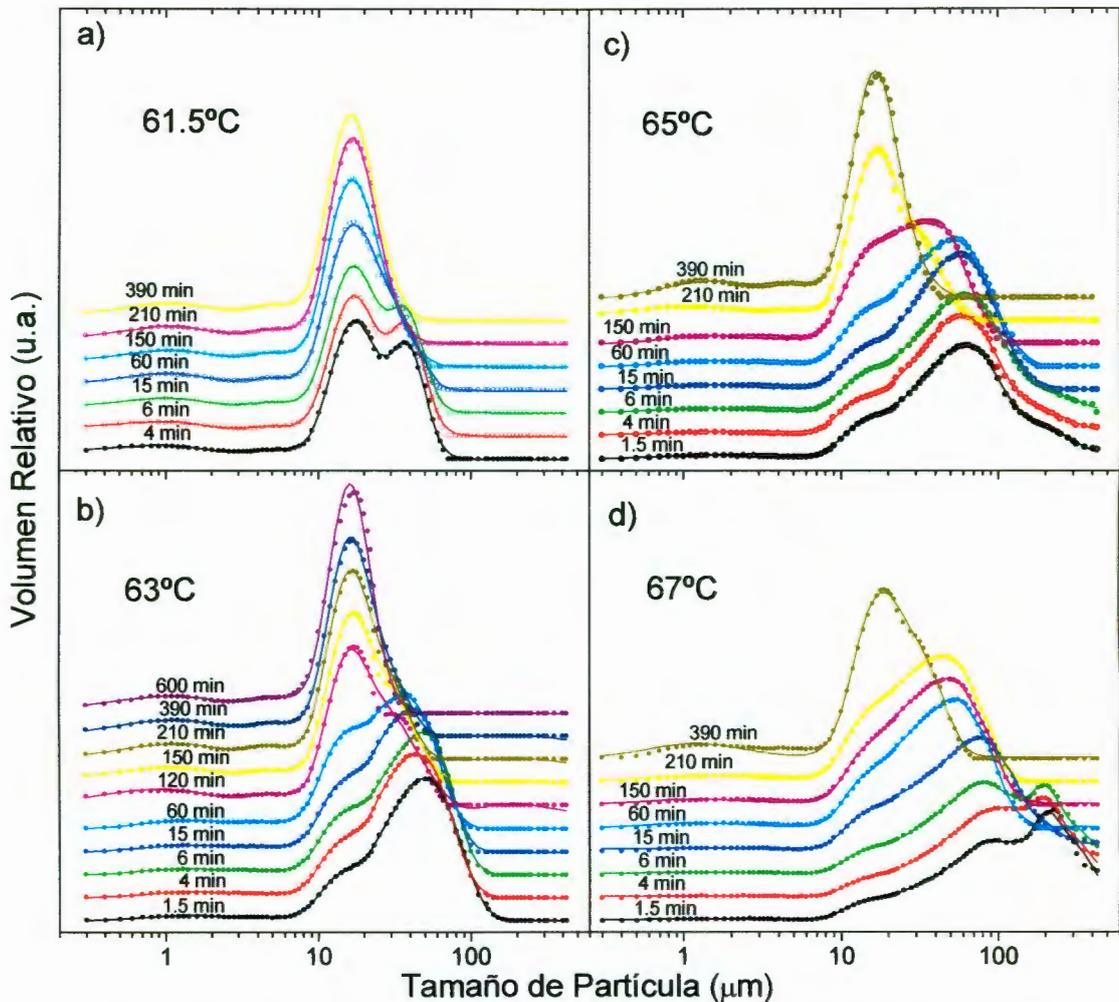


Figura 4.4. Evolución de la distribución de tamaño de los agregados inducida por agitación (aproximadamente 600 rpm) a temperatura ambiente.

4.3 Análisis de la evolución de la distribución

El comportamiento observado en las figuras Figura 4.3 y Figura 4.4 , sugirió una metodología para esclarecer el comportamiento del tamaño de los gránulos de almidón durante la desagregación por agitación. Bajo este esquema, las distribuciones de tamaño de partícula fueron ajustadas a través del programa AAnalyzer por medio de gaussianas representativas de los distintos Clases de agregados (Figura 4.4a). Es importante mencionar que, aunque esta distribución podría ser ajustada con un número mejor de gaussianas, la exigencia de que el mismo conjunto de gaussianas ajustara todas las curvas de distribución de tamaño de partícula de la Figura 4.4 impuso condiciones mucho más estrictas que llevaron a la necesidad de considerar sólo gaussianas mostradas en la Figura 4.5a. A cada

gaussiana se le asigno un tamaño. Así la Clase 0 corresponde al granulo sencillo de almidón, la Clase 1 al primer agregado, la Clase 2 al segundo agregado, etc. El Cuadro 4.1 muestra los diámetros aproximados de cada Clase de agregado.

Cuadro 4.1 Diámetros aproximados de las distintas clases de agregados.

Clase 0	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4	Clase 5
9-20 μm	20-30 μm	30-50 μm	50-90 μm	90-130 μm	130-190 μm

El ajuste a todas las curvas usando estas distribuciones corresponde a las líneas continuas de la Figura 4.4. El análisis de la cinética de desagregación para muestras cocidas a distintas temperaturas exigió conjuntos de picos prácticamente idénticos entre sí, indicando que las mismas Clases de agregados existen en muestras cocidas a las distintas temperaturas en el intervalo considerado.

4.4 Estructura de los agregados

Los tamaños representativos (T) de los picos mostrados en la Figura 4.5a fueron graficados en función del número de Clase (Figura 4.5b). Fue interesante observar un comportamiento sumamente regular y, más aún, una dependencia de tipo exponencial ($T \approx 18.1 \times 1.6^n$, donde n es la clase de agregado). El tamaño representativo de cada agregado fue 1.6 veces el del anterior en una estructura tipo fractal. Como $1.6^3 \sim 4$, el volumen representativo de cada Clase de agregado fue aproximadamente cuatro veces el volumen del anterior. Esto sugiere agregados de forma tetraédrica.

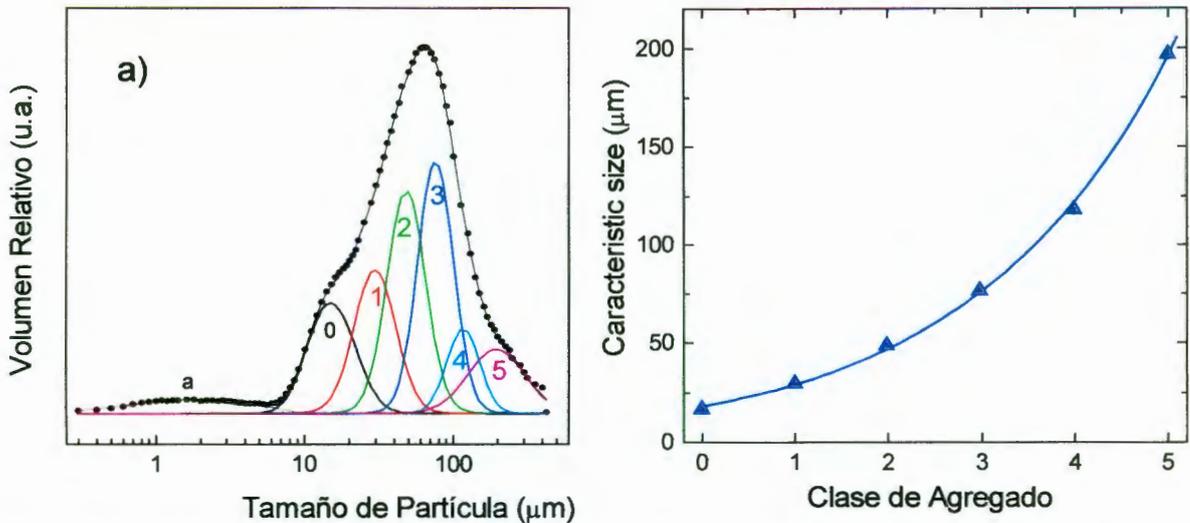


Figura 4.5. a) Descomposición de una curva de distribución en Clases de agregados. b) Tamaño representativo de las Clases de agregados graficada en función del número de Clase

Esto no implica que no existieron agregados lineales formados por dos o más componentes, sino que fueron rápidamente destruidos y no observados. Aquellos agregados que encuentran suficientes aglutinantes para formar una estructura más compacta, tal como un tetraedro, tienen un tiempo de vida más grande. La teoría de los fractales ha sido utilizada para describir la interacción entre gránulos de almidón [Hsu et al., 2000; Pikus et al., 2000; Roger et al., 1999] así como la estructura de la agregación de otros polvos. Aunque podría ser arriesgado usar este término para describir la configuración de los agregados, la existencia de distintos Clases de agregados y la destrucción de unos para formar otros acumula evidencia en esta dirección. Sin embargo, el resto del análisis aquí presentado no depende del tipo de configuración. Lo importante en la discusión que prosigue es evidenciar la composición de las curvas de distribución en función de picos espaciados regularmente en la escala logarítmica del tamaño de partícula.

4.5 Modelación de la cinética de desagregación

La Figura 4.6 muestra la evolución de la población de las distintas clases de agregados y del gránulo sencillo de almidón para muestras cocidas a diferentes temperaturas (61.5, 63, 65 y 67°C) como una función del tiempo de dispersión en etanol en la Figura 4.6a (61.5°C) y 1.5 minutos de dispersión solo están presentes tres clases de agregados. Los agregados de Clase 2 disminuyen continuamente con el tiempo. Los

agregados de Clase 1 primero incrementaron su población y después la disminuyeron para tiempos mayores de 60 min. En contraste la población del gránulo sencillo de almidón, Clase 0, se incrementa continuamente. La distribución final consistió en un 100% de gránulos sencillos.

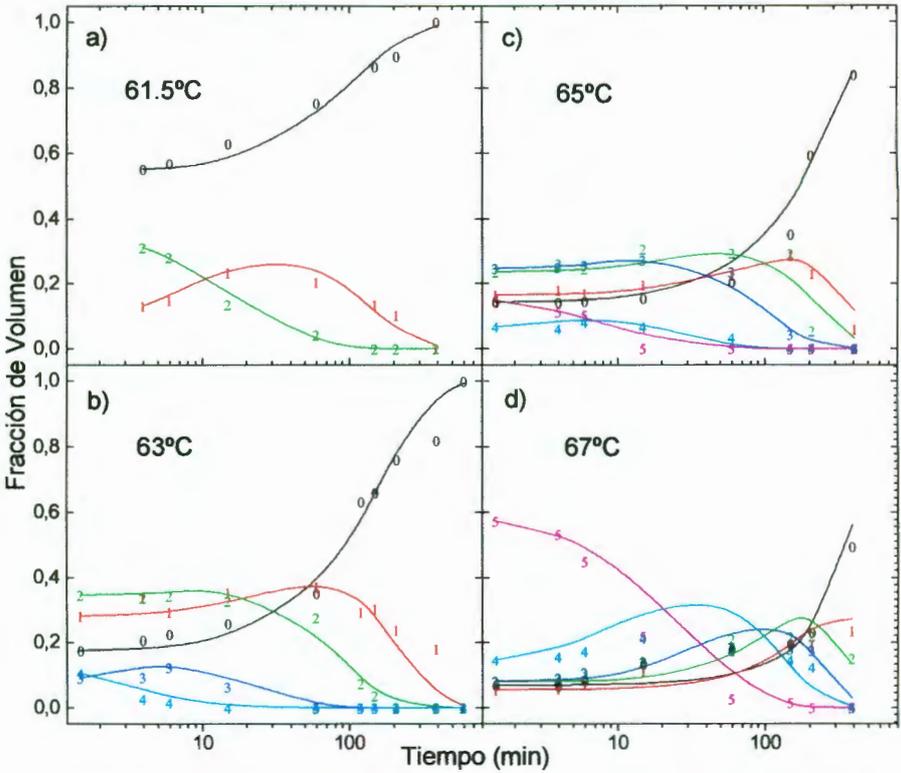


Figura 4.6. Evolución de las poblaciones de las diferentes Clases de agregados con tiempos de dispersión de (1.5-390 min) para cada temperatura de cocción.

Es interesante observar que la población de agregados Clase 1 primero se incrementó. De nuevo esto sugiere que el Clase 2 de agregados no se desmoronó en gránulos sencillos en un solo paso, sino que primero pasó a formar agregados de Clase 1. Los agregados intermedios sufren un comportamiento similar debido a que su población se incrementó por la fractura de agregados de mayor tamaño y disminuyó por su propia disgregación.

Estas observaciones permitieron proponer las siguientes ecuaciones para representar la evolución de la población de los agregados (V_i y V_0 corresponde al volumen de las clases de agregados y a los gránulos individuales respectivamente):

$$\text{Ec. 4.1} \quad \begin{aligned} \frac{d}{dt}V_0 &= \frac{V_1}{\tau_1} & \frac{d}{dt}V_2 &= -\frac{V_2}{\tau_2} + \frac{V_3}{\tau_3} & \frac{d}{dt}V_4 &= -\frac{V_4}{\tau_4} + \frac{V_5}{\tau_5} \\ \frac{d}{dt}V_1 &= -\frac{V_1}{\tau_1} + \frac{V_2}{\tau_2} & \frac{d}{dt}V_3 &= -\frac{V_3}{\tau_3} + \frac{V_4}{\tau_4} & \frac{d}{dt}V_5 &= -\frac{V_5}{\tau_5} \end{aligned} ,$$

τ_i son el tiempo de vida medio de los agregados. En estas ecuaciones están implícitas varias hipótesis sobre el mecanismo de desagregación:

- El fraccionamiento de los agregados es de carácter aleatorio. La velocidad de fractura es proporcional al número de agregados sin contener efectos de envejecimiento, es decir, que no se desagregan debido a los prolongados tiempos de dispersión.
- La disgregación es a través de fracturas, de manera que la población de los agregados de Clase i es alimentada sólo por la disgregación de los agregados de Clase $i+1$.
- Una vez fracturados los agregados, estos no se vuelven a formar. Una probabilidad finita de re conformación de agregados se habría visto reflejada en una distribución en equilibrio donde conviven varias clases de agregados, y no en la desagregación última encontrada a largos tiempos de agitación. La ausencia de re conformación se debe a que el alcohol es capaz de interactuar con las superficies expuestas.

El sistema de ecuaciones diferenciales Ec. 4.1 fue resuelto analíticamente y se encontraron los valores de los tiempos de vida media (τ_i) que mejor reprodujeron el comportamiento de la población de los agregados mostrados en la Figura 4.6. El modelo clases de agregados. Para las muestras cocidas a 63°C, cinco clases estuvieron presentes al principio del proceso de desagregación, y el gránulo sencillo (Clase 0) no tuvo inicialmente una población muy grande. El agregado de Clase 4 se disolvió rápidamente. A los 20 minutos de agitación los agregados de Clase 5 no estuvieron presentes. Los agregados de Clase 3 tuvieron escaso incremento y fueron disueltos por agitación a tiempos alrededor de 20-30 minutos. Es interesante notar que durante este intervalo de tiempo (0-20 min.) poblaciones de agregados Clase 0, 1, y 2 permanecieron constantes. Con tiempos de agitación mayores los agregados de Clase 2 comenzaron a disolverse, seguidos por los de Clase 1, mientras la población de gránulo sencillo siguió incrementándose. La distribución final, consistió como en el caso de la temperatura de 61.5°C, de gránulos sencillos de

almidón. El cálculo de la cinética, representado por las líneas continuas, reprodujo remarcablemente el comportamiento de los datos experimentales.

Una gráfica similar pudo observarse para la temperatura de 65°C (Figura 4.6c). Aquí las 6 poblaciones estuvieron presentes. El incremento de población del gránulo sencillo fue similar al caso anterior. Poblaciones con tamaños grandes se disolvieron rápido y eventualmente desaparecieron. La distribución final consistió principalmente de gránulo sencillo pero con una contribución significativa de agregados de Clase 1.

Para temperaturas de cocimiento mayores (67°C, Figura 4.6d), la distribución comenzó principalmente con agregados de Clase 5. Esta población disminuyó aumentando la población de agregados pequeños con una progresión similar a la que se observó en los casos previos. La distribución de la población final estuvo formada por agregados de diferentes tamaños, así como gránulos sencillos.

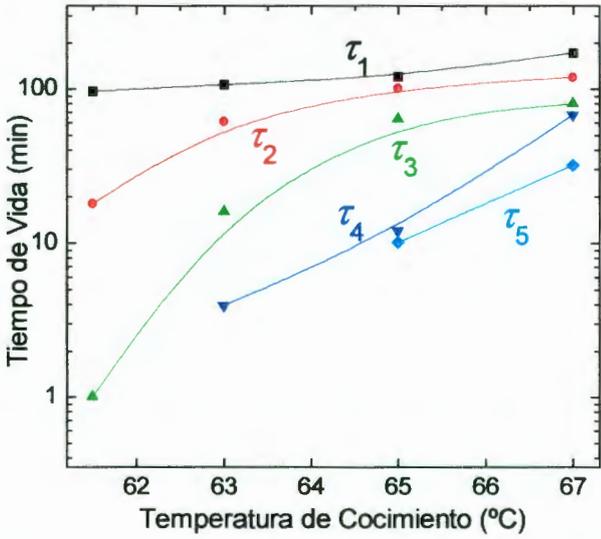


Figura 4.7. Tiempo de vida de los agregados en función de temperatura de cocimiento.

El tiempo de vida media de los agregados de Clase 1 no cambió drásticamente con la temperatura de cocción (Figura 4.7). Esto puede observarse directamente en los datos de la Figura 4.4, donde se muestra que estos agregados estuvieron presentes a tiempos largos de exposición a la agitación para todas las temperaturas consideradas. Esto indicó que el aumento en la temperatura en el intervalo considerado no cambió radicalmente el grado de

gelatinización (si el grado de gelatinización se incrementa se deshace el gránulo y por lo tanto se deshacen los agregados), sino que el efecto principal radicó en el número de gránulos gelatinizados. El incremento en la temperatura aumentó la probabilidad de que un gránulo no gelatinizado fuera vecino de más de un gránulo gelatinizado, dando lugar a la creación de agregados de mayor tamaño. Considerando que el tiempo de vida media de los agregados de Clase 5 dependió del número promedio de gránulos gelatinizados que los aglutinan, es explicable que el tiempo de vida de estos agregados haya mostrado una dependencia más fuerte con la temperatura de cocimiento (Figura 4.7).

5. Efecto de la temperatura de dispersión

Las muestras preparadas (Sección 2.1), se cocieron (Sección 2.1.2), durante 5 minutos a $63 \pm 0.1^\circ\text{C}$. Con este tratamiento térmico la muestra de almidón ya formó las cinco clases de agregados, y se asemeja más a las condiciones de los almidones de algunos alimentos como la masa para tortillas. Las muestras se dispersaron (Sección 2.1.2). en etanol durante: 4, 6, 15, 60, 120, 210, y 390 minutos. Las temperaturas de dispersión y medición en el granulómetro fueron seleccionadas sobre la base de las temperaturas que el granulómetro permitió, y correspondieron a 10, 25, 30, 40 y 50°C .

5.1 Comportamiento

En la Figura 5.1a se muestra la distribución de tamaño de partícula para las muestras tratadas (Sección 2.1.2.5), en ella se observó una clara tendencia a incrementar el volumen relativo de la población de los agregados de tamaño intermedio, con el incremento de temperatura, así como la disminución de los agregados de Clase 0.

La Figura 5.1b muestra las distribuciones de tamaño de partícula para las distintas clases de agregados obtenidas de la deconvolución de las distribuciones de tamaño de partícula mostradas en La Figura 5.1a, dispersadas y medidas a 40 y 50°C . Es importante notar que el aumento de la temperatura de dispersión no favoreció la formación de agregados de mayor tamaño, sino un aumento de área de los agregados de Clase 2, a expensas de los agregados de Clase 1 y 3 (Figura 5.1b).

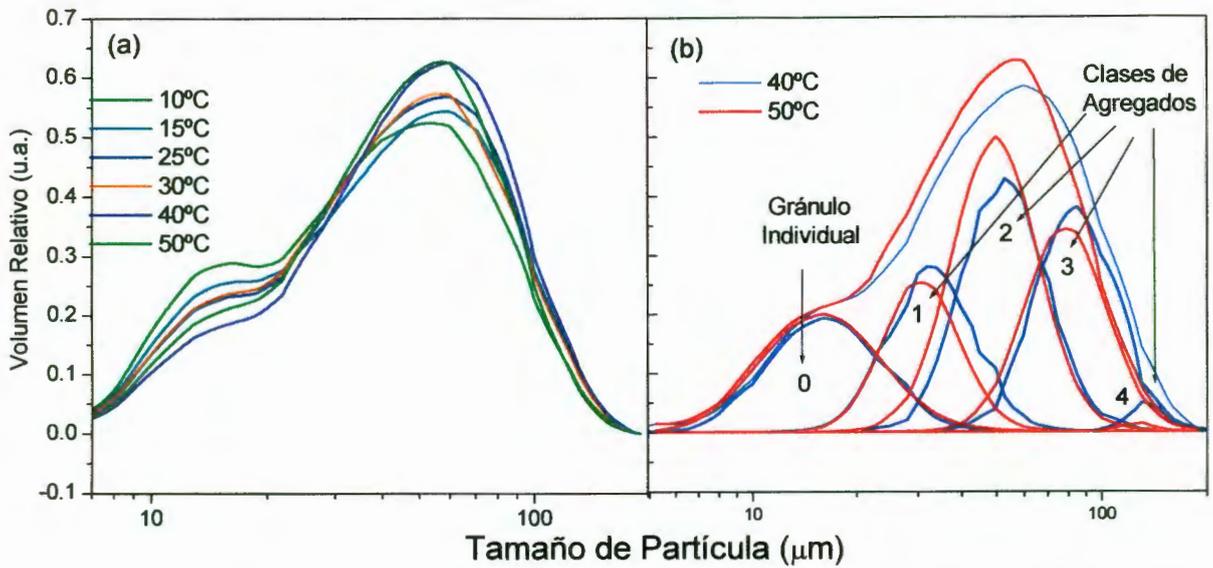


Figura 5.1. a) Distribución de tamaño de partícula de muestras de almidón cocidas a 63°C, dispersadas y medidas a diferentes temperaturas. b) Descomposición de las curvas de distribución de tamaño de partícula en Clases de agregados, de muestras de almidón cocidas a 63°C, dispersadas a 40 y 50°C. Las diferencias entre las distintas temperaturas son posiblemente debidas a cambios en el índice de refracción.

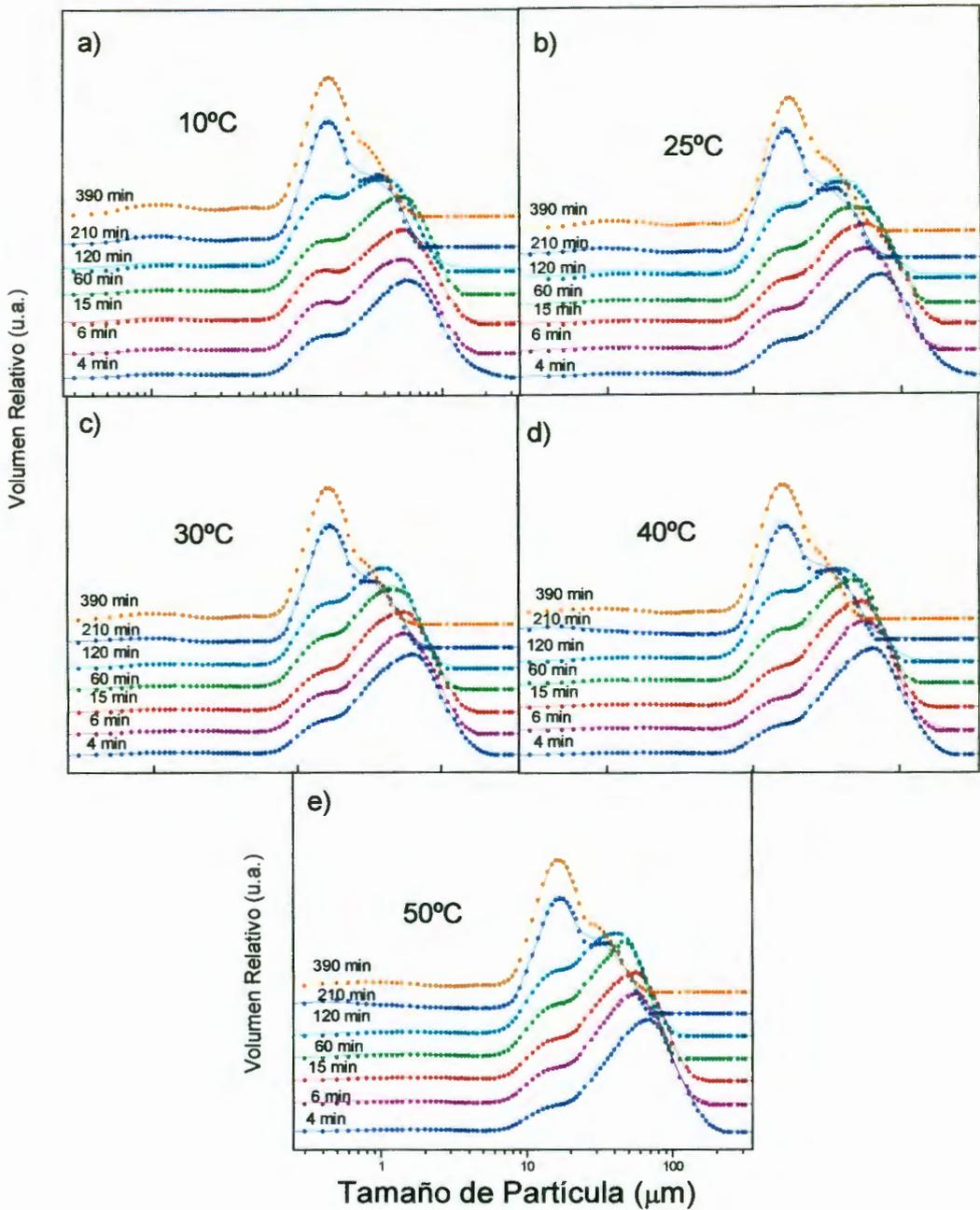


Figura 5.2. Evolución de la distribución de tamaño de los agregados inducida por agitación a diferentes temperaturas

5.2 Análisis

Para obtener los tiempos de vida media de las distintas Clases de agregados se estudió la cinética de desagregación (Sección 4.2) que se muestra en Figura 5.2, donde se muestra la evolución de la distribución de tamaño de partícula inducida por dispersión a diferentes temperaturas de dispersión, para todas las temperaturas de dispersión se observó

el mismo comportamiento, a los 4 minutos de cocción se observaron dos picos en la distribución de tamaño de partícula, el correspondiente a la Clase 0 y otro que tiene un rango de tamaños de 20-200 μm , mientras que a 390 minutos de dispersión solo se tienen agregados de Clase 0 y un pequeño hombro con tamaños de partícula entre 20-40 μm . En la Figura 5.3 se observa que la agitación causó la desaparición de los agregados de mayor tamaño y un crecimiento continuo de la población de gránulos individuales. Los agregados de Clase 1 tienen su máximo aproximadamente a los 210 minutos de dispersión como se observa en la Figura 5.4a. mientras que los agregados de Clase 2 se mantienen constantes aproximadamente hasta los 60 minutos de dispersión (Figura 5.4b) a partir de los cuales comienzan a disminuir. Los agregados de Clase 3 y 4 tienen una disminución continua conforme aumenta el tiempo de dispersión y prácticamente no se tienen diferencias significativas para las distintas temperaturas de dispersión (Figura 5.3c, d).

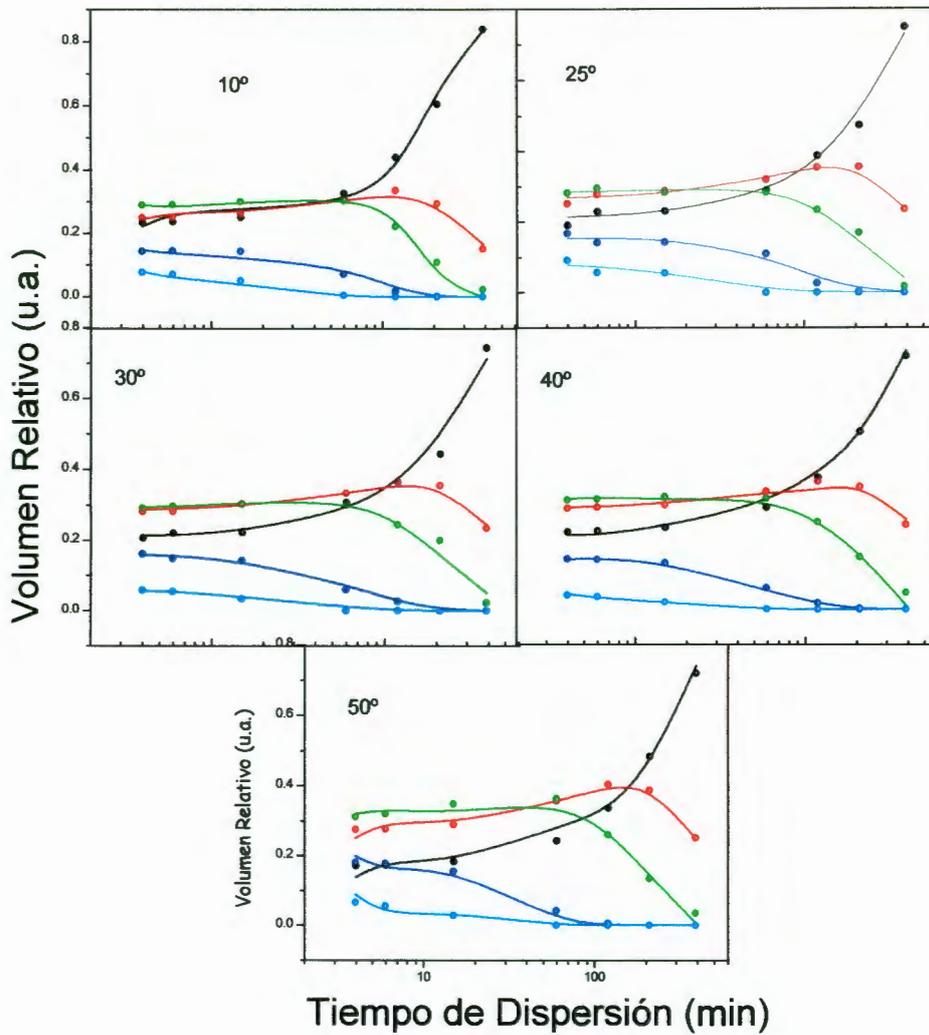


Figura 5.3. Evolución de las poblaciones de los diferentes clases de agregados de muestras cocidas 5 minutos a 63°C, con tiempos de dispersión de (4-390 minutos) para cada temperatura de dispersión (10, 25, 30, 40 y 50°C).

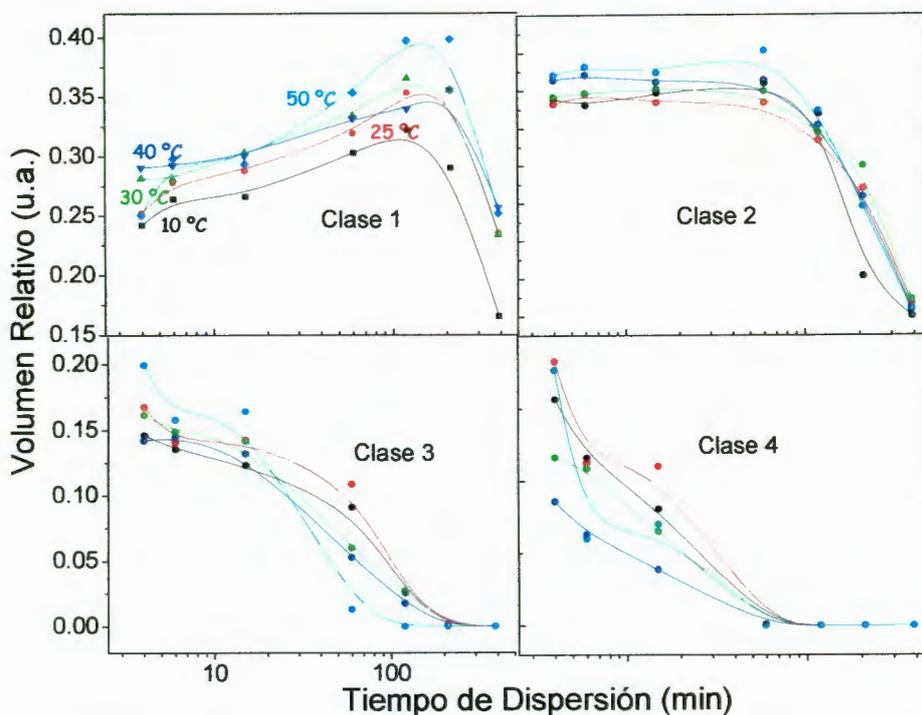


Figura 5.4. Evolución de las distintas clases de agregados obtenidas del análisis de las distribuciones de tamaño de partícula.

Los agregados de Clase 1 van incrementando su población conforme aumenta la temperatura de dispersión, a la temperatura de 50°C se presenta la mayor población de estos agregados y la menor a 10°C Figura 5.4a. Los agregados de Clase 5 no se muestran en la Figura 5.4 porque su contribución es pequeña comparada con los agregados de Clase 4.

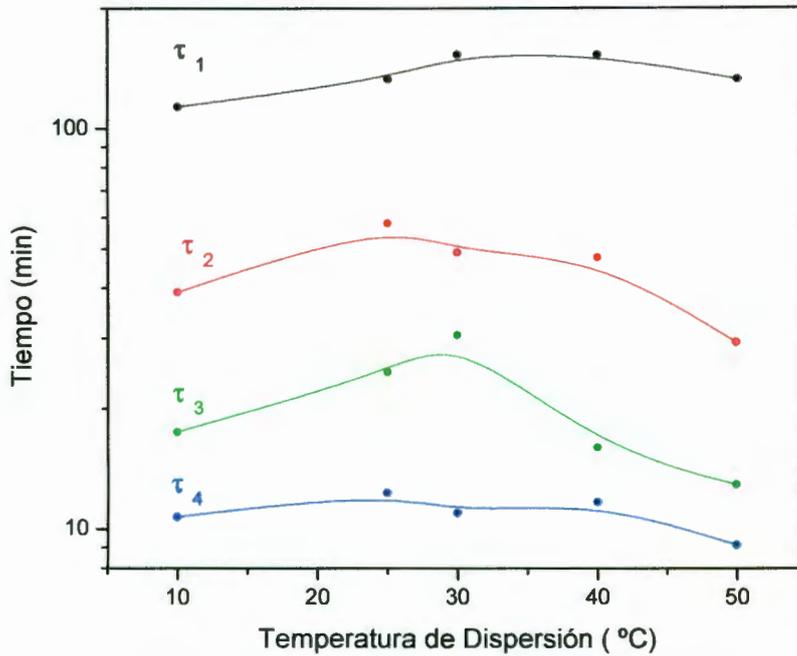


Figura 5.5. Tiempo de vida de los agregados en función de la temperatura de dispersión.

El tiempo de vida media de los agregados de Clase 1 aumento al aumentar la temperatura de dispersión. En el caso de agregados Clase 2 el máximo de tiempo de vida media se observó a la temperatura de 25°C y los agregados de Clase 3 a 30°C, mientras que el tiempo de vida media de los agregados de Clase 4 permaneció prácticamente constante, excepto a 50°C que es cuando disminuyó ligeramente Figura 5.5.

6. Cinética de Agregación

6.1 Obtención de las concentraciones iniciales de las distintas clases de agregados

Las muestras de almidón se prepararon (Sección 2.1), se cocieron (Sección 2.1.2) durante 2, 3, 5, 6 y 7 minutos a temperatura de $61.5 \pm 0.1^\circ\text{C}$ y durante 0.5, 2, 3, 5, 6 y 7 minutos a temperaturas de 63, 65, 67 y $69 \pm 0.1^\circ\text{C}$. Después de ser enfriadas se dispersaron (Sección 2.1.2) a temperatura ambiente durante 2, 4, 6, 15 y 60 minutos en etanol.

Para obtener las constantes de velocidad de las distintas clases de agregados se necesitan las concentraciones iniciales (es decir a tiempo cero de dispersión) de las distintas clases de agregados. Las concentraciones iniciales no se pueden medir experimentalmente a ese tiempo porque es indispensable dispersar la muestra para medir la distribución de tamaño de partícula. Estos datos se obtuvieron extrapolando los datos obtenidos de la cinética de desagregación (Sección 4.2.1) para cada temperatura (61.5, 63, 65 y 67°C) y tiempo de cocción (0.5, 2, 3, 4, 5, 6, y 7 minutos). Es decir para cada temperatura se realizó un barrido de 0.5-7 minutos de cocción, y para cada tiempo de cocción se hizo un barrido de tiempos de dispersión de la muestra en el intervalo de 1-60 minutos. Realizándose un total de 168 experimentos, sin contar las repeticiones que se llevaron a cabo (un mínimo de tres para cada muestra).

Para el estudio de la cinética de agregación, la deconvolución de las distribuciones de tamaño de partícula se hizo tomando las distribuciones de tamaño de partícula obtenidas de muestras cocidas 7 minutos a temperaturas de 67, 65 y 63°C y dispersadas como se indica en la Sección 2.1, las últimas tres distribuciones de tamaño de partícula se obtuvieron de muestras cocidas 7, 5 y 2 min, a temperatura de 61.5°C y dispersadas 1 h, 15 min y 4 min respectivamente. Se escogieron estos tiempos y temperaturas de cocimiento para hacer un barrido completo de los tamaños que se forman durante el cocimiento de las muestras y escoger el centro de cada agregado que represente mejor al mismo tiempo a todas las

temperaturas estudiadas. Con estas distribuciones de tamaño de partícula se obtuvo el mejor ajuste para todas las temperaturas y tiempos de cocción.

Como se mostró en la Sección 3.3 la temperatura de cocción afectó el tamaño de los agregados de almidón, influencia debida al grado de gelatinización (Sección 3.4) que alcanzó la muestra, pequeñas variaciones en la temperatura y tiempo de cocción dan como resultado distribuciones de tamaño de partícula diferentes, debido al grado de gelatinización. La cinética de agregación permitió proponer un mecanismo de reacción para la agregación de gránulos de almidón. Conforme se incrementó el tiempo de cocción para cada una de las temperaturas estudiadas fueron apareciendo agregados de mayor tamaño, mientras la población de gránulo sencillo de almidón se vio fuertemente afectada por el tiempo y la temperatura de cocción. La Figura 6.1 muestra la influencia del tiempo de cocción en la población de agregados de almidón cocidos a diferentes temperaturas y dispersados 6 minutos a temperatura ambiente en etanol. Los tiempos usados van de 0.5 hasta 7 minutos. A temperatura de 61.5°C no se mostró la gráfica de distribución de tamaño de partícula para 0.5 minutos de cocción porque no se observó diferencia significativa entre ésta distribución y la obtenida para el almidón crudo. A ésta temperatura se observaron dos picos claramente definidos a partir de los dos minutos de cocción, y a partir de los 6 minutos comenzó a aparecer un pico alrededor de 100 μm (Figura 6.1a), este mismo pico se observó también a partir de 3 minutos de cocción a temperatura de 63°C (Figura 6.1b). En la Figura 6.1c se observó como éste pico aparece a los dos minutos de cocción y la aparición de un pico alrededor de 200 μm a partir de los 7 minutos de cocción. Este pico se observó claramente desde los 2 minutos de cocción a temperatura de 67°C Figura 6.1d.

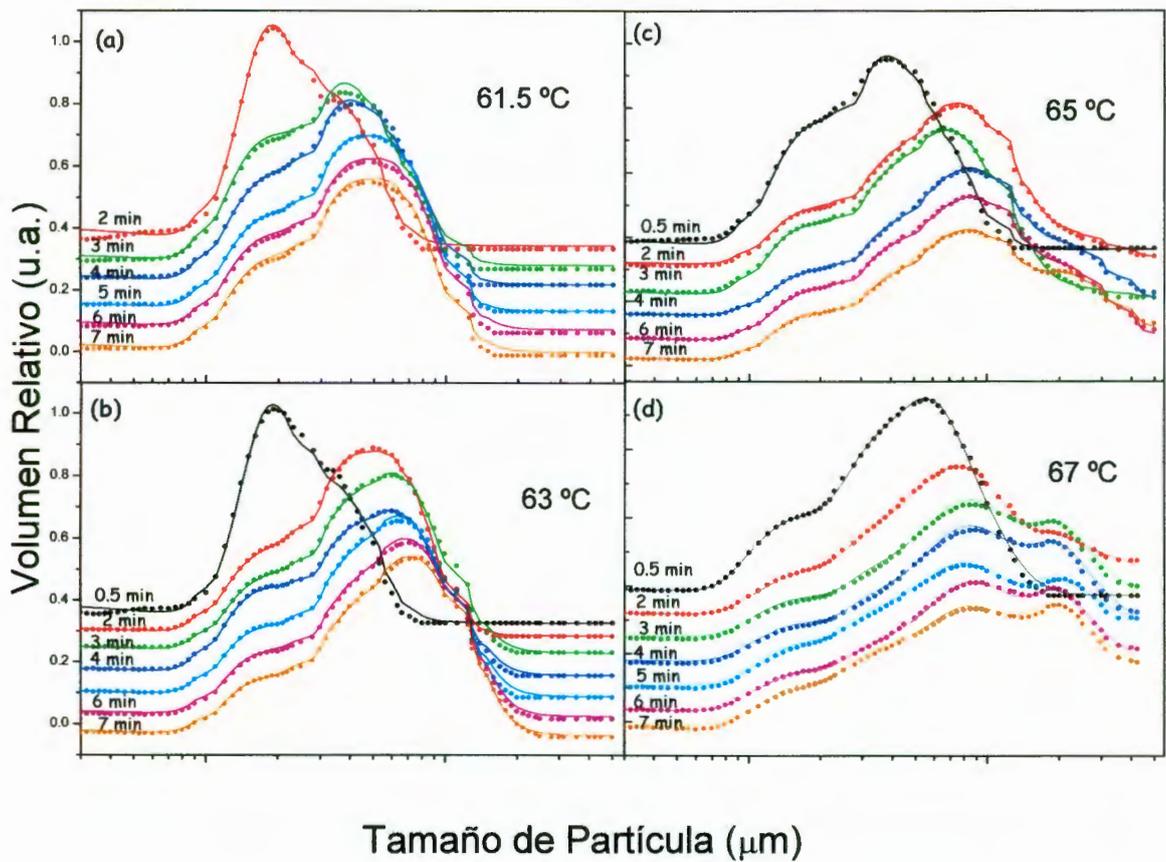


Figura 6.1. Evolución de la distribución de tamaño de los agregados inducida por el aumento en el tiempo de cocción.

6.2 Análisis

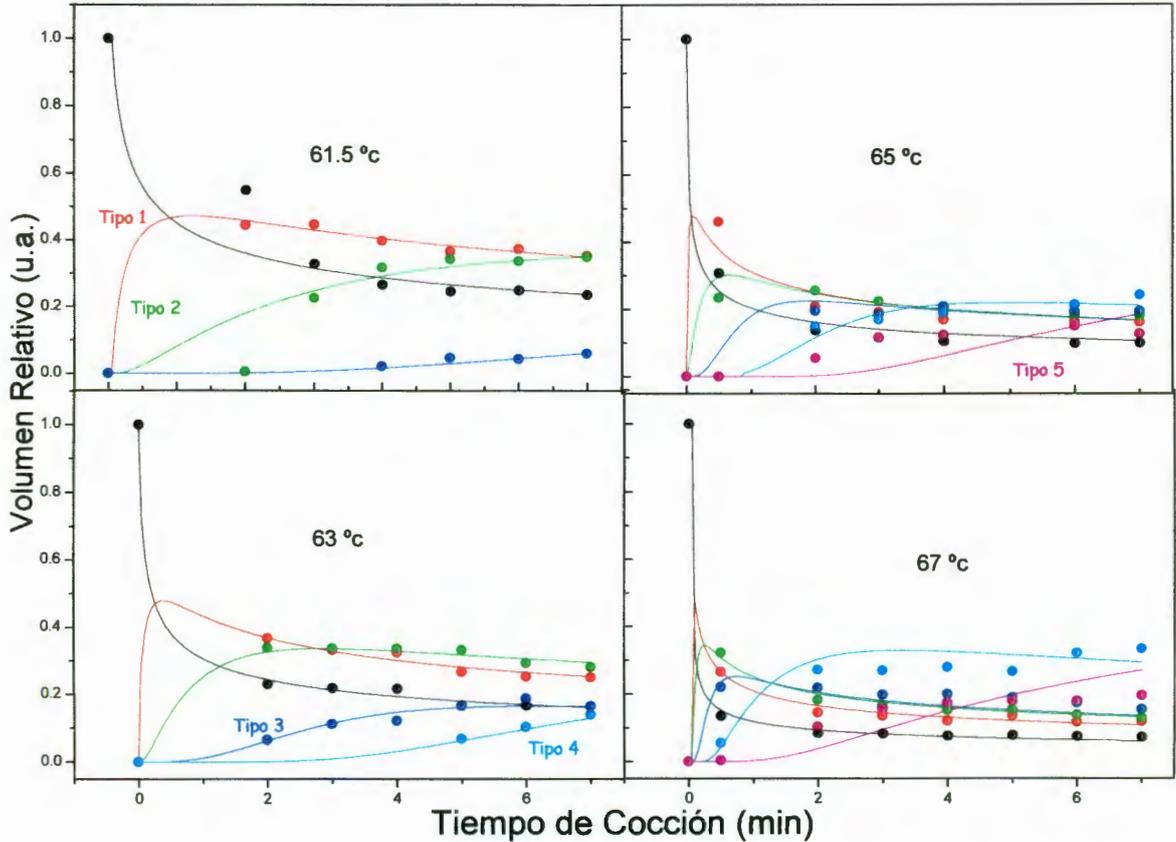


Figura 6.2. Representación de las concentraciones de las diferentes clases de agregados en función del tiempo de cocción.

Los datos experimentales obtenidos a partir de la extrapolación de las cinéticas de desagregación para cada uno de los tiempos de cocción se muestran en la Figura 6.2, en la que se puede observar como el gránulo sencillo de almidón se ve fuertemente afectado por la temperatura de cocción. Mientras que a 61.5°C, y dos minutos de cocción se tiene aproximadamente un 77 % de gránulo sencillo, a 63°C tenemos en ese mismo tiempo solo un 20 %, y a 67°C menos del 20%. El agregado de Clase 1 obtenido de muestras cocidas a 61.5 tiene su máximo a los 3 minutos, el obtenido de muestras cocidas a 63°C tiene su máximo a los 2 minutos de cocción , pero para temperaturas de cocción de 65 y 67°C, tiene su máximo a 0.5 minutos de cocción.

Los agregados de Clase 2 aparecen hasta los tres minutos de cocción a 61.5°C y tienen un crecimiento monótono al aumentar el tiempo de cocción. A 63 y 65°C se forman a

los dos minutos a y a medio minuto de cocción para 67°C. Los agregados de Clase 3 aparecen a los cuatro minutos de cocción a 61.5°C, a dos minutos a 63 y 65°C y a medio minuto a 67°C. Por último los agregados de Clase 4 y 5 aparecen a los cinco minutos de cocción a 63°C, a dos minutos a los 65°C y a medio minuto a 67°C y tienen un aumento monótono conforme aumenta el tiempo de cocción.

Con base en estos resultados se propuso un mecanismo de reacciones en serie. La Figura 6.3 muestra una representación esquemática en forma plana de la formación de las distintas clases de agregados, con su correspondiente ecuación estequiométrica para cada reacción. Todas las reacciones son de cuarto orden, ya que un agregado de Clase 1 se forma de al menos tres gránulos no gelatinizados (que están representados con la cruz de malta) de almidones unidos por un gránulo gelatinizado (representado por un gránulo de forma irregular en tonos de azul), un agregado de Clase 2 se forma de al menos tres agregados de Clase 1 unidos por medio de un gránulo gelatinizado, de la misma manera se van formando los agregados de Clase 3, 4 y 5. Todas las reacciones son irreversibles, debido a que la reacción de gelatinización del gránulo de almidón es irreversible.

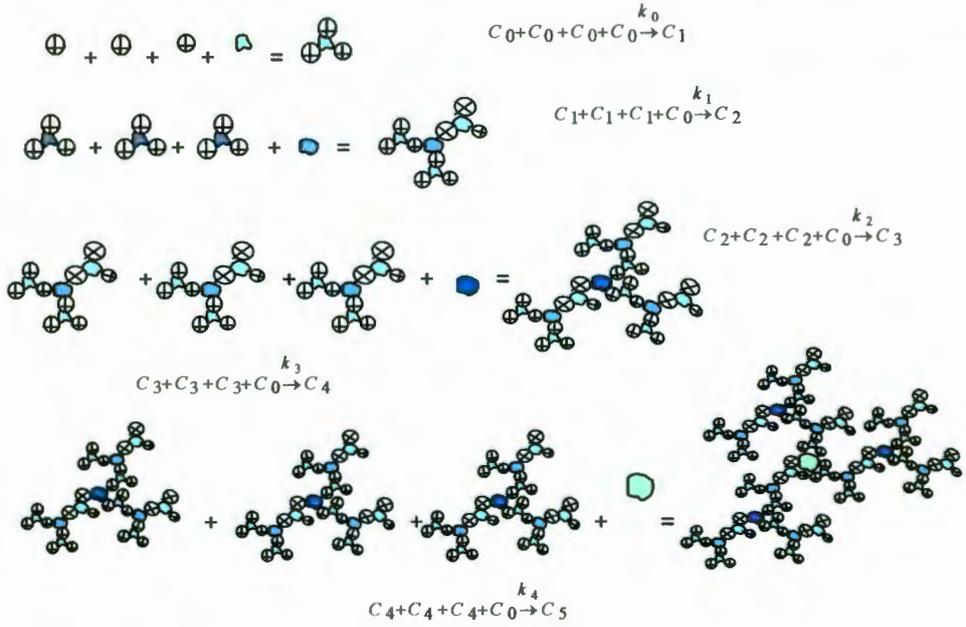


Figura 6.3. Representación esquemática del mecanismo de reacción propuesto para la agregación de gránulos de almidón

El sistema de ecuaciones que nos representa éste mecanismo de reacciones químicas en serie es:

$$\begin{aligned}
 \text{Ec. 6.1} \quad & \frac{d}{dt}C_0[t] = -k_1 C_0[t]^3 C_0[t] \\
 & \frac{d}{dt}C_1[t] = k_0 C_0[t]^3 C_0[t] - k_1 C_1[t]^3 C_0[t] \\
 & \frac{d}{dt}C_2[t] = k_1 C_1[t]^3 C_0[t] - k_2 C_2[t]^3 C_0[t] \\
 & \frac{d}{dt}C_3[t] = k_2 C_2[t]^3 C_0[t] - k_3 C_3[t]^3 C_0[t] \\
 & \frac{d}{dt}C_4[t] = k_4 C_4[t]^3 C_0[t]
 \end{aligned}$$

Como se observa en los ajustes (Figura 6.2), para la temperatura de 61.5 y 63°C se obtiene una buena aproximación. Cuando la cocción se hace a temperaturas mayores se tiene problemas para reproducir el comportamiento de los agregados principalmente en tiempos cortos.

En el caso de 67°C es aún más rápida la desaparición del gránulo sencillo de almidón, alcanzando una concentración constante prácticamente al minuto de cocción. Esto sugiere que el agua juega un papel importante. A altas temperaturas el agua reacciona rápidamente con el almidón produciendo gránulos gelatinizados que forman el agregado Clase 1, el cual a su vez reacciona con otros dos agregados de Clase 1 y otro gránulo gelatinizado para formar el agregado Clase 3, y así sucesivamente, hasta que se llega al agregado Clase 5. A mayor temperatura estas reacciones se efectúan más rápidamente de tal manera que el agua disponible se termina rápidamente, como en el caso de 67°C. Aproximadamente a los 4 minutos de cocción los agregados de Clase 1, 2 y 3 alcanzan el equilibrio.

El sistema de ecuaciones Ec. 6.1 se resolvió numéricamente, encontrándose los valores de las constantes de velocidad para cada reacción. La solución al sistema de ecuaciones propuesto está representada en líneas continuas en la Figura 6.2, donde se observa que el ajuste propuesto reproduce bien los agregados de Clase 1, 3, 4 y 5, pero no los de Clase 2.

Las constantes de velocidad de reacción calculadas con el sistema de ecuaciones propuesto para la temperatura de 61.5°C se muestran en el Cuadro 6.1, la reacción que determina la velocidad total es la de formación del agregado de Clase 3, pues su constante de velocidad es la más baja.

El Cuadro 6.1 muestra también los coeficientes de correlación para la dependencia de la velocidad de reacción con la temperatura.

Las constantes de velocidad de reacción calculadas para la temperatura de 63°C muestran tendencia a favorecer la formación rápida de agregados de Clase 4. Pero la velocidad de reacción depende de la formación de agregados de Clase 3. Aunque la constante de velocidad de los agregados de Clase 4 es grande, estos no se forman hasta que se han formado los agregados de Clase 3, como lo muestran los datos experimentales Figura 6.1b.

Las constantes de velocidad de reacción calculadas para la temperatura de 65°C favorece la formación rápida de agregados de Clase 4. En este caso la reacción determinante es la de formación del agregado Clase 2. La constante de velocidad de los agregados de Clase 4 es mayor que la de formación de agregados de Clase 5, sin embargo éstos no aparecen hasta que se forman los de Clase 4 (Figura 6.1c).

La constante de velocidad de reacción para agregados Clase 1 es muy grande. Es el doble de la de formación de agregados de Clase 2. La reacción que determina la velocidad de toda la reacción es la de formación del agregado de Clase 5.

Las constantes de velocidad de reacción y sus correspondientes energías de activación calculadas para cada temperatura se muestran en la Cuadro 6.1, donde se observa que todas las constantes de velocidad aumentan al aumentar la temperatura de cocción.

Cuadro 6.1 Constantes de velocidad de las reacciones químicas y su correspondiente energía de activación.

T (°K)	K_0	K_1	K_2	K_3
334.6	3.49	2.48	1.63	
336.1	11.37	7.39	7.18	44.68
338.1	39.61	26.3	41.99	58.25
340.1	212.6	105.7	103.9	136.9
E_a	-162.8	-150.07	-169.18	-61.56
R^2	0.9782	0.9876	0.9961	0.8127

La Figura 6.4 muestra la dependencia de la velocidad de reacción con la temperatura propuesta por Arrhenius (Ec. 2.2). Las energías de activación para cada clase de agregado de dan en el Cuadro 6.1.

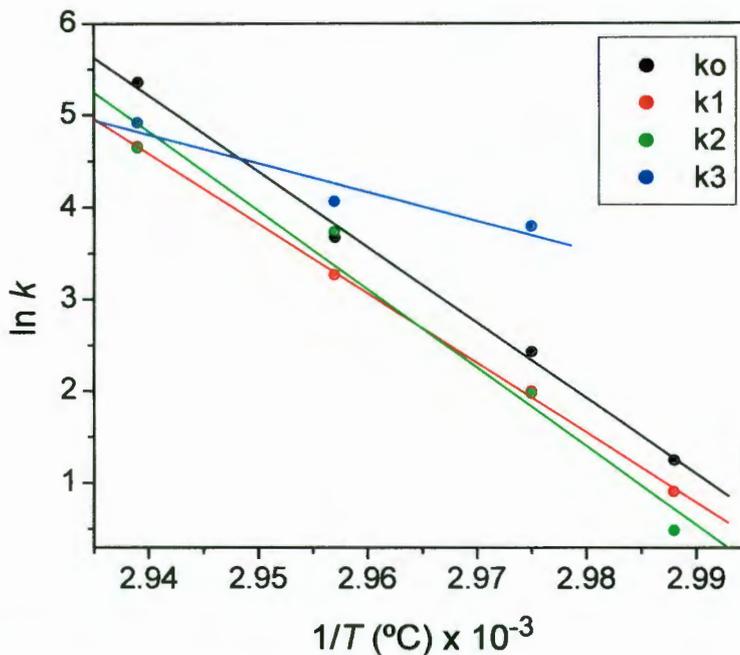


Figura 6.4. Representación de $\ln k$ versus $1/T$.

Estos resultados muestran que se requiere aproximadamente de 162 Kcal/mol para formar agregados de Clase 1, 2 y 3. Debido probablemente a que el gránulo de almidón actúa como agente agregante. Y de la mitad de la energía requerida para estos agregados, para el caso de agregados de Clase 4.

La energía que se obtuvo para la formación de un mol de agregados del Clase 1, 2 ó 3 es aproximadamente la misma: 162,8 Kcal, que es del orden de la reportada por Freitas, et al., (2002). Freitas llevó a cabo un estudio de gelatinización de almidón cassava (con 24.2% de amilosa y 69.6% de humedad) obteniendo una energía de activación de aproximadamente $E_a = 100$ Kcal/mol con la ecuación de Arrhenius.

La energía de formación de un mol de enlaces de hidrógeno del Tipo $O \cdots H - O -$ es del orden de 3 a 8 Kcal/mol. Dividiendo estas energías obtenemos un total 20 enlaces de hidrógeno, que posiblemente sean los necesarios para desencadenar la formación de agregados de Clase 1, 2 o 3.

7. Trabajo Futuro

La cinética de desagregación que se realizó para estudiar el efecto de la temperatura de dispersión mostró que sólo a una temperatura de 30°C de dispersión, se tiene un máximo para el tiempo de vida media para los agregados de Clase 3. Para estudiar éste comportamiento es necesario elaborar un diseño experimental.

Con el método desarrollado a través de la distribución de tamaño de partícula se encontró la energía de activación de los distintos tipos de agregados (Cuadro 6.1) que se forman durante la cocción de los almidones. Esta investigación es completamente nueva, por lo que en la literatura no se cuenta con ninguna referencia al respecto. Se sugiere utilizar la Calorimetría Diferencial de Barrido para obtener la energía de gelatinización de cada Clase de agregado. Dependiendo de la temperatura y tiempo de cocimiento (Figura 6.2) se cocerán muestras que tengan sólo agregados de Clase 1; muestras que solo tengan agregados de Clase 1 y 2; solo agregados Clase 1, 2 y 3, y así hasta tener muestras con los cinco Clases de agregados. La energía de gelatinización de los agregados Clase 2 se obtendrían por diferencia entre las muestras que sólo tienen agregados Clase 1 y las que tienen Clase 1 y 2, y de igual manera se obtendrán las energías de gelatinización de los agregados Clase 3, 4 y 5.

Hasta el momento se han efectuado estudios en un sistema modelo idealizado. Se emplearon materiales de grado analítico, almidón y condiciones controladas de laboratorio. Para poder aproximar los resultados obtenidos y emplear la experiencia adquirida en un sistema más real es necesario efectuar una variación del modelo incluyendo proteínas y lípidos. Estudiar el efecto en la distribución de tamaño de partícula cuando al modelo le adicionamos un porcentaje de proteínas y lípidos semejante al que contienen algunos alimentos como la masa para tortillas de maíz.

8. Conclusiones

1. Se propuso un protocolo de cocción y dispersión de las muestras que permitió utilizar la dispersión de luz para obtener en forma reproducible la dependencia de la agregación de gránulos de almidón con los parámetros de cocimiento, así como el efecto del solvente utilizado para hacer la dispersión de las muestras. La agregación disminuyó al utilizar dispersantes líquidos de alta polaridad. Se encontró que la agregación es sumamente sensible al grado de cocimiento cuando la muestra se dispersa en etanol, mientras que al dispersarse en agua los agregados se deshacen.
3. El tamaño de los gránulos de almidón cocido aumenta cuando son dispersados en agua, mientras que al dispersarse en etanol su tamaño no cambia.
4. La agregación de gránulos puede ser explicada a través de la formación de clases de agregados. Dependiendo de la temperatura y tiempo de cocción vamos a tener por ejemplo para la temperatura de 61.5°C, solo dos tamaños de agregado en comparación con los cinco tamaños que tenemos cuando la temperatura es de 67°C.
5. El grado de gelatinización de los gránulos individuales promueve la formación de agregados de distintas clases de tamaño. Es decir, la agregación se ve favorecida cuando el número de gránulos gelatinizados aumenta.
6. La descomposición de los agregados se da a través de fracturas, obteniéndose agregados de menor tamaño. Se observó un comportamiento sumamente regular entre el número de agregado y su tamaño, más aún, una dependencia de tipo exponencial ($T \approx 18.1 \times 1.6^n$, donde n es la clase de agregado). El tamaño representativo de cada agregado fue 1.6 veces al del anterior en una estructura tipo fractal.
7. La cinética de desagregación puede ser explicada a través de un modelo de destrucción aleatoria con tiempos de vida media bien definidos para las distintas clases de agregados.
8. En el estudio de la temperatura de medición y dispersión se observó una clara tendencia de incremento de la población de agregados con el incremento de temperatura, así como la disminución de tamaño del pico correspondiente al gránulo

sencillo de almidón.

9. Se encontró que el intervalo de tiempos de cocimiento tiene su máximo alrededor de 7 minutos a una temperatura de 63°, pues a tiempos mayores de cocimiento el gránulo de almidón se deshace y en consecuencia se presenta la disminución de los agregados de mayor tamaño.
10. La cinética de agregación pudo ser explicada a través de un mecanismo de cinco reacciones en serie irreversibles.
11. La formación de las distintas clases de agregados se modeló considerando que el agregado de Clase 1. se forma por la unión de un gránulo de almidón gelatinizado y tres gránulos de almidón, los agregados de Clase 2, se formaron por la unión entre un gránulo gelatinizado y tres agregados de Clase 1, de igual manera se forman los agregados de Clase 3, 4 y 5. La energía de activación para los agregados de Clase 1, 2 y 3 es aproximadamente la misma. Debido a que el gránulo gelatinizado actúa como agente agregante.
12. A partir del mecanismo de reacción propuesto se planteó un sistema de ecuaciones diferenciales no homogéneas, que se resolvió numéricamente mediante un programa de Matemática. Lo que permitió reproducir los datos experimentales de manera aceptable, y obtener las constantes de velocidad para cada reacción. Las energías de activación de las distintas clases de agregados fueron calculadas, y se encontró que se requiere aproximadamente de 162 Kcal/mol para formar agregados de Clase 1, 2 y 3. Debido probablemente a que el gránulo de almidón actúa como agente agregante. Y de la mitad de la energía requerida para estos agregados, para el caso de agregados de Clase 4.
13. 162 Kcal/mol equivalen a un enlace covalente H-O, o a 20 enlaces de Hidrógeno que son los que posiblemente sean necesarios para desencadenar la formación de agregados de Clase 1, 2 o 3. Sin embargo es necesario hacer más investigación para saber el significado de esta energía de activación.

9. Bibliografía

- Bechtel D.B., Wilson J.D., and Gaines C. S. 2000. Comparison of digital image analysis data to a laser light diffraction instrument for analysis of starch size distributions. AACC Annual Meeting.
- Biliaderis, C.G. 1991a. The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 69, 60-78.
- Biliaderis, C.G. 1991b. Non-equilibrium phase transitions of aqueous starch systems. In *Water Relationships in Foods*, eds. H. Levine and L. Slade. Plenum press, New York, pp. 251-273.
- Bumiller M, Malcolmson A. 1998. Particle size analysis - a review. *World Cement*. 29:50.
- Craig Gardner M., Welch A. J. 1994. Monte Carlo simulation of light transport in tissue: unscattered absorption events. *Applied Optics*, 33, 13, 2743.
- DaSilva P.M.S., Oliveira J.C., Rao M.A. 1997. Granule Size Distribution and Rheological of Heated Modified Waxy and Unmodified Maize Starch Dispersions., *Journal of texture studies*. 28:12.
- Etzler F.M. and Deanne R. 1997. Particle Size Analysis: A Comparison of Various Methods II. *Particle & Particle Systems Characterization*. 14:278.
- Farmakis L., Sakellarakis J., Koliadima A., Gavril D., Karaiskakis G. 2000. Size analysis of barley starch granules by sedimentation/steric field flow fractionation. *Starch/Starke*. 52:275-281.
- Freitag R.A., Paula R.C., Feitosa J.P.A., Rocha S., Sierakowski M.R. 2003. Amylose contents, rheological properties and gelatinization kinetics of yam (*Dioscorea alata*) and cassava (*Manihot utilissima*) starches. *Carbohydrate Polymers*. 55:3-8.
- Gallant D.J., Bouchet B., Baldwin P.M. 1997. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. *Carbohydrate Polymers*. 32:177.
- Gómez, M.H., Lee J.K., McDonough C.M., Waniska R.D., and Rooney L.W. 1992. Corn Starch Changes During Tortilla Chip Processing. *Cereal Chemistry*, 69(3), 275-279.
- Guilbot A. and Mercier C. 1985. Starch. In *the Polysaccharides*, ed. O. Aspinall. Academic Press, New York, pp. 209-282.
- Harrigan K.A. 1997. Particle size analysis using automated image analysis. *Cereal Foods*

World. 42:30-35.

- Herrera-Gómez A. "AAnalyzer: Un Programa de Análisis para Espectros de Infrarrojo y de Fotoemisión" Alberto Herrera-Gómez. Reporte Interno, Julio de 1998 LIM-CINVESTAV (Registro S.E.P. Número 03-1999-051710412300, diciembre de 1999, México).
- Herrera-Gómez A.; Aguirre-Tostado F.S., Y. Pianetta Sun P, Marshall Z. Yu, D., Droopad R., Spicer W.E.. 2001 "Photoemission from the Sr/Si(001) Interface.". *Journal of Applied Physics* 90, p. 6070.
- Hirshfeld D., Rapaport D. C. 1997. Molecular dynamics studies of grain segregation in sheared flow. *Physical Review*. E 56:2012.
- Hood, L.F. 1982. Current concepts of starch structure. In *Food Carbohydrates*, eds. D.R. Lineback and G.E. Inglett. AVI Publishing Co. Inc., Westport, pp. 217-269.
- Hoseney, R.C., Zeleznak, K.J. and Yost, D.A. 1986. A note on the gelatinization of starch. *Starch/Starke*, 38, 407-409.
- Hsu S., Lu S., and Huang C. 2000. Viscoelastic Changes of Rice Starch Suspensions During Gelatinization. *Journal of Food Science*. 65:215-220.
- Hwang C.H., Heldman D.R., Chao R.R., and Taylor T.A. 1999. Changes in Specific Heat of Corn Starch Due to Gelatinization. *Journal of Food Science*. 64. 141-144.
- Lai L.S. and Kokini J.L. 1991. Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion (a review). *Biotechnology Progress*, 7, 251-266.
- Lee Y.C. and Kim K.T. 1990. Gelatinization and liquefaction of starch with a heat stable α -amylase. *Journal of Food Science*, 55, 1365-1366, 1372.
- Leloup V., Colonna P. and Ring S.G. 1990. Studies on probe diffusion and accessibility in amylose gels. *Macromolecules*, 23, 862-866.
- Loveland R.P. 2000. Methods of particle-size analysis. *Spie Milestone Series MS*. 163:389-421.
- Lund D. 1981. Influence of time, temperature, moisture, ingredients and processing conditions on starch gelatinization. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 20, 249-273.
- MacAllister R.V. 1979. Nutritive sweeteners made from starch. In *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Vol. 36, eds. S. Tipson and D. Horton. Academic Press, Inc. New York, pp. 15-56.

- Noel T.R., Ring Stephen G. 1992. A study of the heat capacity of starch/water mixtures. *Carbohydrate Research*. 277:203-213.
- Peterson D.G., Fulcher R.G. 2001. Variation in Minnesota HRS wheats: starch granule size distribution. *Food Research International*. 34:357-363.
- Pflugfelder R.L., Rooney L.W., and Waniska R.D. 1988. Fractionation and Composition of Commercial Corn Masa. *Cereal Chemistry*. 65:262-266.
- Pikus S., Jamroz J., Kobylas E. 2000. Fractal Structure Of Starch Extrudates-Investigation By Small Angle X-Ray Scattering. *Int. Agrophysics*. 14:93-98.
- Roger P., Bello-Perez L.A., Colonia P. 1999. Contribution of amylose and amylopectin to the light scattering behavior of starches in aqueous solution. *Polymer*. 40:6897-6909.
- Sahai D., Buendia M.O., Jackson D.S. 2001. Analytical Techniques for Understanding Nixtamalized Corn Flour: Particle Size and Functionality Relationships in a Masa Flour Sample. *Cereal Chemistry*. 78:14-18.
- Singhal, R.S. and Kulkarni, P.R. 1988. Review: amaranths- an underutilized resource. *International Journal of Food Science and Technology*, 23, 125-139.
- Slade L. and Levine H. 1991. Beyond water activity: Recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30, 115-360.
- Thurn A. and Burchard, W. 1985. Heterogeneity in branching of amylopectin. *Carbohydrate Polymers*, 5, 441-460.
- Wang N.N., Yu X.H. 1998. In-situ laser measurement of droplet size of aerosols. *Review of Laser Engineering*. 26:42-5.
- Zobel H.F. 1988. Molecules to granules: a comprehensive starch review. *Starch/Starke*, 40, 44-50.

Aggregation in cooked maize starch

A. Herrera-Gómez^{a,*}, M. Canónico-Franco^b, G. Ramos^c, R.C. Pless^c

^aCINVESTAV-Querétaro. Libramiento Norponiente 2000, Querétaro, 76230 Mexico

^bUniversidad Autónoma de Querétaro. Cerro de las Campanas, Querétaro, 76010 Mexico

^cCICATA-IPN. José Siurob 10, Col. Alameda, Querétaro, 76040 Mexico

Received 9 November 2001; revised 8 March 2002; accepted 8 March 2002

Abstract

This paper focuses on the aggregation of starch granules. The starch was cooked in a limiting amount of water and dispersed in different solvents. The size of the resulting aggregates was measured using light scattering. The solvents employed in this study (water, glycerol, ethanol, and 2-propanol) dispersed the aggregates to different degrees and resulted in different size distributions for the starch aggregates. It was observed that the size distribution of the cooked starch dispersed in the less polar solvents showed a higher representation of larger aggregates. Higher cooking temperatures resulted in larger aggregates. The methodology here presented proved to be a reproducible and practical way to study aggregation of starch. © 2002 Elsevier Science Ltd. All rights reserved.

Keywords: Starch; Aggregation; Size distribution; Cluster; Swelling

1. Introduction

Many starch-based foods have characteristic rheological properties (resilience, elasticity, mouthfeel, etc.) that are perceived by the consumer as important determinants of the food quality. Some, at least, of those properties are closely correlated with the sizes of the particles constituting the finished food product or the material (dough) from which it derives, and the type and degree of interaction among them. The particles considered in this study were, on one hand, the biologically formed starch granules and, on the other, large aggregates formed from several starch granules during the processing of the food.

Khan, Des Rosiers, Rooney, Morgan, and Sweat (1982) developed a methodology to measure Particle Size Index of masa for preparation of tortilla that correlated well with the quality of the masas prepared under different conditions. It appears that the macroscopic cohesiveness of the material, perceived as texture or mouthfeel by the consumer, also dictates, at the microscopic level, the degree of aggregation of the fundamental starch granules. Therefore, the development of rapid and simple methodologies for the determination of particle size distribution in dough-like materials holds out considerable promise for the food industry, as

such methodologies might permit to perform in-line testing that could predict the quality of the final product.

Studies related to the size distribution of the solid particles in different types of flour or masa have been carried out for some time (see e.g. Gomez, Waniska, & Rooney, 1991; Pflugfelder, Rooney, & Waniska, 1988; Sahai, Buendia, & Jackson, 2001). Recently they have become more convenient and, above all, they provide more detailed information, with the advent of laser-light dispersion granulometers. This type of equipment is capable of fast evaluation of the size distribution in a wide range (from under 1 μm to 2 mm) of solid particles dispersed in liquids or in air, (see e.g. Devaux, Le Deschault de Monredon, Guibert, Novales, & Abelcassis, 1998). These granulometers conveniently output the size of the particles in terms of volume proportions, i.e. the graphs presented by the instrument directly reflect the volume, and hence, by approximating to constant density, the mass of the material that has a given size (expressed as particle diameter).

We are carrying out a research program on the degree of aggregation between starch granules in masa, with a view of correlating such data with the organoleptic qualities of the final product (e.g. tortilla, bread, etc.) originating from masa prepared under different conditions. The determination of the particle size distribution is performed by laser-light dispersion granulometry. This requires disaggregating the solid materials of interest (e.g. bread dough or nixtamalized corn flour) in a suitable dispersing liquid. The disaggregation protocol should be such that the short-range

* Corresponding author. Tel.: +52-442-211-9904; fax: +52-442-211-9937.

E-mail address: alberto@ciateq.mx (A. Herrera-Gómez).

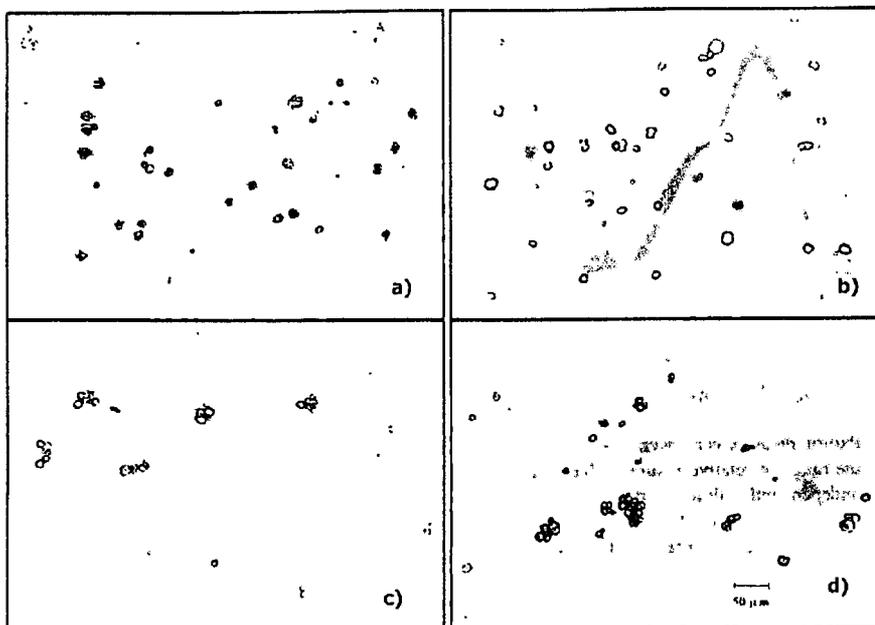


Fig. 1. Starch cooked at 65 °C and dispersed with different solvents: (a) water, (b) glycerol, (c) ethanol, and (d) 2-propanol. All microphotographs are on the same scale.

significant presence of larger aggregates, containing dozens of granules.

Fig. 2 shows the distribution of particle size of the starch samples with 50% of moisture content, cooked at 65 °C and then dispersed in the different solvents, as determined by light scattering. In the particle size distributions the y-axis represents the population of particles of a determined size weighted for volume, while the x-axis represents the effective diameter of the particles. In the cases of water and glycerol, the predominant peak was centered on a particle size of around 15–17 μm, which corresponds to the size of single maize starch granules. Some smaller particles were

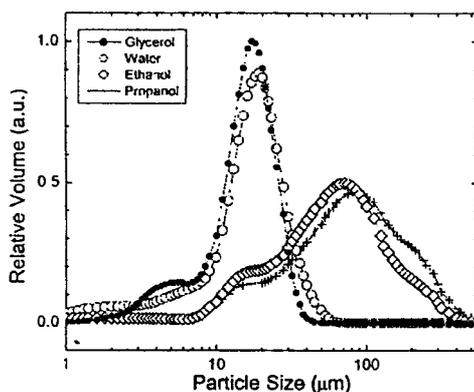


Fig. 2. Size distribution of starch cooked at 65 °C and dispersed in different solvents, as determined through light scattering. The higher-polarity solvents were more efficient in destroying the aggregates and in dispersing the cooked starch down to the starch granule constituents. The aggregates present in the samples dispersed in alcohol were constituted from cluster classes with defined sizes.

also observed in water (a shoulder around 1.6 μm) and with glycerol (a shoulder centered around 5 μm). These could correspond to oil and protein bodies present in maize grains.

Very different distributions were observed for ethanol and 2-propanol. While particles with a size around 18 μm were still clearly evident as a shoulder, the distribution maxima occurred at 75 and 90 μm for ethanol and 2-propanol, respectively. For these two solvents, a significant amount of material up to sizes of 250 μm was present, while particles smaller than 7 μm could not be observed; it is possible that the alcohols dissolved oil bodies and protein bodies. These distributions were consistent with the microscopic observations: essential absence of larger particles for glycerol and water, and aggregates of significant size in 2-propanol and ethanol.

Cooking of maize starch at 65 °C in the presence of a limiting amount of water resulted in a significant degree of aggregation between the starch granules. While glycerol and water were able to disaggregate the agglomerates practically down to single granules, when 2-propanol or ethanol were employed these aggregates were retained, at least partially.

By comparing the effect of the different dispersing solvents, we observed a qualitative correlation between the presence of large aggregates and a low polarity of the solvent molecules. The dielectric constants of the liquids used in this study are: water, $D = 78.54$; glycerol, $D = 42.5$; ethanol, $D = 24.3$; 2-propanol, $D = 18.3$. The use of the low-polarity solvents (ethanol and 2-propanol) as dispersants resulted in a reduced population of single starch granules in favor of larger aggregates. This trend was more pronounced for the alcohol with the lower polarity, viz.

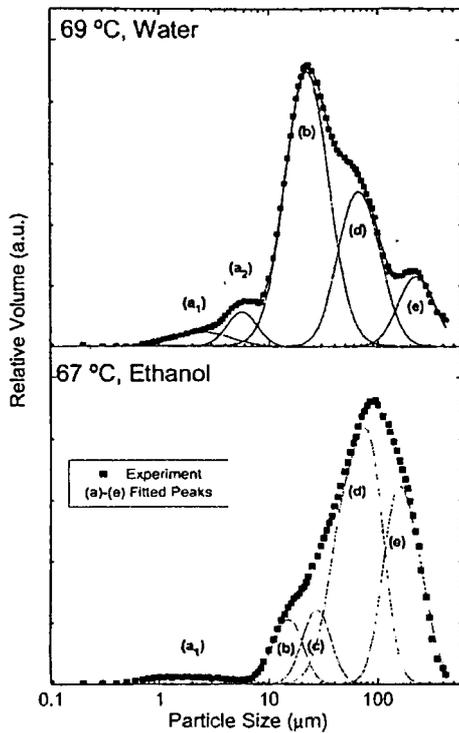


Fig. 6. Typical decomposition of the size distribution in different particle classes. Particles of type (a) may be oil and protein bodies that were dissolved by alcohol. The single granules are represented by the particles of type (b). Particles of types (c)–(e) are granule clusters. Water was able to destroy the small clusters represented by (c).

peaks corresponding to the aggregates, but it was still present up to the highest temperature used.

3.4. Detailed analysis

From the raw data it was possible to distinguish clear peaks, which probably corresponded to different cluster classes. Detailed analysis reinforced this interpretation. The distributions were decomposed in a set of gaussian peaks. Fig. 6 shows the typical size distribution of samples dispersed in water and ethanol together with the peaks employed in the decomposition of these curves. An attempt was made to fit the experimental distributions with the least number of peaks that could reproduce the experimental data. The peaks are labeled (a) through (e); with (b) representing the single starch granules. Peaks (a₁) and (a₂) probably correspond to oil and protein bodies and will be referred to as corpuscles. Peaks (c), (d), and (e) correspond to aggregates of granules of different size. They will be referred to as first, second, and third cluster class, respectively. In both figures, the continuous line passing through the experimental data corresponds to the calculated curve (sum of the peaks). Similar cluster classes were found in samples dispersed in both water and ethanol. It is interesting to observe that peak (c) was not necessary to fit the data of

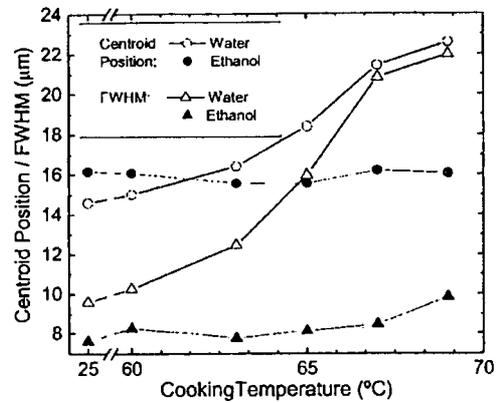


Fig. 7. Centroid and FWHM for the peak corresponding to single granules as a function of cooking temperature. The size increase of the granules dispersed in water was due to the extra swelling undergone by cooked starch granules when extra water was available. This water absorption occurred even at room temperature. In contrast, the cooked granules dispersed in alcohol did not show any size increase. The difference in size for the water and alcohol cases at the lower temperatures is not real. It is originated from imprecise values for the optical constant of cooked starch that were fed into the light scattering analyzer.

the dispersion in water, which suggests that water is able to destroy the first clusters.

Fig. 7 shows the centroid and the full width at half maximum (FWHM) of the single-granule peak as a function of the cooking temperature for dispersions in both water and ethanol. FWHM is given here simply as a measure of the spread in the particle sizes subsumed under a given peak in the deconvolution: the larger the FWHM of a peak, the broader is the distribution of the particles represented in that peak. In the case of the samples dispersed in water, the centroid position shifted from 14 μm at 25 °C to 23 μm at 69 °C, and the FWHM increased from 9.5 μm at 25 °C to 22 μm at 69 °C. This behavior suggests that starch granules originally cooked with limited access to water continue to swell when more water becomes available, even at room temperature.

The behavior of the population of the different aggregate classes for samples dispersed in ethanol showed a clear tendency: as the cooking temperature increased, the fractional population of the smaller clusters decreased in favor of larger-size cluster classes. Fig. 8 shows the population of the size classes of the aggregates as a function of the cooking temperature. At 25 °C about 80% of the population corresponded to single granules. This population decreased steadily with increasing cooking temperature and represented less than 10% of the whole population for samples cooked at 69 °C. The corpuscles showed the same trend, starting at about 10% at 25 °C, and then practically vanishing above 65 °C, though this is most likely due to dissolution. All of the three cluster types were initially absent and started to appear at 60, 63, and 65 °C, respectively. After their first appearance and an initial increase in their population at the lower cooking temperatures, the small clusters

Aggregate formation and segregation of maize starch granules cooked at reduced moisture conditions

Alberto Herrera-Gómez*

CINVESTAV-Querétaro. Libramiento Norponiente 2000, Querétaro, 76230 México

Marcia Canónico-Franco

Universidad A. de Querétaro. Cerro de las Campanas, Querétaro, 76010 México

Gonzalo Ramos

CICATA-IPN. José Siurob 10, Col. Alameda. Querétaro, 76040 México

Key words: starch granule, aggregation, segregation, size distribution, fractal.

* Corresponding author (aherrera@qro.cinvestav.mx).

Abstract

Through a systematic study of the kinetics of the destruction of aggregates of starch granules, it was possible to elucidate some details of the mechanism of their formation. The cooking of the starch, which was done with limited amount of water (1:1) to imitate the conditions of starch foods, induced the formation of aggregates of different sizes. These were dispersed in ethylene and agitated for different periods, provoking their desegregation. The size distribution, and its dependence with time, was measured by means of laser light scattering. It was found that the aggregates are built in a fractal-class geometry: a group of starch granules form a small aggregate, then groups of the latter build into larger ones, and so on, observing up to five scales, depending on the cooking degree. The aggregates are held together by gelatinized granules that show no cross of malt. The formation of the aggregate classes can be explained by a random granule popping at different points of the sample, with a lower probability of dual gelatinization of neighbor granules.

1. Introduction

Despite the high degree of sophistication of the food industry, that based on starch still contains an important handcraft component. An area that requires attention is the prediction of the properties of starch product from those of the material along the production process [1]. This class of prediction could be possible only after

understanding the interactions and the structural changes undergone by the raw material. In the initial stages of the process of production, the starch-starch interactions are responsible for the formation of aggregates, and they determine the consistency of the dough [2, 3]. The aggregation of starch granules determines the rheological properties of starch dough, which are in turn determinative to the properties of the final product. Under this tenor, a fast characterization of the degree and class of aggregation could be employed as a tool to predict, in line, the quality of the starch product. To understand the nature of the aggregates, we measure the kinetics of their desegregation. This study shined some light into the way granules organize within the aggregate, and on the way the latter are built. This is the second of a series of studies toward the development of an in-line characterization technique based on the aggregation of starch granules.

Previous studies in this field have concentrated on the distribution of size of the individual granules [4, 5, 6, 7] and of grits [8, 9]. They demonstrated, by applying similar processes on starch samples differing on their granule size distribution, that the size distribution of the granules had a strong influence on the properties of the final product. The present study is focused on the kinetics of the desegregation and on the aggregation mechanism of granules caused by wet thermal treatments. We were able to obtain fast and detailed information about the aggregation by the use of laser light dispersion [10]. An important part of the study was the use of a sample preparation protocol that provided adequate reproducibility [11]. In this way, it was possible to achieve greater precision and reproducibility than through sieve and Image Analysis [12, 13, 14]. We also demonstrated the correlation and sensibility of the aggregation

with the cooking parameters and proposed a mechanism for the formation of aggregates.

II. Materials and Methods

A. Sample preparation

The sample preparation protocol is reported in our previous publication on the same issue [11]. Unmodified maize starch (23% amylose, 77% amylopectine, Sigma-Aldrich, USA) were mixed with deionized water to obtain a dough with 50% dry matter and 50% water. Small amounts (2g) were sealed in polyethylene bags and cooked for five minutes in a controlled bath to temperatures of 61.5, 63, 65, and 67°C, and chilled immediately (by dipping into water) to room temperature to stop the cooking process. Under these conditions, the percentage of granules gelatinized between 62 and 63°C, resembled that of corn dough for the production of tortilla (20%, as quantified by polarized light microscopy [15]).

B. Quantification of aggregates

The determination of the particle size distribution was done with a commercial granulometer (Cilas 1640, France) based on light scattering. A laser illuminates a region where the particles are suspended, and an arrangement of photocells provides the angular dependence of the scattered light. By assuming a spherical shape of the particles (granules and granule aggregates), and through the appropriate theory (Mie Theory and some of its approximations [16]), the dispersion patterns were transformed into particle size distributions. When the particles are not spherical, the results should

be interpreted through effective diameters that depend on the details of the geometry of the particles [17].

The samples were fed into the granulometer by suspending 0.90g of the cooked sample in 30mL of ethanol and agitated for different periods, from 1.5min to 10h. As discussed elsewhere [11], ethanol was chosen as the solvent because it retains the aggregation structure for enough time to be observed. These dispersions were filtered with a sieve number 80 that retained particles larger than 500 μm , and then placed in the granulometer deposit that contained 400mL of ethanol. The particle concentration was optimized accordingly to the indications of the granulometer manufacturer (Cilas 1640, France).

The distributions were analyzed simultaneously with an algorithm that allowed multidimensional parameter optimization [18]. By a simultaneous analysis of the data it was possible to discriminate features hidden in one set of data but apparent in others [11, 19].

C. Light and electron microscopy

Two microscopic techniques, environmental scanning electronic microscopy (ESEM, Phillips, Netherlands) and polarized light microscopy (Zeiss, Germany), were employed. The optical images were obtained from a couple of drops of a solution of 0.1g of sample suspended in 100mL of ethanol and agitated for 6min. The determination of the birefringence was carried out in three images containing around 80 granules each. For ESEM, the sample was agitated for only 1.5min to retain larger aggregates. Two drops were placed in a conducting slide and, after evaporating the solvent, placed in the

ESEM chamber. Low values for vacuum and electron beam were elected to minimize the modifications in the samples.

D. Differential scanning calorimetry

Gelatinization was followed by differential scanning calorimetry (DSC) with a commercial equipment (Perkin Elmer model Pyris 1, USA). 20mg of cooked starch were placed and sealed in aluminum capsules. The temperature was raised from 40 to 100°C at a rate of 5°C/min. The gelatinization enthalpy (DG) was determined from the area under the peak in the thermograms, and normalized to the enthalpy associated to a raw sample.

III. Results and Discussion

A. Gluing together granules into aggregates

As previously reported, the particle size distribution curves of maize starch cooked in limited amount of water show well defined peaks and shoulders that suggest the existence of a set of aggregate size classes [11]. Evidence of the formation of starch aggregates of characteristic sizes have been reported previously in other starch systems [20]. Microscopic observations of these samples have been performed using ESEM and Light Microscopy. Figure 1a shows ESEM images at low magnification of starch aggregates formed at cooking temperatures of 65°C and dispersed in ethanol. This particular image shows three types of particles: individual granules, small aggregates, and larger aggregates. This observation was also made in many other microscopic images at different magnifications (not shown). The high magnification image (Figure 1b) shows an aggregate formed by a few starch granules. The individual

granules exhibit two distinct shapes: either spherical or with an irregular shape. The spherical shape suggests that the granule is not gelatinized, while the irregular shape suggests that the granule has been gelatinized, at least partially.

In order to clarify the role of gelatinized granules in the formation of aggregates a series of light microscopic observations were made. Figure 2 shows a starch aggregate in bright field and under crossed polarization light. The size and boundaries of each granule can be identified. Granules in the boundary seem to be not deformed. The granule pointed with the number "2" appears to glue the granules glued around the granule marked as "1", to the granules on the other side of granule "2". Figure 2b revealed the birefringence of the different granules. Granules "1" and "2" show no birefringence, and have to be considered gelatinized, while other granules show different degrees of birefringence, indicating that they are not or only partially gelatinized [21]. This image suggests that aggregates form around gelatinized granules. Since prior to cooking the moisture is limited, the probability of fully gelatinizing two adjacent starch granules is low. A fully gelatinized granule can be surrounded only by a limited number of partially or non-gelatinized granules, giving rise to aggregates of a characteristic dimension. This type of aggregates, consisting of 2 to 5 granules glued to a gelatinized granule, will be called Class 1. It is important to emphasize that the gelatinized granule can be more easily deformed, which allows a larger contact area to the other granules, thus forming more stable aggregates. This mechanism can explain the formation of a class of aggregate containing few granules, and could correspond to the small aggregates shown in Figure 2a. Aggregates of larger sizes could be explained

in terms of Class 1 aggregates glued together, and could correspond to the larger aggregates shown in Figure 2a. These will be called Class 2 aggregates.

It is not clear that a starch granule has to be fully gelatinized in order to glue other granules together, as partially gelatinized granules having their surface gelatinized should also be able to glue to non-gelatinized granules. As a first approach we can consider only fully gelatinized granules responsible for the aggregation mechanism [22]. This mechanism is also consistent with the observation of different aggregate sizes for different cooking temperatures: at low cooking temperatures the fraction of gelatinized granules is small and only Class 1 aggregates can be formed. With increasing cooking temperature the gelatinized fraction increases and more complex aggregates can be formed.

B. Disintegration of the aggregates

The aggregates are formed during the cooking process in a packed configuration with limited moisture, and therefore cannot be directly observed. To be observed, they had to be dispersed; ethanol was chosen as the dispersant for reasons explained elsewhere [11]. To characterize the stability of the aggregates dispersed in ethanol, we studied the kinetic of their disintegration caused by agitation. Figure 3 shows the size distribution of a sample cooked at 65°C and dispersed in ethanol using two different dispersing times. For 1.5min, a larger relative volume can be observed for sizes larger than about 150 μm , compared to a dispersion time of 6min. The difference between these two curves is labeled "volume lost". For sizes between 50 and 80 μm an increment in volume can be observed with the increase in dispersion time (labeled "volume gained" in Figure 3). The two volumes are approximately equal. The destruction of the latter was not reflected into

the increase of the population of single starch granules. Instead, most of that material became part of another class of aggregates. This strongly suggested that the destruction of the large aggregates is not by crumbling into single granules, but through large fractures in favor of smaller aggregates.

The kinetics of disintegration contributed valuable information to explain the aggregation mechanism. The agitation caused gradual disappearance of the aggregates in favor of single granules. Figure 4 shows the influence of the dispersion time in the population of starch aggregates cooked at different temperatures and dispersed in ethanol. The times used range from 1.5 up to 390min. After dispersing the 61.5°C sample for 4min, two clear peaks could be observed (Figure 4a). With increasing dispersion time the height of the peak with the larger sizes decreased continuously, while the other peak increased. At around 150min of dispersion only one peak could be distinguished. At the longest time used (390min of agitation) only a peak centered around 18 μm remained.

For a cooking temperature of 63°C (Figure 4.b) the initial size distribution (at 1.5min dispersion) was centered at sizes around 50 μm . Up to dispersion times of 15min, the changes on the distribution were not very appreciable. This apparent lack of evolution is very interesting, and is qualitative and quantitatively explained later in Section E. At 60min of dispersion the distribution started to change: the shoulder around 15 μm increased its relative volume, while the population with sizes between 30 and 80 μm decreased. This process was almost completed at 150min of dispersion. Longer dispersion times did not practically influence the distribution. The final distribution, again, consisted of a single peak around 18 μm .

For the cooking temperature of 65°C the changes on the distribution were apparent only after 60min of agitation. This phenomenon is also explained in Section E. The most pronounced changes happened between 150min and 210min of dispersion, reaching a final distribution similar to the other previous cases. For these first three cooking temperatures the final distribution reached at 390min is practically the same.

For the cooking temperature of 67°C the initial distribution was more complex: an important population with sizes about 200 μm appeared. In this case, a transition to a distribution centered around 60-80 μm was observed (between 6 and 15min). This distribution remained stable for a certain period of time and for times longer than 210min moved to another distribution. For larger periods (390min), the distribution differed from the final distribution for the other temperatures. It is possible that in this case, even longer times were needed to reach a distribution similar to the previous cases.

C. Protocol of analysis of the size distribution of aggregates

These phenomena suggested a methodology to obtain the information that is manifested in the structure of the curves of distribution of aggregates size. Under this outline, the curves were described by representative peaks of the different classes of aggregates (Figure 5a). It is important to mention that, although these distribution could be fitted better with a ad-hoc set of peaks, the demand that the same group of peaks adjusted all the data in Figure 4, for all temperatures, imposed much stricter conditions on the acceptable values of the parameters. The minimum set required is shown in Figure 5a. The fitting to all the curves using these peaks corresponds to the continuous lines of Figure 4. The analysis of the kinetics of disintegration for samples

cooked at different temperatures demanded practically identical groups of peaks, indicating that the same class of aggregates existed in samples cooked to the different temperatures in the range considered.

D. Structure of the aggregates

The representative diameters (T) of the peaks shown in Figure 5a are plotted as a function of the class number (Figure 5.b). It was interesting to observe a regular geometrical behavior ($T \approx 18.1 \times 1.6^n$, where n is the aggregate class number). This behavior indicated that the (representative) diameter of Class n aggregates was 1.6 times larger than the diameter of Class $n - 1$ aggregates. As this applies to all classes, the overall structure resembled a fractal system. It should be noticed that 1.6^3 is approximately equal to 4. This means that the (representative) volume of Class n aggregate was 4 times larger than the volume of Class $n - 1$ aggregates, which could be explained by constructing each Class n aggregate by four Class $n - 1$ aggregates.

Although this suggested tetrahedron-shaped aggregates, it did not imply that linear aggregates were not formed in the first place, but rather that those into a more compact structure have a much larger lifetime. The fractal theory has been used to describe the interaction among granules of starch [23] as well as the structure of the aggregation of other powders; the existence of different classes of aggregates and the destruction of some to form others accumulated evidence in this direction.

E. Quantitative study of the kinetics of the destruction of the aggregates

Figure 6 shows the progression of the population of each aggregate class and the single starch granule for samples cooked at different temperatures (61.5°C, 63°C, 65°C and 67°C) as a function of the dispersion time in ethanol.

In Figure 6a (61.5°C) only three classes (0, 1 and 2) are present. Class 2 aggregates decreases their population continuously with time; Class 1 aggregates first increases their population to then decrease for times longer than 60min. In contrast, the single starch granule population continuously increased. The final distribution consisted of 100% single starch granules. It was interesting to observe that the population of Class 1 aggregates first increased. Again, this suggests that Class 2 aggregates does not break down to single starch granules in one step, but break first in Class 1 aggregates. This observation was useful for proposing a model that could describe the evolution of each population at the expenses of others, in a set of differential equations:

$$(1) \quad \begin{array}{lll} \frac{d}{dt} V_0 = \frac{V_1}{\tau_1} & \frac{d}{dt} V_2 = -\frac{V_2}{\tau_2} + \frac{V_3}{\tau_3} & \frac{d}{dt} V_4 = -\frac{V_4}{\tau_4} + \frac{V_5}{\tau_5} \\ \frac{d}{dt} V_1 = -\frac{V_1}{\tau_1} + \frac{V_2}{\tau_2} & \frac{d}{dt} V_3 = -\frac{V_3}{\tau_3} + \frac{V_4}{\tau_4} & \frac{d}{dt} V_5 = -\frac{V_5}{\tau_5} \end{array}$$

Where V_i is the volume fraction of the i -th population (0=single starch granule, 1= aggregate Class 1, and so on), and τ_i its mean lifetime. This model was established under rather simple assumptions:

- The destruction of the aggregates is of a random character. The fracture speed is proportional to the number of aggregates without containing aging effects.

- The desegregation take place through fractures, so that the population of the class aggregates i is only fed by the disintegration of the aggregates of Class $i + 1$.
- Once fractured the aggregates, they are not formed again. A finite probability of reformation of the aggregates would have been reflected in a distribution where several classes of aggregates cohabit, and not in the complete desegregation at long times of agitation.

The system of differential equations (1) was analytically solved and the values of τ_i that best reproduced the behavior were obtained (Figure 7). The model also applied to the more complex situations where more classes of aggregates were present. For the samples cooked at 63°C, five classes were present; the single granules (Class 0) did not represent the largest population at the beginning of the segregation process. Class 4 aggregates were destroyed after 20min of agitation. The population of Class 3 aggregates slightly increased around 20-30min to then decrease for larger agitation times. The apparent lack of changes within the first 15min can now be understood. The destruction of Class 4 aggregates feed the population of aggregates Class 3, and maintained its population roughly constant. Similar phenomena occurred with aggregates Class 2 and 1. The lifetime of Class 1 aggregates was large enough to prevent an appreciable increase in Class 0 aggregates (single granules). The final distribution consisted, as in the case of 61.5°C, only of single starch granules.

A similar picture can be observed for the cooking temperature of 65°C, where all six populations were present. The apparent lack of evolution within the first 60min is explained similarly. Class 5 aggregates did disappear, but its concentration was initially small enough to be appreciated from the distribution curves of Figure 4c. Their

disappearance feed the population of Class 4 aggregates and prevented it from decreasing; although slightly, it even increased. The final distribution consisted mainly of single starch granules, although it contained a contributions of Class 1 aggregates. For the highest cooking temperature (67°C, Figure 6.d), the starting distribution mainly consisted of large aggregates (Class 5). This, together with an small value of their lifetime, made the changes on the distribution apparent from the beginning (Figure 4c). The final population distribution contained aggregates of different classes, as well as single starch granules.

The life time of the aggregates of smaller size did not change drastically with the cooking temperature (see Figure 7). This can also be observed directly in Figure 4, which shows that Class 1 aggregates lasted long for all the considered temperatures. This indicated that the increase in the temperature in the considered range did not radically change the gluing capability of gelatinized granules, but rather the main effect resided in the number of granules gelatinized.

The increment in the temperature increased the population of gelatinized granules, giving place to the conformation of larger aggregates. However, sticking together various Class 1 aggregates to conform a Class 2 aggregate, required more powerful gluing. Thus, the lifetime of Class 2 aggregates was expected to exhibit an stronger dependence with the gelatinization degree, and, therefore, on the cooking temperature. This also applies to larger aggregates (see Figure 7).

F. DSC observations

Figure 8 shows the thermograms of samples cooked at 60°C, 63°C, 65°C and 67°C together with a thermogram of a raw sample. All of them, including the 67°C sample,

showed an endothermic peak between 65°C and 80°C. The degree of gelatinization was determined from the enthalpy under the curve, and normalized to the raw sample. The samples studied swiped half the range of gelatinization, and remained far away from melting processes.

IV. Conclusions

The starch aggregates were glued together by gelatinized granules. The cooking process of starch in a packed configuration with limited water, resulted in random popping of granules and in the formation of aggregate classes in a fractal-type geometry. The destruction of the aggregates had effect through large fractures in favor of aggregates of smaller size, and not through the crumbling into single granules. The kinetics of desegregation could be explained through a model of random destruction with well defined life times for each aggregate class. The relative independence of the life time of the first class of aggregates indicated that cooking at higher temperatures was reflected in an increased number of gelatinized granules (those granules gluing together the aggregates), rather than in a higher degree of gelatinization of these granules.

References

- [1] P. Aggarwal; D. Dollimore. A Method of Comparison Between Corn Starch and Its Products Using Thermal Analysis. *Instrumentation Science & Technology* **1999**, 27, 191.
- [2] H. Larsson and A.C. Eliasson. Influence of the Starch Granule Surface on the Rheological Behaviour of Wheat Flour Dough. *Journal of Texture Studies* **1997**, 28, 487.
- [3] D. Zhang, W.R. Moore., Effect of wheat brand particle size on dough rheologica properties. *J. Sci. Food Agric* **1997**, 74, 490.
- [4] C.M.L. Franco, S.J. doPreto, C.F. Ciacco and D.Q. Tavares The Structure of Waxy Corn Starch: Effect of Granule Size. *Starch* **1998**, 50, 193-198.
- [5] S. Shalström., E. Brathen, P. Lea and K. Autio. Influence of starch granule size distribution on bread characteristics. *Journal of Cereal Science* **1998**, 28, 157-164.
- [6] P.M.S. DaSilva., J.C. Oliveira., M.A. Rao. Variation of Starch Granule Size in Tropical Maize Germ Plasma. *Cereal Chemistry* **1996**, 73, 536.
- [7] M.Ö. Raeker., C.S. Gaines, P. L. Finney, and T. Donelson Granule Size Distribution and Chemical Composition of Starches from 12 Soft Wheat Cultivars. *Cereal Chem.* **2000**, 75(5), 721-728.
- [8] M.N. Khan, M. C. Des Rosiers, L.W. Rooney, R. G. Morgan., and V.E. Sweat. Corn Tortillas: Evaluation of Corn Procedures. *Cereal Chem.* **1982**, 59, 279-284.

- [9] A. Desrumaux, J.M. Bouvier and J. Burri. Corn grits particle size and distribution effects on the characteristics of expanded extrudates. *Journal of Food Science* **1998**, 63, 857.
- [10] M.F. Devaux, F. Le Deschault de Monredon, D. Guibert, B. Novales, and N. J. Abelcassis. Particle Size Distribution of Break, Sizing and Middling Wheat Flours by Laser Diffraction. *Sci. Food Agric.* **1998**, 78, 237-244.
- [11] A. Herrera-Gómez, M. Canónico-Franco, G. Ramos. Aggregation in cooked maize starch. *Carbohydrate Polymers.* **2002**, 50/4 pp. 387-392.
- [12] R.P. Loveland. Methods of particle-size análisis. *Spie Milestone Series MS.* **2000**, 163, 389-421.
- [13] F.M. Etzler and R. Deanne. Particle Size Analysis: A comparison of Various Methods II. *Particle & particle Systems Characterization*, **1997**, 14, 278.
- [14] K.A. Harrigan. Particle size analysis using automated image analysis. *Cereal Foods World.* **1997**, 42, 30-35.
- [15] R.L. Pflugfelder, L.W., Rooney, and R.D. Waniska.. Fractionation and Composition of Commercial Corn Masa. *Cereal Chem.* **1988**, 65, 262-266.
- [16] M. Craig Gardner, A. J. Welch. Monte Carlo simulation of light transport in tissue: unscattered absorption events. *Applied Optics*, **1994**, 33, 13, 2743.
- [17] Bohren C. F. y Huffman D. R., 1998. *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*, Ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- [18] The algorithms were written into a software called AAnalyzer®, which is available at www.gro.cinvestav.mx/~aanalyzer.

- [19] A. Herrera-Gómez, F.S. Aguirre-Tostado, Y. Sun, P. Pianetta, Z. Yu, D. Marshall, R. Droopad, W.E. Spicer Photoemission from the Sr/Si(001) Interface. *Journal of Applied Physics*, **2001**, 90, 6070
- [20] L. Farmakis, J. Sakellarakis, A. Koliadima, D. Gavril, G. Karaiskakis. Size analysis of barley starch granules by sedimentation/steric field flow fractionation. *Starch/Starke*, **2000**, 52, 275-282.
- [21] That neighboring granules exhibit different degrees of gelatinization, even though they were exposed to similar conditions, is caused by the limitation on the moisture. If a granules begin its gelatinization process, it will rapidly absorb the water surrounding it, and will prevent close by granules to gelatinize.
- [22] This presumption will be tested in future work by comparing the activation energy of the chemical reaction that causes a granule to become an aggregation agent, to the activation energy of the chemical reactions involved in the gelatinization process. Although the gelatinization process is not understood in detail, it has been established that it involves a migration of amylose from inside the granule. Partially released amylose could serve as a sticking point to other surrounding granules. If this is correct, then the reactions for both processes (glue and gelatinization) would be the same (Carlos Gomez Aldapa, private communication).
- [23] S. Pikus, J. Jamroz, E. Kobylas. Fractal Structure Of Starch Extrudates- Investigation By Small Angle X-Ray Scattering. *Int. Agrophysics*, **2000**, 14, 93-98.