



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Veracruz

**“Efecto de la modificación dual mediante molienda de bolas
y entrecruzamiento sobre las propiedades del almidón de
malanga (*Colocasia esculenta* L.)”**

TESIS

Que para obtener el grado de:

Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica

Presenta:

Jazmín Sánchez Rivera

Asesores:

Dra. Guadalupe del C. Rodríguez Jimenes

Dr. Alejandro Aparicio Saguilán

Dra. Delia Esther Páramo Calderón

H. VERACRUZ, VER.

Noviembre, 2020

RESUMEN

Sánchez Rivera, Jazmín. Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica. Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Veracruz. Noviembre 2020. **“Efecto de la modificación dual mediante molienda de bolas y entrecruzamiento sobre las propiedades del almidón de malanga (*Colocasia esculenta* L.)”** Asesores: Dra. Guadalupe del Carmen Rodríguez Jimenes, Dr. Alejandro Aparicio Saguilán, Dra. Delia Esther Páramo Calderón.

El almidón es un biopolímero funcional utilizado ampliamente en la industria de alimentos debido a los diversos atributos que posee, por ejemplo, constituye una parte integral de muchos sistemas alimentarios, es rentable y existe una gran variedad de fuentes con diferentes características estructurales y morfológicas. Sin embargo, en su forma nativa presenta limitaciones debido a sus propiedades intrínsecas, por lo cual, una alternativa eficaz para mejorar dichas propiedades consiste en realizar modificaciones a la estructura del almidón, con el fin de producir materiales con propiedades favorables. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo se centró en evaluar el efecto de la modificación dual sobre las propiedades fisicoquímicas, térmicas, morfológicas y estructurales del almidón de malanga (*Colocasia esculenta* L.). En la primera etapa se modificó el almidón de malanga físicamente empleando un molino de bolas de alta energía evaluando diferentes tiempos de molienda (50 y 70 min) y velocidades giratorias (600 y 700 rpm). En la segunda etapa, para obtener el almidón modificado dual, se realizó un entrecruzamiento evaluando diferentes proporciones de agente entrecruzante, tripolifosfato de sodio y trimetafosfato de sodio (50:50 y 80:20). Los resultados mostraron que los parámetros del proceso de molienda mecánica tuvieron efecto significativo sobre las variables de respuesta evaluadas. El tratamiento con 50 min de molienda y 700 rpm presentó un menor índice de cristalinidad relativa, menor diámetro de tamaño de partícula y las soluciones de almidón presentaron un pico de viscosidad menor. El aumento del contenido de amilosa reveló la posible despolimerización de las cadenas de amilopectina. No se detectaron cambios en los espectros de infrarrojo de los almidones doblemente modificados, debido a la baja concentración de los agentes entrecruzantes, sin embargo, los resultados del análisis de difracción de rayos X mostraron una disminución del índice de cristalinidad, temperaturas y entalpías de gelatinización y un aumento de la viscosidad del almidón en solución. La molienda mecánica favoreció la reacción de entrecruzamiento, debido al daño provocado en la estructura cristalina.

ABSTRACT

Sánchez Rivera, Jazmín. Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica. Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Veracruz. Noviembre 2020 “**Effect of dual modification by ball milling and cross-linking on the properties of taro starch (*Colocasia esculenta L.*)**” Advisers: Dra. Guadalupe del Carmen Rodríguez Jimenes, Dr. Alejandro Aparicio Saguilán, Dra. Delia Esther Páramo Calderón.

Starch is a functional biopolymer widely used in the food industry due to the various attributes it possesses, for example, it is an integral part of many food systems, cost-effective and there are a variety of sources with different structural and morphological characteristics. However, its native form, it has limitations due to its intrinsic properties. Therefore, an effective alternative to improve such properties is to make modifications to the structure of starch, to produce materials with favorable properties. Therefore, the aim of this work was focused on evaluating the effect of dual modification on the physicochemical, thermal, morphological, and structural properties of taro starch (*Colocasia esculenta L.*). In the first stage, taro starch was physically modified using a high energy ball mill evaluating different grinding times (50 and 70 min) and rotational speeds (600 and 700 rpm). In the second stage, obtaining the dual modified starch, a cross-linking was performed evaluating different proportions of cross-linking agents, sodium tripolyphosphate, and sodium trimetaphosphate (50:50 and 80:20). The results showed that the parameters of the mechanical milling process had a significant effect on the response variables evaluated. The treatment with 50 min of grinding and 700 rpm presented a lower index of relative crystallinity, the smaller diameter of particle size, and the starch solutions got a lower peak of viscosity. The increase of amylose content revealed the possible depolymerization of amylopectin chains. Changes did are not detected in the infrared spectra of the doubly modified starches, due to the low concentration of the cross-linking agents, however, the results of the X-ray diffraction analysis showed a decrease in the crystallinity index, temperatures, and gelatinization enthalpies and an increase in the viscosity of the starch in solution. The mechanical milling favored the cross-linking reaction, due to the damage caused in the crystalline structure.

CONTENIDO

<i>RESUMEN</i>	ii
<i>ABSTRACT</i>	iii
<i>LISTA DE TABLAS</i>	vii
<i>LISTA DE FIGURAS</i>	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Malanga	2
2.2 Almidón	4
2.2.1 Estructura química	5
2.2.2 Propiedades del almidón de malanga.....	8
2.2.2.1 Propiedades térmicas	8
2.2.2.2 Características estructurales	9
2.2.2.3 Características morfológicas	11
2.3 Almidón modificado	12
2.3.1 Técnicas de modificación del almidón	12
2.3.1.1 Molienda mecánica.....	14
2.3.1.1.1 Molienda mecánica de alta energía.....	14
2.3.1.1.2 Entrecruzamiento	22
2.3.2 Aplicaciones de los almidones modificados en la industria alimentaria	25
2.4 Síntesis de antecedentes.....	27
3. OBJETIVOS	29
4. MATERIALES Y MÉTODOS	30
4.1 Materia prima	30
4.2 Reactivos	30
4.3 Métodos	30

4.3.1 Modificación dual del almidón	30
4.3.1.1 Etapa I. Modificación física: Molienda mecánica	30
4.3.1.2 Etapa II. Modificación química: Entrecruzamiento.....	32
4.4 Caracterización del almidón modificado.....	34
4.4.1 Análisis Fisicoquímicos.....	34
4.4.1.1 Determinación del almidón total	34
4.4.1.2 Determinación del contenido de lípidos.....	35
4.4.1.3 Determinación del contenido de proteínas	35
4.4.1.4 Determinación del contenido de humedad	35
4.4.1.5 Determinación de la actividad de agua (a_w)	36
4.4.1.6 Contenido de amilosa aparente.....	36
4.4.1.7 Perfil de formación de pasta.....	36
4.4.2 Análisis Térmicos	37
4.4.2.1 Determinación de la temperatura y entalpía de gelatinización	37
4.4.3 Análisis morfológicos	37
4.4.3.1 Distribución de tamaño de partícula (DTP)	37
4.4.4 Análisis estructural.....	38
4.4.4.1 Difracción de Rayos-X (DRX).....	38
4.4.4.2 Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)	38
4.5 Análisis estadístico.....	38
5 RESULTADOS	40
5.1 Contenido de almidón total, proteínas y lípidos de malanga nativo	40
5.2 Efecto de la molienda mecánica sobre las propiedades fisicoquímicas, morfológicas y estructurales del almidón de malanga (<i>Colocasia esculenta</i> L.)	41
5.2.1 Análisis Fisicoquímicos	42
5.2.1.1 Contenido de humedad y actividad de agua	42
5.2.1.2 Contenido de amilosa.....	43
5.2.1.3 Perfil de formación de pasta.....	45
5.2.2 Análisis Térmico.....	47

5.2.2.1	Temperatura y entalpía de gelatinización	47
5.2.3	Análisis Morfológico	50
5.2.3.1	Distribución de tamaño de partícula	50
5.2.4	Análisis Estructural	52
5.2.4.1	Difracción de rayos X	52
5.3	Efecto del entrecruzamiento del almidón de malanga micronizado	54
5.3.1	Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)	54
5.3.2	Perfil de formación de pasta	58
5.3.3	Difracción de rayos X.....	61
5.3.4	Temperatura y entalpía de gelatinización	62
6	CONCLUSIONES	65
7	PERSPECTIVAS	66
	BIBLIOGRAFÍA	67

LISTA DE TABLAS

TABLA 2.1 Condiciones óptimas para el cultivo de la malanga (<i>Colocasia esculenta</i> L.).....	3
TABLA 2.2 Composición química del cormo de malanga (<i>Colocasia esculenta</i> L.) cultivado en Valle Nacional, Oaxaca.	4
TABLA 2.3 Técnicas de modificación de almidones.	13
TABLA 2.4 Propiedades de diferentes materiales utilizados para la molienda mecánica.	16
TABLA 4.1 Niveles evaluados durante el entrecruzamiento.	32
TABLA 4.3.1.2 Niveles evaluados de las variables del proceso de molienda mecánica del almidón de malanga.	39
TABLA 5.1 Contenido de almidón total, proteína y lípidos en el almidón de malanga nativo	41
TABLA 5.2 Significancia de los parámetros de cada variable de respuesta del almidón de malanga micronizado	42
TABLA 5.3 Contenido de humedad y actividad de agua de los almidones modificados mediante molienda mecánica.	43
TABLA 5.4 Contenido de amilosa del almidón nativo y modificados mediante molienda mecánica.....	44
TABLA 5.5 Temperatura y entalpía de gelatinización de los almidones modificados.	48
TABLA 5.6 Distribución de tamaño de partícula e índice de dispersión de los almidones modificados mediante moliendo mecánica.	51
TABLA 5.7 Viscosidad máxima de los almidones entrecruzados y modificado dual.	59
TABLA 5.8 Temperatura y entalpía de gelatinización de los almidones entrecruzados y modificados dual.	63

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 Cormos de Malanga.	2
FIGURA 2.2 Estructura de la amilosa (Tomado de Thomas y Atwell, 1999).....	5
FIGURA 2.3 Estructura de la amilopectina (Tomado de Tester y Karkalas, 2002).	7
FIGURA 2.4 Modelo de "racimo" de la estructura de la amilopectina.	7
FIGURA 2.5 Principales estructuras cristalinas en los gránulos de almidón: tipo A y tipo B. (Buléon <i>et al.</i> , 1998).....	10
FIGURA 2.6 Patrones de difracción de rayos X, para diferentes almidones (Hizukuri, 1986).	11
FIGURA 2.7 A) Molino planetario de bolas de alta energía B) Movimiento de las bolas dentro del molino planetario.	15
FIGURA 2.8 Patrones de difracción de rayos X para A) Almidón nativo; B) Almidón molido durante 17 h; y C) 140 h. Tomado de Kim <i>et al.</i> , (2001).	17
FIGURA 2.9 A. Almidón nativo y almidones tratados con molienda mecánica a distintos tiempos B. 60 min, C. 90 min y D. 120 min. Tomado de Lin <i>et al.</i> , 2016.	18
FIGURA 2.10 Micrografías de la muestra de harina de malanga tratada con molienda mecánica a diferentes tiempos de molienda.	19
FIGURA 2.11 Patrones de difracción de rayos X de las muestras de harina de malanga antes y después de la modificación por molienda de bolas de alta energía. Tomado de: Juárez-Arellano <i>et al.</i> , (2019).	20
FIGURA 2.12 Fotografías (lado izq.) y micrografías (lado der.) de emulsiones pickering estabilizadas (1 h) por el almidón de malanga. NS: Almidón nativo; ES: Almidón esterificado; BMS: Almidón tratado con molienda mecánica; CS: Almidón modificado dualmente (Molienda mecánica y esterificación).	21
FIGURA 2.13 Patrones de difracción de rayos X del almidón de malanga. Los valores entre paréntesis indican cristalinidad relativa (%). Tomado de: Liu <i>et al.</i> (2018).	22
FIGURA 2.14 Contenido de fósforo de los productos entrecruzados de almidón de maíz micronizado. Tomado de Zhang <i>et al.</i> , 2015.	24

FIGURA 4.1 Diagrama de flujo de la metodología del proceso	31
FIGURA 4.2 Equipo de trabajo empleado para la reacción de entrecruzamiento	33
FIGURA 5.1 Perfil de formación de pasta de la dispersión de almidón nativo y de los modificados mediante molienda mecánica.....	46
FIGURA 5.2 Termograma del almidón nativo y de los almidones tratados mediante molienda mecánica.	49
FIGURA 5.3 Distribución de tamaño de gránulo del almidón de malanga nativo y de los modificados mediante molienda mecánica.....	51
FIGURA 5.4 Patrones de difracción de rayos X de los almidones tratados mediante molienda mecánica.	53
FIGURA 5.5 Espectro FT-IR del almidón de malanga nativo	55
FIGURA 5.6 Espectros FTIR de los agentes entrecruzantes empleados.	56
Figura 5.7 Espectros FTIR del almidón de malanga entrecruzados (A) y los almidones modificados dual (B)	57
FIGURA 5.8 Perfil de formación de pasta de los almidones entrecruzados y modificados dual con diferentes proporciones de agente entrecruzante 50:50 A) y 80:20 B) STPP:STMP.	60
FIGURA 5.9 Patrones de difracción de rayos X de los almidones entrecruzados y modificados dualmente.....	62
FIGURA 5.10 Termograma de los almidones entrecruzados (AME) y los almidones modificados dual (AMD) con distintas proporciones de agentes entrecruzantes.	64

1. INTRODUCCIÓN

El almidón ha sido usado como ingrediente en la industria alimentaria debido a los diversos atributos que posee, como claridad de geles, capacidad de retención de agua e hinchamiento. Sin embargo, el uso de los almidones nativos se ha visto limitado debido a sus propiedades intrínsecas, tales como una baja resistencia al esfuerzo cortante, a la descomposición térmica, además de una solubilidad baja en disolventes orgánicos comunes. A fin de satisfacer las exigentes necesidades tecnológicas de hoy en día, las propiedades del almidón se han modificado mediante una variedad de métodos con la finalidad de mejorar sus características funcionales, los cuales pueden ser usados para aplicaciones específicas en el ámbito alimentario (Tharanathan, 2005). Las modificaciones pueden ser de tipo químico, físico o enzimático. Uno de los métodos físicos actualmente empleado es la molienda mecánica, que gracias a la fricción, colisión y corte puede modificar la estructura cristalina del almidón alterando las propiedades funcionales de los gránulos (Moraes *et al.*, 2013). Algunos métodos tradicionalmente empleados para modificar la estructura cristalina del almidón se basan en métodos químicos, como la hidrólisis ácida y la oxidación, generando elevados costos de producción, por lo que la molienda mecánica surge como una herramienta útil para la modificación de la estructura del almidón (Singh *et al.*, 2007).

Con el fin de mejorar aún más las propiedades funcionales de los almidones, se han empleado modificaciones duales (Gao *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2015; Hazarika & Sit, 2016;). El entrecruzamiento es uno de los métodos más utilizados para modificar el almidón, el cual consiste en la introducción aleatoria de reactivos multifuncionales capaces de formar enlaces éter o éster intermoleculares entre grupos hidroxilo de las cadenas del almidón (Tharanathan, 2005; Singh *et al.*, 2007). Esta modificación provee al gránulo de almidón una mayor estabilidad, proporciona una mayor resistencia al tratamiento mecánico y alteraciones de pH (Alam & Hasnain, 2009; Hazarika & Sit, 2016).

Entre las diversas aplicaciones de los almidones modificados en la industria alimentaria se encuentra la posibilidad de emplearlo como material encapsulante de compuestos bioactivos (Hoyos-leyva *et al.*, 2018). Sin embargo, puede presentar problemas de solubilidad, sobre todo en el caso de soluciones hidroalcohólicas. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio se centró en modificar dualmente (molienda mecánica y entrecruzamiento) y caracterizar fisicoquímica, morfológica, térmica y estructuralmente el almidón de malanga para obtener materiales con propiedades encapsulantes.

2. ANTECEDENTES

2.1 Malanga

La malanga (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) es un tubérculo comestible perteneciente a la familia de las Araceae originario de Asia y África. Debido a la inmigración a occidente, actualmente se cultiva en América (Antonio-Estrada *et al.*, 2009).

La malanga también conocida como taro, dashe o ñame, llega a medir de 1 a 3 m, no presenta tallo aéreo, su cormo (tallo grueso subterráneo) es de forma ovoide-redonda con una pulpa blanca almidonosa y una cáscara color marrón oscura (Onwueme, 1999; Antonio-Estrada *et al.*, 2009). Los cormos llegan a pesar alrededor de 700 g y 2.5 kg.



FIGURA 2.1 Cormos de Malanga.

El tubérculo de malanga requiere ciertas condiciones para su cultivo, las más importantes se resumen en la Tabla 2.1.

Existen varias regiones del país que cuentan con las condiciones adecuadas para el cultivo de malanga, convirtiéndolo en un producto con alto potencial para su implantación en México (Rodríguez-Reyes, 2006).

El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) en su reporte estadístico del 2017 menciona a Veracruz y Nayarit como los estados en donde se cultiva la malanga. Sin embargo, en los estados de Puebla, Chiapas, Oaxaca, Tabasco y Sinaloa (Muñozcano, 2009; Agama-Acevedo *et al.*, 2011) existen reportes de producción de este tubérculo, aunque no se

cuenta con registros oficiales de éstos. Veracruz es el estado con mayor producción de malanga, se cultivan 577 ha, con un rendimiento de 73.22 t/ha, lo que genera una derrama económica de \$ 133,360.00, los municipios productores son Actopan, Cotaxtla y Úrsulo Galván, siendo el primero el municipio con mayor producción (SIAP, 2017).

TABLA 2.1 Condiciones óptimas para el cultivo de la malanga (*Colocasia esculenta* L.).

Factor	Condiciones
Región	Tropical y subtropical
Periodo de crecimiento (meses)	6 - 18
Altitud (msnm)	Nivel del mar – 1500
Precipitación (mm)	250
Temperatura (°C)	21 – 27
pH	5.5 – 6.5

Tomado de Scott *et al.*, (1992).

En la Tabla 2.2 se muestra la composición química del tubérculo de malanga (*Colocasia esculenta*) proveniente de Valle Nacional, Oaxaca. El elevado contenido de humedad, posiciona a la malanga como un producto altamente perecedero, estando sujeto a pérdidas postcosechas, por lo que su uso y consumo han sido limitados (Antonio-Estrada *et al.*, 2009). No obstante, en países en desarrollo, la malanga ha adquirido gran importancia debido a su alto contenido de carbohidratos, principalmente de almidón (700–800 g/kg base seca) (Antonio-Estrada *et al.*, 2009; Agama-Acevedo *et al.*, 2011).

TABLA 2.2 Composición química del corno de malanga (*Colocasia esculenta* L.) cultivado en Valle Nacional, Oaxaca.

	Contenido %
Humedad	71.91
Carbohidratos	26.24
Proteínas	0.38
Grasa	0.68
Cenizas	0.63
Fibra	0.16

Tomado de Antonio-Estrada *et al.*, (2009)

2.2 Almidón

El almidón es el polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa y es un material de reserva en las plantas. Dependiendo de la planta, el almidón se puede encontrar en una variedad de tejidos, incluyendo hojas, tubérculos, frutas y semillas, donde se utiliza como fuente de energía durante los periodos de inactivación y de crecimiento. Debido a su importancia nutricional, los alimentos con alto contenido de almidón representan mayoritariamente la base de la dieta humana a nivel mundial (Röper, 2002).

En México la principal fuente de obtención del almidón ha sido el maíz. Sin embargo, actualmente se ha dado atención a la extracción de este polisacárido de fuentes no convencionales, por mencionar algunos, de cereales como amaranto (Villarreal *et al.*, 2013), mijo (Zhu, 2014); de frutos como plátano y mango (Millán-Testa *et al.*, 2005); tubérculos como arracha (Albano *et al.*, 2014) y malanga (Jane *et al.*, 1992).

2.2.1 Estructura química

Estructuralmente, el almidón consiste de dos polisacáridos químicamente distinguibles: la amilosa y la amilopectina, las cuales representan aproximadamente el 98-99 % del peso seco. La proporción de estas unidades varía según el origen botánico del almidón (Tester *et al.*, 2004).

Amilosa

La amilosa es un polímero esencialmente lineal, formado por unidades de D-glucosa unidos por enlaces glucosídicos α -(1,4), aunque puede presentar también algunas ramificaciones, pero de manera escasa y espaciada (Curá *et al.*, 1995). Aunque típicamente la amilosa se ilustra como una estructura de cadena recta por razones de simplicidad, a menudo helicoidal. El interior de la hélice contiene sólo átomos de hidrógeno, lo que le confiere un carácter hidrofóbico, mientras que los grupos hidroxilo están situados en el exterior de la hélice (Thomas & Atwell, 1999).

La amilosa tiene una masa molar aproximadamente de 1×10^5 Da dependiendo del origen biológico y grado de polimerización (GP). Este último puede presentar un promedio de 500 a 6000 unidades de D-glucosa, repartidas en un número de cadenas que de 1 a 20 (Tester *et al.*, 2004). Por su contenido de amilosa, los almidones se pueden clasificar en diferentes grupos como son los almidones cerosos o “waxy” que tiene muy poca cantidad de amilosa menor del 15 %, los normales que contienen entre 20- 35 % y los altos en amilosa que contienen más del 40 % de este polímero (Tester *et al.*, 2004). El almidón de malanga se considera como normal, ya que su contenido de amilosa es de aproximadamente 21 % (Hoover, 2001)

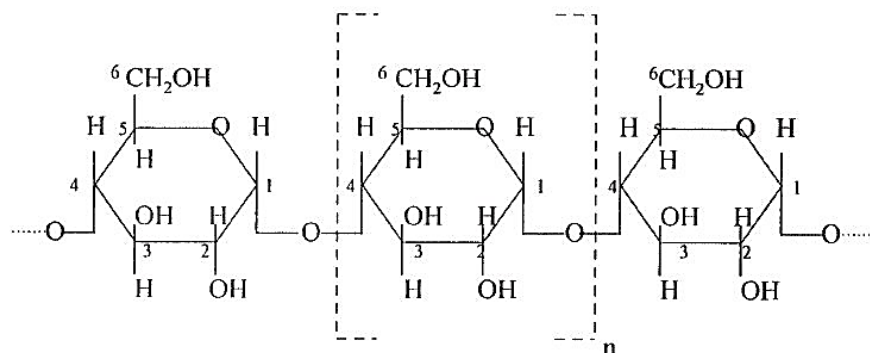


FIGURA 2.2 Estructura de la amilosa (Tomado de Thomas y Atwell, 1999).

Amilopectina

La amilopectina es la molécula predominante del almidón y es un polímero ramificado de mayor tamaño que la amilosa, compuesta por segmentos de glucosa con enlaces α -(1,4), y entre un 5-6 % de enlaces α -(1,6) en los puntos de ramificación (Thomas & Atwell, 1999). El grado de polimerización se encuentra en un intervalo de 9,600 – 15,900 unidades de glucosa, con un peso molecular de $1 \times 10^7 - 1 \times 10^9$ g/mol (Takeda *et al.*, 2003). Las diferencias en el peso molecular de las fracciones de amilosa y amilopectina están directamente relacionadas con la fuente de la planta, el método de aislamiento del polímero (generalmente se usa un método de precipitación con solvente) y el método de determinación del peso molecular (Bello-Pérez *et al.*, 2002).

Se han propuesto varios modelos para explicar la estructura química de la amilopectina. En 1972, French propuso el modelo de “racimo” para describir la forma en la cual la estructura ramificada de la amilopectina se encuentra en los gránulos de almidón nativo, el cual consiste en regiones cristalinas y amorfas en forma alternada. Las cadenas se organizan en dobles hélices, las cuales tienen una longitud de 6 nm de largo. Las áreas intercristalinas (amorfas) se presentan a intervalos de 0.6-0.7 nm y contienen mayor cantidad de enlaces α -(1-6), siendo relativamente susceptibles a agentes hidrolíticos (ácidos y enzimas).

Las cadenas de la amilopectina se han clasificado de acuerdo a su GP, y a su posición dentro del gránulo de almidón en cadenas A, B y C. Las cadenas A son las externas que están unidas a cadenas internas B, estas a su vez están unidas a otras cadenas B y/o a la cadena C. Los patrones tipo A presentan, cadenas cortas (GP 26), largas para los de tipo B (GP 36) e intermedias (GP 28) para los de tipo C (Biliaderis, 1991).

La amilopectina es quizás el componente que tiene mayor importancia en función de las propiedades del almidón, dado que su estructura y propiedades contribuyen notablemente en la composición y funcionalidad del gránulo (Thurn & Burchard, 1985; Paredes-López *et al.*, 1994).

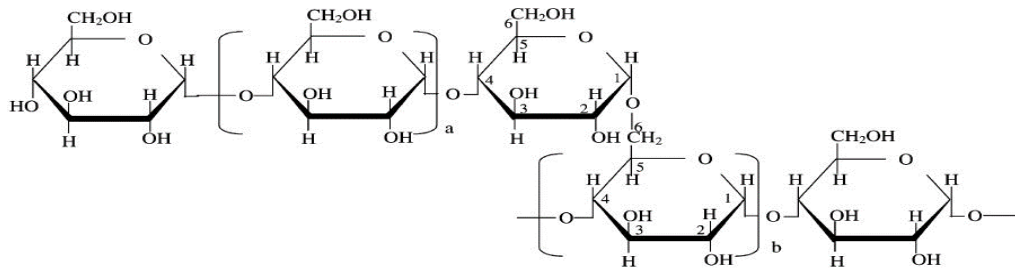


FIGURA 2.3 Estructura de la amilopectina (Tomado de Tester y Karkalas, 2002).

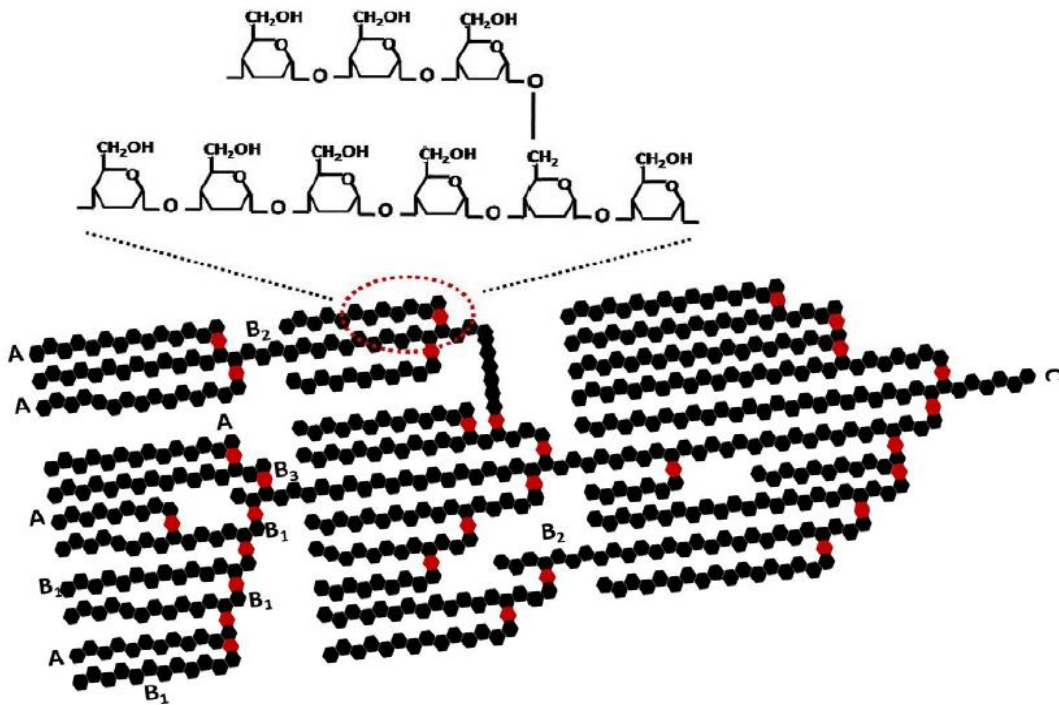


FIGURA 2.4 Modelo de "racimo" de la estructura de la amilopectina.

2.2.2 Propiedades del almidón de malanga

Como se mencionó anteriormente, el almidón se encuentra constituido por dos polímeros de diferente estructura; por lo tanto, la proporción de estos dos polímeros y su organización física dentro de la estructura granular, le brindarán propiedades fisicoquímicas y funcionales particulares (Bello-Pérez., 1995)

2.2.2.1 Propiedades térmicas

Los gránulos de almidón no son solubles a temperatura ambiente, debido a su estructura semicristalina. Cuando el almidón se encuentra con suficiente agua, los gránulos absorben una pequeña cantidad de ésta y se hinchan hasta cierto límite (30-50 % peso seco de almidón) (French, 1984).

En la etapa de hinchamiento del gránulo, la estructura cristalina se desorganiza y las moléculas de agua se unen a los grupos hidroxilo expuestos de la amilosa y amilopectina mediante puentes de hidrógeno. Cuando el calentamiento ocurre en exceso de agua y por arriba de la temperatura de gelatinización, los gránulos del almidón pierden su organización cristalina formando regiones amorfas, manifestándose en cambios irreversibles tales como el hinchamiento del gránulo, pérdida de la birrefringencia y la solubilización de la amilosa. Este desorden molecular es conocido como gelatinización. A medida que se producen estos cambios, se produce un aumento de la viscosidad del medio en el que se calienta el almidón (Atwell *et al.*, 1988). El proceso de gelatinización, la cual es una función de la relación almidón/agua, puede ser medida por calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Jane *et al.*, (1992) reportaron las temperatura de inicio (T_o), pico (T_p) y final (T_c) de 74, 79 y 93.1 °C, respectivamente, y una entalpía de gelatinización de 14 J/g para el almidón de malanga (*Colocasia esculenta* (L) Schott) variedad Dasheen cultivado en Hawaii. Temperaturas similares fueron reportadas por Agama-Acevedo *et al.* (2011) para almidón de malanga cultivado en México; T_o , T_p y T_c de 73.6, 80.6 y 87.6 °C, respectivamente; sin embargo, el valor de entalpía del almidón fue más bajo (10.6 J/g) que lo reportado por Jane *et al.* (1992). Valores altos de entalpía de gelatinización (17 J/g) fueron reportados por Lu *et al.*, (2008). Aprianita *et al.*, (2009), obtuvieron temperaturas similares a las antes mencionadas pero un valor de entalpía más bajo (6.28 J/g) que lo reportado por Agama-Acevedo *et al.* (2011).

Las temperaturas de gelatinización son más altas en comparación con los almidones convencionales como el maíz y la cebada. Chávez-Murillo *et al.* (2008) reportaron temperaturas de pico de gelatinización de 72 °C y 64.2 °C, y entalpías de gelatinización de 12.3 y 10.9 J/g para el maíz y la cebada, respectivamente.

El grado de cristalinidad se ha relacionado con la temperatura y la entalpía de gelatinización. Se ha reportado que una temperatura alta de gelatinización indica un alto grado de cristalinidad, el cual provee estabilidad estructural y hace más resistente el gránulo a la gelatinización (Barichello *et al.*, 1990). La temperatura de gelatinización estima la calidad del cristal (longitud de las dobles hélices); por otro lado, la entalpía de gelatinización hace referencia a la calidad del cristal y es un indicador de la pérdida del orden molecular de las dobles hélices de la amilopectina dentro del gránulo (Cooke & Gidley, 1992).

2.2.2.2 Características estructurales

Los almidones presentan estructuras cristalinas y no cristalinas; la relación entre ellas es el principal factor que determina las propiedades del almidón. La estructura cristalina consiste en cadenas de amilopectina en forma de doble hélice, en las cuales los átomos de la molécula (carbono e hidrógeno) se encuentran en posiciones fijas y ordenadas.

La difracción de rayos X (DRX) se ha utilizado para adquirir información acerca de la estructura cristalina de los gránulos de almidón. Existen dos tipos diferentes de cristales que pueden formarse con los agregados de las dobles hélices de la amilopectina, son conocidos como cristales polimórficos tipo A y B, como se muestra en la Figura 2.5, aunque también se conoce el tipo C, el cual se ha considerado como una combinación entre los tipos A y B. La estructura cristalina del tipo A tiene un arreglo de dobles hélices densamente compactadas con un bajo contenido de agua, 4-8 moléculas de H₂O por hélice, proporcionando una simetría monoclinica. Mientras la estructura cristalina del tipo B tiene un arreglo menos compacto y una mayor cantidad de agua inter-helicoidal, 36 moléculas de H₂O por hélice, con un cristal tipo hexagonal (Imberty *et al.*, 1991).

Se ha demostrado que los almidones de cereales muestran un patrón de difracción tipo A, los tubérculos un patrón tipo B, algunos tubérculos y granos un patrón tipo C y los complejos de amilosa –lipídico el tipo V, como se muestra en la Figura 2.6.

Agama-Acevedo *et al.* (2011) y Jane *et al.* (1992) reportaron un patrón de difracción de rayos X de tipo A. Por lo general, los almidones de raíz y tubérculos presentan un patrón DRX de tipo B o C, sin embargo, algunos almidones como la malanga y la yuca presentan tipo A.

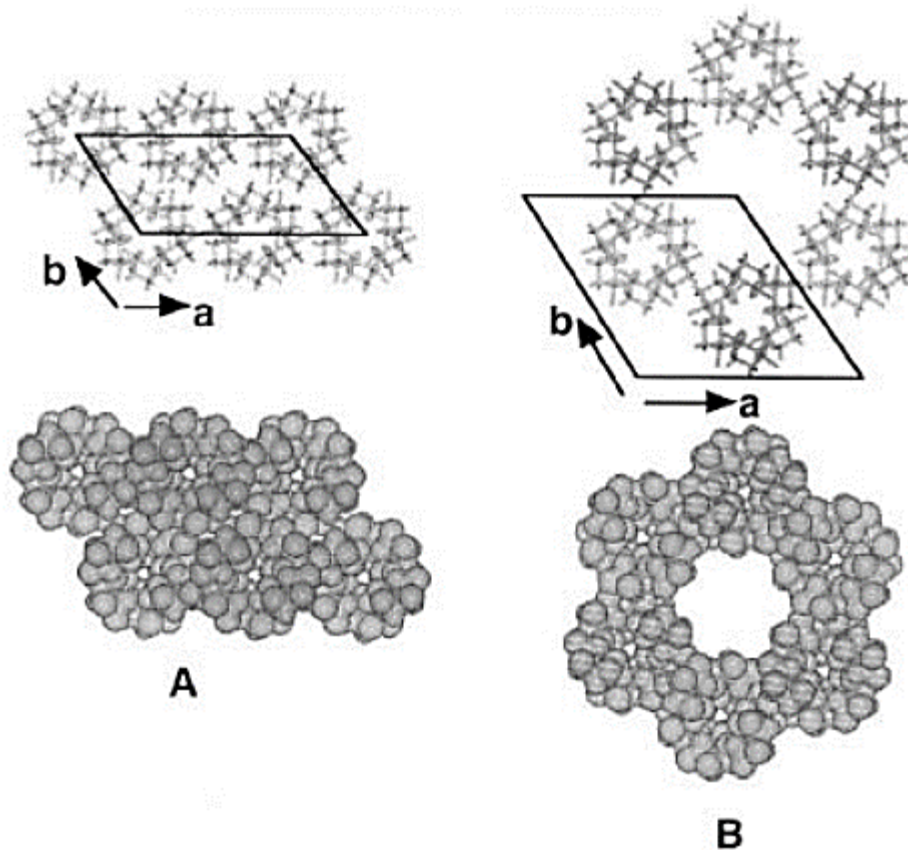


FIGURA 2.5 Principales estructuras cristalinas en los gránulos de almidón: tipo A y tipo B. (Buléon *et al.*, 1998).

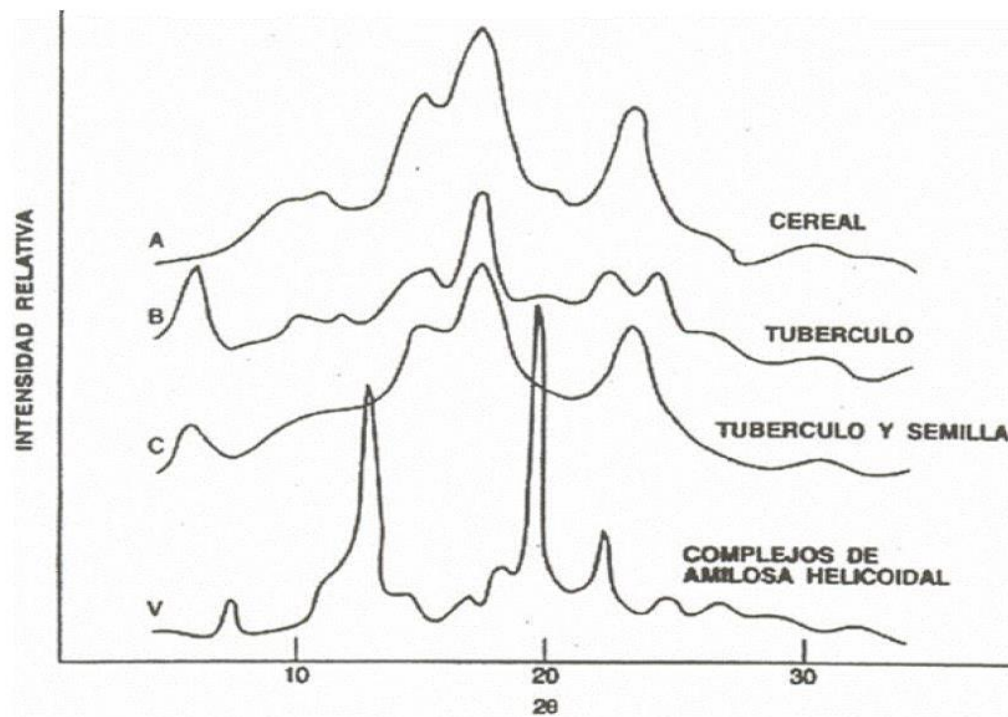


FIGURA 2.6 Patrones de difracción de rayos X, para diferentes almidones (Hizukuri, 1986).

2.2.2.3 Características morfológicas

El tamaño, la forma y la estructura de los gránulos difieren substancialmente entre fuentes botánicas, los diámetros varían entre 1 y 100 μm , y de acuerdo a esto se han clasificado en gránulos grandes ($>25 \mu\text{m}$), por ejemplos en la papa; medianos (10-24 μm), en el maíz y tapioca; pequeños (5-9 μm), en el arroz y la avena; y muy pequeños ($< 5 \mu\text{m}$) como en el amaranto (Tester & Karkalas, 2002; Lindeboom *et al.*, 2004). En cuanto a las formas que adoptan son redondas, elípticas, ovals, lenticulares, poliédricas o poligonales e incluso de forma irregular. (Lineback, 1984; Jane *et al.*, 1994).

El tamaño y la forma de los gránulos depende de la estructura de la amilopectina. Los gránulos alargados tienen amilopectina con pocas ramificaciones pero largas, y gránulos pequeños y esféricos con mayor número de ramificaciones y cadenas cortas (Jane *et al.*, 1994; Coopeland *et al.*, 2009).

De acuerdo con las micrografías realizadas por Sugimoto *et al.* (1986), Jane *et al.* (1992), Agama-Acevedo *et al.* (2011) y Sit *et al.* (2014) los gránulos de almidón de malanga nativo muestran formas poligonales e irregulares con diámetros de 1 – 5 μm . Los almidones de malanga son significativamente más pequeños que el almidón de maíz (5 - 20 μm ; de papa (30-100 μm) y son similares en tamaño y forma al almidón de arroz de gránulos pequeños. El tamaño del gránulo de almidón de malanga por ser pequeño, se puede usar como sustituto de lípidos o en la encapsulación de sabores y sustancias (Daniel & Whistler, 1990; Zhao & Whistler, 1994).

El tamaño de gránulo es un parámetro importante que afecta las propiedades funcionales y fisicoquímicas. Se ha reportado que los gránulos muy pequeños pueden absorber una mayor cantidad de agua, en comparación con gránulos grandes, debido a una mayor área de contacto (Lin *et al.*, 2016).

2.3 Almidón modificado

El almidón nativo exhibe aplicaciones limitadas debido a sus propiedades intrínsecas, tales como una baja resistencia al esfuerzo cortante, a la descomposición térmica, alta retrogradación y sinéresis, además de una solubilidad baja en disolventes orgánicos comunes. Por lo tanto, para satisfacer las exigentes necesidades tecnológicas de hoy en día, las propiedades del almidón se modifican mediante una variedad de métodos. La modificación del almidón está dirigida a corregir una o algunas de las deficiencias antes mencionadas, lo que mejora su versatilidad y proporciona atributos funcionales deseables, así como también ofrece una alternativa económica a otros ingredientes hidrocoloides, tales como gomas y mucílagos, que tienen un elevado costo y una disponibilidad limitada (Tharanathan, 2005; Kaviani *et al.*, 2012).

2.3.1 Técnicas de modificación del almidón

Las técnicas para la modificación del almidón se han clasificado en cuatro categorías: modificaciones físicas, químicas, bioquímicas y genéticas, o por una combinación entre éstas, las cuales se muestran en la Tabla 2.3. Los tratamientos físicos generalmente producen cambios solo en las disposiciones de empaquetamiento de las moléculas de polímero de almidón dentro de los gránulos, dichos cambios pueden tener un impacto significativo en las propiedades del almidón, los atributos de sus pastas y geles, e incluso su digestibilidad. A

estas modificaciones generalmente se les da más peso, dado que no implican ningún tratamiento químico que pueda ser perjudicial para el consumo humano.

TABLA 2.3 Técnicas de modificación de almidones.

Modificación física	❖ Tratamiento hidrotérmico <ul style="list-style-type: none"> • Cocción por extrusión • Pregelatinizado • Calentamiento de presión osmótica
	❖ Radiación
	❖ Sonicación
	❖ Liofilización
	❖ Tratamiento de ultra alta presión
	❖ Molienda mecánica
Modificación química	❖ Derivación <ul style="list-style-type: none"> • Eterificación • Esterificación • Entrecruzamiento
	❖ Conversión
	❖ Oxidación
	❖ Hidrólisis ácida (Lintnerización)
	❖ Hidrólisis Enzimática
	❖ Fitomejoramiento
Modificación genética	❖ Biotecnología

Adaptado de: Bemiller & Lafayette, (1997); Huang *et al.*, (2008); Kaviani *et al.*, 2012; Tharanathan, (2005) y Zhang *et al.*, (2012).

Por otro lado, la modificación química implica la introducción de grupos funcionales adecuados en la molécula de almidón, lo que resulta en propiedades fisicoquímicas notablemente alteradas. Dichas propiedades dependen de la fuente de almidón, las condiciones de reacción, tipo de sustituyente, grado de sustitución y distribución de los sustituyentes en la molécula del almidón. De acuerdo con la FAO/WHO, (1997), los tratamientos químicos permitidos y utilizados para producir almidones modificados para uso alimenticio incluyen la esterificación, eterificación, modificación ácida, oxidación y entrecruzamiento. Por último, la modificación genética involucra tecnología transgénica que se dirige a las enzimas involucradas en la biosíntesis del almidón, llevándose a cabo bajo las técnicas de fitomejoramiento o mediante biotecnología (Bemiller & Lafayette, 1997; Kavilani *et al.*, 2012).

Con el fin de mejorar aún más las propiedades funcionales y la utilización de almidones en diversos tipos de aplicaciones, se han introducido métodos de modificación dual, los cuales implican la combinación de métodos de modificación físicos y químicos.

2.3.1.1 Molienda mecánica

Recientemente, se ha empleado la molienda mecánica de alta energía como una modificación física alternativa a los métodos convencionales de modificación química (Moraes *et al.*, 2013, Zhang *et al.*, 2015; Lin *et al.*, 2016, Liu *et al.*, 2018).

2.3.1.1.1 Molienda mecánica de alta energía

El molino planetario de bolas es uno de los más empleados en molienda mecánica del almidón (Tan *et al.*, 2015; Dai *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2018). Además de realizar procesos de trituración y mezclas, estos molinos cumplen con los requisitos para la molienda coloidal.

En el interior de un molino planetario de bolas los contenedores giran simultáneamente sobre su propio eje en un disco rotatorio que gira en sentido contrario, como se observa en la Figura 2.7B. El efecto producido por las fuerzas centrífugas opuestas provoca que el medio impacte desde un extremo lateral del contenedor hacia el otro. La fuerza centrífuga extremadamente alta de estos molinos planetarios de bolas hace que se genere una energía de trituración muy alta, la cual se traduce en tiempos muy cortos de molienda.

Se sabe que las propiedades de los polvos molidos, así como la distribución del tamaño de partícula y el grado de desorden dependen de las condiciones de molienda, tales como: los materiales de molienda (por ejemplo, nitruro de silicio, cerámica, acero inoxidable y carburo de tungsteno); velocidad de molienda; el tiempo de molienda; medio de molienda (por ejemplo, molienda en seco o molienda en húmedo); diámetro de las bolas de molienda ;proporción de peso bolas:muestra y la temperatura de molienda (El-Eskandarany, 2015).

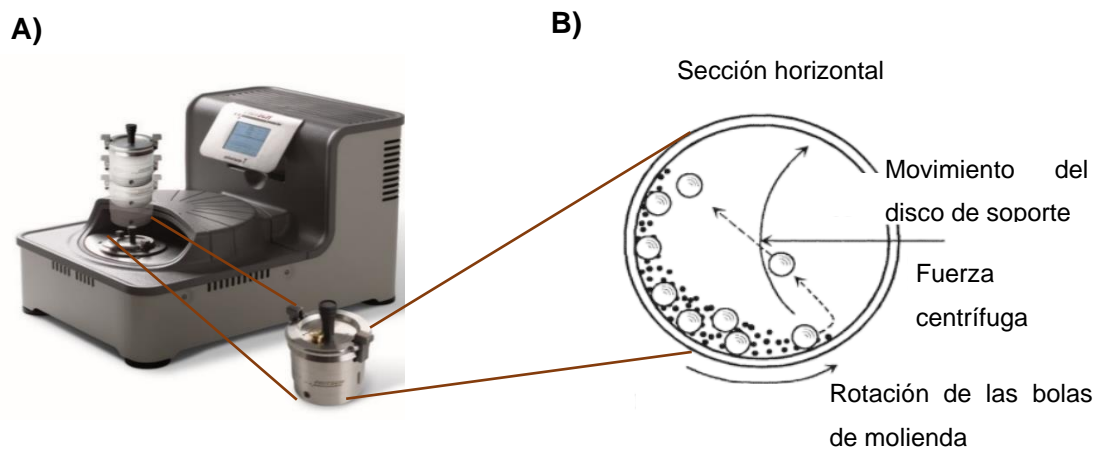


FIGURA 2.7 A) Molino planetario de bolas de alta energía B) Movimiento de las bolas dentro del molino planetario.

El tipo de material utilizado para la fabricación de los medios de molienda (viales y bolas) es importante, debido al impacto de las bolas de molienda en las paredes internas de los viales. Uno de los principales requisitos de los medios de molienda es que deben de ser lo suficientemente pesados para tener suficiente energía requerida para la reducción del tamaño de las partículas de la muestra. Cuanto más duros sean los medios de molienda, mejor será la eficiencia; la densidad de los diferentes materiales empleados en la molienda se muestra en la Tabla 2.4. El uso de medios de molienda hechos de materiales con mayor densidad como acero inoxidable, carburo de tungsteno y circonia conducen a maximizar la eficiencia y, por lo tanto, minimizar el tiempo de molienda requerido para obtener partículas de polvo finas y homogéneas. Una desventaja del uso de materiales con mayor densidad es que pueden

contaminar los polvos molidos con materiales extraños que provienen del desgaste de las bolas durante el proceso de molienda (Loubes, 2015).

TABLA 2.4 Propiedades de diferentes materiales utilizados para la molienda mecánica.

Materiales	Densidad (g/ cm³)	Resistencia a la abrasión
Ágata, SiO ₂	2.65	Bueno
Corindón, Al ₂ O ₃	3.8	Bastante bueno
Nitruro de silicio, Si ₃ N ₄	3.25	Excelente
Óxido de circonio, ZrO ₂	5.9	Muy bueno
Acero inoxidable (Fe, Cr, Ni)	7.8	Bastante bueno
Acero templado (Fe, Cr)	7.9	Bueno
Compuestos de carburo de tungsteno (WC/Co)	14.9	Muy bueno

Cuando se emplea la molienda mecánica en el almidón los efectos de la fricción, colisión, corte y otras acciones mecánicas modifican la estructura cristalina y, en consecuencia, las propiedades fisicoquímicas de los gránulos de almidón, lo cual produce cambios graduales en la estructura molecular, la estructura cristalina, la solubilidad en agua, las características térmicas, morfológicas y la digestibilidad de los almidones(Kim *et al.*, 2001; Huang *et al.*, 2008; Moraes *et al.*, 2013; Juarez-Arellano *et al.*, 2019). Tradicionalmente, los métodos empleados para modificar la estructura cristalina del almidón son la hidrólisis ácida, la hidrólisis enzimática y la oxidación, lo cual genera elevados costos de producción y contaminación por los reactivos empleados.

El molino de bolas convierte el estado semicristalino del almidón en un estado amorfo (Moraes *et al.*, 2013). Kim *et al.*, (2001) estudiaron el comportamiento de la transición vítrea en el almidón de papa amorfo tratado con molienda mecánica. Las transiciones de segundo orden fueron visualmente notorias en los almidones que se analizaron inmediatamente

después de la molienda y los almacenados a 10 días y un mes. Dado los patrones de difracción de rayos X resultantes (Figura 2.8), confirmaron que el almidón molido durante 17 h estaba en un estado amorfo ya que se mostraba un pico poco profundo y ancho.

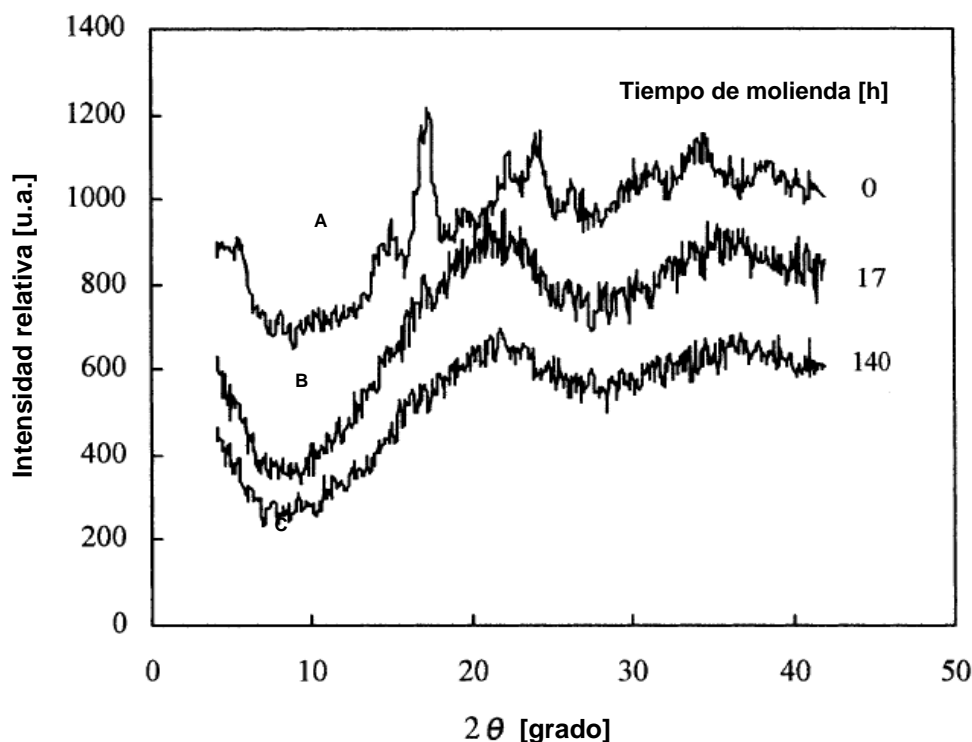


FIGURA 2.8 Patrones de difracción de rayos X para A) Almidón nativo; B) Almidón molido durante 17 h; y C) 140 h. Tomado de Kim *et al.*, (2001).

Huang *et al.* (2008) evaluaron el efecto del tratamiento del molino de bolas en las características fisicoquímicas de los almidones de yuca y maíz. Evaluaron cuatro tiempos de molienda, 0.5, 1, 2 y 3 h, encontrando que cuanto mayor es el tiempo de molienda, mayor es la solubilidad en agua fría. Las solubilidades de los almidones nativos de yuca y maíz son menores de 1 % a 30 ° C. Sin embargo, las solubilidades a la misma temperatura de los almidones tratados de yuca y maíz con molienda mecánica durante 2 h son de 93 % y 38 %, respectivamente. Los autores también informan que a medida que aumenta el tiempo de molienda, la cristalinidad del gránulo se reduce generando mayores zonas amorfas.

También se ha reportado el empleo de molienda mecánica en almidón de papa, Lin *et al.* (2016). El objetivo de su estudio fue obtener nano partículas de almidón a partir de un almidón

de tamaño de partícula grande (20 μm). En una la cámara de dióxido de zirconio se colocaron las bolas de molienda (0.5 mm), el almidón y agua desionizada en una proporción 10:1:1. Se evaluaron tres tiempos de molienda (60, 90 y 120 min) las moliendas se realizaron de manera intermitente con el fin de mantener la temperatura de la cámara constante. Sus resultados demuestran que después de 60 min, se generaron partículas pequeñas de diámetros de aproximadamente 1.5 μm que presentaban grietas en la superficie como se puede observar en la Figura 2.9. Así pues, conforme aumentan los tiempos de molienda el tamaño de partícula se reduce significativamente.

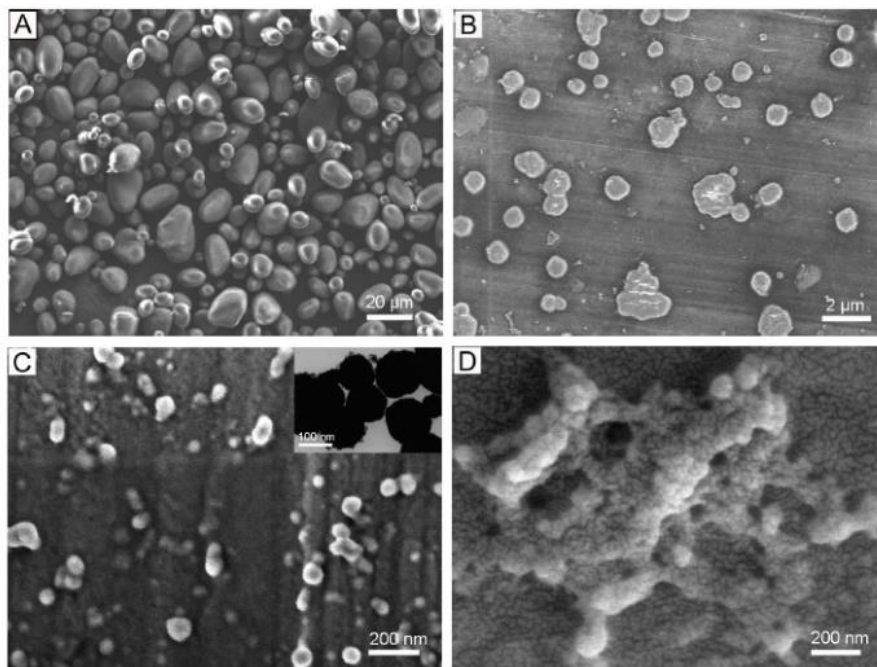


FIGURA 2.9 A. Almidón nativo y almidones tratados con molienda mecánica a distintos tiempos B. 60 min, C. 90 min y D. 120 min. Tomado de Lin *et al.*, 2016.

Estos autores observaron el mismo comportamiento de solubilidad en agua fría, siendo de 0.95 % para el almidón nativo y 94.52 % el almidón tratado con molienda mecánica a 30 $^{\circ}\text{C}$, ellos atribuyen que a causa de la estructura amorfa que se genera, las moléculas de agua son introducidas fácilmente en la muestra; mejorando el área superficial y aumentando la capacidad de adsorción.

Se han reportado más estudios en donde emplean el molino de bolas como una técnica de modificación física del almidón de maíz, arroz, papa, amaranto y trigo (Arai *et al.*, 1989; Mok & Dick, 1991; Diop *et al.*, 2012; Roa *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2017; Dai *et al.*, 2018). Todos estos estudios muestran evidencia que la molienda mecánica aumenta las regiones amorfas y disminuye las regiones cristalinas del almidón, reduce el tamaño del gránulo, disminuye la viscosidad de la solución de almidón y aumenta la solubilidad del almidón en agua a temperatura ambiente (30 °C). Así también se indica que el tiempo es una variable clave en el proceso de molienda mecánica.

Juarez-Arellano *et al.*, (2019) emplearon el molino de bolas de alta energía como un tratamiento para la producción de azúcares fermentables a partir de harina de malanga (*Colocasia esculenta*), malanga Isleña (*Colocasia antiquorum*) y yuca (*Manihot esculenta*). Estudiaron una molienda en seco en un Pulverisette 7 premium line, fritsch. El material de las bolas y los viales fueron de acero inoxidable y evaluaron distintos tiempos de molienda (5, 10, 20, 30 y 40 min) a una frecuencia de 600 rpm las moliendas se realizaron de manera intermitente con el fin de mantener la temperatura de la cámara constante.

En los resultados de microscopía electrónica de barrido (Fig. 2.10) los autores observaron una destrucción de los gránulos y la formación de aglomerados grandes a los 10 min de molienda, mientras que a los 20 min dichos aglomerados disminuyeron su tamaño de partícula.

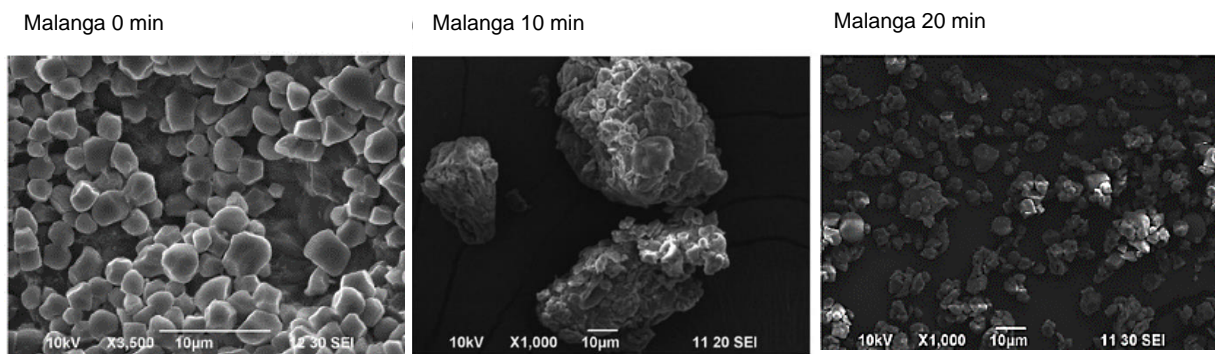


FIGURA 2.10 Micrografías de la muestra de harina de malanga tratada con molienda mecánica a diferentes tiempos de molienda.

Por otro lado, el almidón de malanga presentó un patrón de difracción tipo C, en cuanto a las muestras de harina de malanga, el patrón es parecido al almidón de malanga puro. En la Figura 2.11 se observa que la cristalinidad disminuye conforme aumenta el tiempo de molienda, siendo evidente que a los 20 minutos las muestras se vuelven amorfas. Los autores indican que el mecanismo es similar al descrito por la hidrólisis ácida, con la diferencia de que en este método se requieren tiempos de hidrólisis prolongados (días, incluso semanas) para generar cambios en la estructura del almidón.

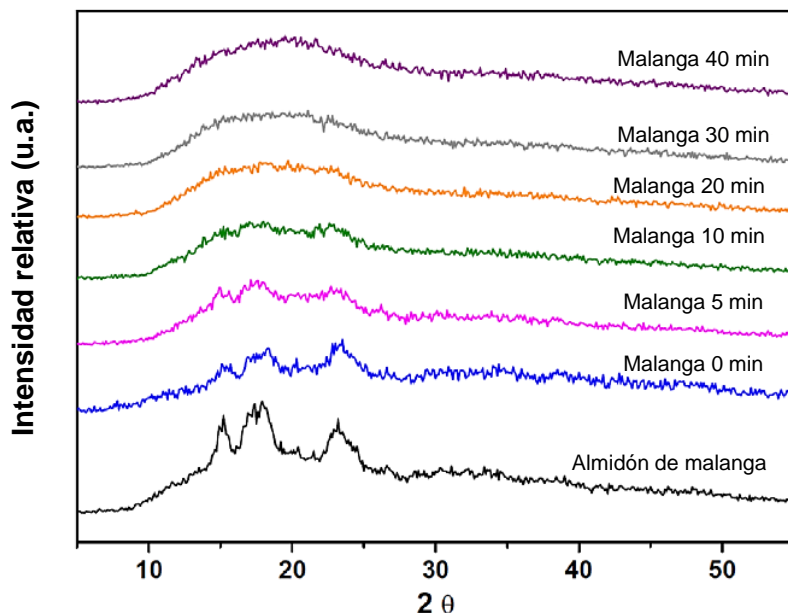


FIGURA 2.11 Patrones de difracción de rayos X de las muestras de harina de malanga antes y después de la modificación por molienda de bolas de alta energía. Tomado de: Juárez-Arellano *et al.*, (2019).

Según nuestro conocimiento, sólo Liu *et al.*, (2018) han empleado el molino de bolas en almidón de malanga, ellos realizaron una modificación dual (molienda y esterificación con anhídrido octenil succínico (OSA)) para emplearlo como estabilizante de emulsiones Pickering. En el recipiente de molienda de un molino de bolas planetario se colocaron las bolas de molienda y el almidón en una proporción de 3:1 a 420 rpm durante 5 h. posteriormente realizaron una esterificación empleando OSA al 3 % (en base al peso del almidón). Evaluaron la capacidad emulsionante de las modificaciones por separado y de manera dual observando que con la modificación dual se obtuvieron mejores resultados de capacidad emulsionante y

una mejor estabilidad de la emulsión (Fig. 2.12), que empleando los métodos de manera separada, debido a que el almidón sometido a molino de bolas exhibía una estructura cristalina dañada, como se muestra en la Figura 2.13 lo cual aumentaba el área de contacto del almidón con el reactivo OSA.

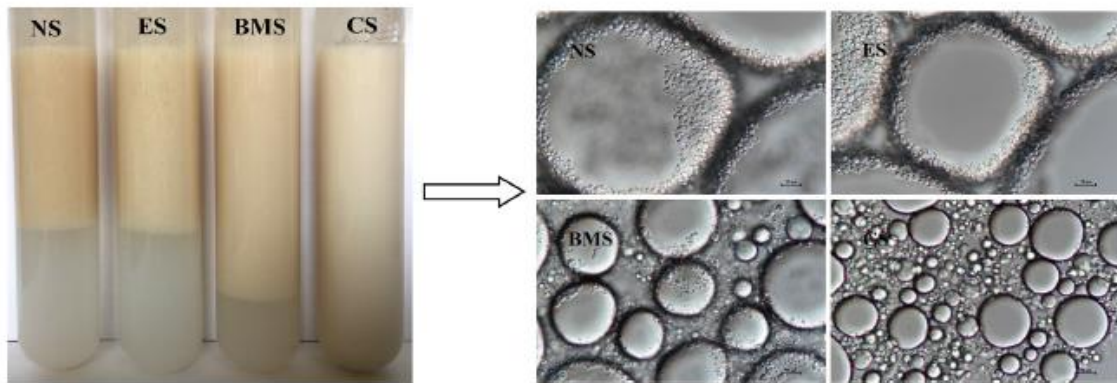
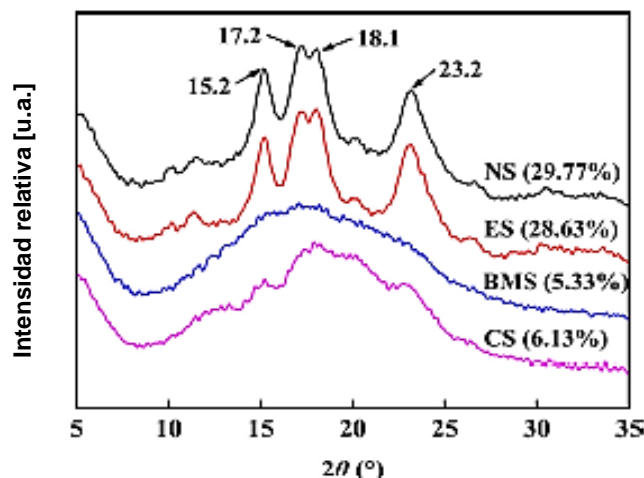


FIGURA 2.12 Fotografías (lado izq.) y micrografías (lado der.) de emulsiones pickering estabilizadas (1 h) por el almidón de malanga. NS: Almidón nativo; ES: Almidón esterificado; BMS: Almidón tratado con molienda mecánica; CS: Almidón modificado dualmente (Molienda mecánica y esterificación).



NS: Almidón Nativo

ES: Almidón Esterificado

BMS: Almidón Molido con Bolas

CS: Almidón dual

FIGURA 2.13 Patrones de difracción de rayos X del almidón de malanga. Los valores entre paréntesis indican cristalinidad relativa (%). Tomado de: Liu *et al.* (2018).

2.3.1.2 Entrecruzamiento

La modificación química es utilizada comúnmente para mejorar las propiedades del almidón con el fin de satisfacer requerimientos de aplicaciones específicas (Han & BeMiller, 2008), tiene como objetivo primordial la sustitución de grupos funcionales o la formación de un nuevo enlace incorporando algún grupo funcional de tal forma que sea un sustrato no reconocido por las enzimas digestivas (Vásquez, 2013).

El tratamiento por entrecruzamiento es una de las formas más utilizadas para modificar el almidón el cual consiste en la introducción aleatoria de enlaces covalentes intra e intermoleculares en el gránulo de almidón, los cuales refuerzan los enlaces de hidrógeno que actúan como puentes entre las moléculas de almidón (Singh *et al.*, 2007). El entrecruzamiento se realiza generalmente por tratamiento de almidón granular con reactivos multifuncionales capaces de formar enlaces éter o éster intermoleculares entre grupos hidroxilo sobre las moléculas de almidón (Tharanathan, 2005). En los Estados Unidos de América, el uso de agentes entrecruzantes para los almidones de uso alimentario está regulado por el Código de Regulaciones Federales, en el que se incluyen el ortofosfato monosódico (SOP), el trimetafosfato de sodio (STMP), el tripolifosfato de sodio (STPP) y el oxiclورو de fósforo (CFR, 2001) están permitidos. Cuando se usa STMP, el contenido de fósforo en el almidón no debe exceder el 0.04 %, pero cuando el almidón reacciona con una mezcla de STMP / STPP,

el nivel de fósforo permitido es diez veces más alto (0.4 %) (CFR, 2001). El tipo de agente entrecruzante determina en gran medida el cambio en las propiedades funcionales de los almidones tratados.

Alam & Hasnain (2009) modificaron almidón de malanga empleando un entrecruzamiento con STMP en una suspensión de 45 % de almidón se agregaron 4 g de STMP y 10 g de sulfato de sodio ajustando el pH a 9.5. Evaluaron el efecto de la temperatura y el pH en las propiedades funcionales del almidón modificado. Sus resultados indicaron que la solubilidad del almidón entrecruzado (13 %) a una temperatura de 95 °C era menor que su contraparte nativa (22 %). Ellos mencionaban que el entrecruzamiento inhibía en cierto grado la solubilidad y esta inhibición estaba directamente relacionado con el grado de entrecruzamiento. En cuanto al poder de hinchamiento observaron la misma tendencia, el entrecruzamiento inhibía el hinchamiento del gránulo en un 60 % con respecto al almidón nativo. Esto ocurre debido a un empaquetamiento apretado de las moléculas en el gránulo. Así pues, hacen mención que cuando se aumenta el grado de entrecruzamiento disminuye la capacidad del gránulo de hincharse y también disminuye su viscosidad. Los autores no realizan pruebas de viscosidad, sin embargo está relación se ha observado en otras fuentes de almidón (Gao *et al.*, 2014; Waliszewski *et al.*, 2003).

Por otro lado, Hazarika & Sit, (2016) realizaron una modificación dual del almidón de malanga, mediante hidroxipropilación y entrecruzamiento (POCL_3) y evaluaron las propiedades de los almidones modificados. En el trabajo evaluaron dos niveles diferentes de hidroxipropilación (5 y 10 % de óxido de propileno) y de entrecruzamiento (9.95 y 0.10 % de POCL_3). En sus resultados, observaron que el hinchamiento (de 13 a 15 %) y la solubilidad (20 a 45 %) de los almidones aumentan con el aumento del nivel de hidroxipropilación y disminuye con el aumento del nivel de entrecruzamiento. Además, observaron que la secuencia en la que se llevaron a cabo las modificaciones jugó un papel importante en las propiedades de los almidones modificados duales. Se encontró que la solubilidad de los almidones de modificación dual en los que se realizó primero la hidroxipropilación era mayor (27 %) que la de los almidones en los cuales se realizó primero el entrecruzamiento (solubilidad: 11 %) para los mismos niveles de ambos tratamientos (10 % óxido de propileno y 0.10 POCL_3). Los autores concluyeron que, de acuerdo con los niveles usados, generaron tanto almidones con alta viscosidad en soluciones y estabilidad en almacenamiento en frío, como almidones con mayor firmeza y una mejor solubilidad. Cabe resaltar que esta modificación no fue dirigida a alguna aplicación en particular.

Zhang *et al.*, (2015) estudiaron el efecto de la molienda de bolas en un medio etanólico sobre las propiedades del almidón de maíz y posteriormente realizaron una reacción de entrecruzamiento con STMP y solamente evaluaron el rendimiento de la reacción. Para el tratamiento con molienda de bolas del almidón de maíz, evaluaron distintas cargas del almidón (15, 20, 25 y 30 g) en un volumen de 50 mL de etanol, manteniendo fijo los parámetros de velocidad giratoria (450 rpm) y el tiempo (3 h), los autores no especifican el material de los tazones y bolas empleadas en su investigación. Sus resultados informaron que después del tratamiento con molienda de bolas en etanol, la estructura cristalina se destruyó parcialmente y el índice de cristalinidad de los almidones tratados disminuyó a medida que disminuía la carga de molienda, además el pico de viscosidad en el perfil de pasta disminuyó cuando emplearon la carga mínima. Según las micrografías que obtuvieron, los gránulos de almidón perdieron suavidad en la superficie al emplear cargas elevadas de molienda. Mientras que cuando emplearon cargas menores, algunos gránulos se aplastaron. Los autores seleccionaron los almidones micronizados con 25 y 30 g de carga para ser modificados químicamente mediante entrecruzamiento con STMP. Evaluaron dos tiempos de reacción, 1 y 2 h, la variable de respuesta fue el contenido de fósforo. Reportaron que el tratamiento de molienda de bolas mejoró la eficacia del entrecruzamiento en el almidón (Figura 2.14) y esta mejor actividad se relaciona con la estructura cristalina dañada, que promovió la penetración de los reactivos.

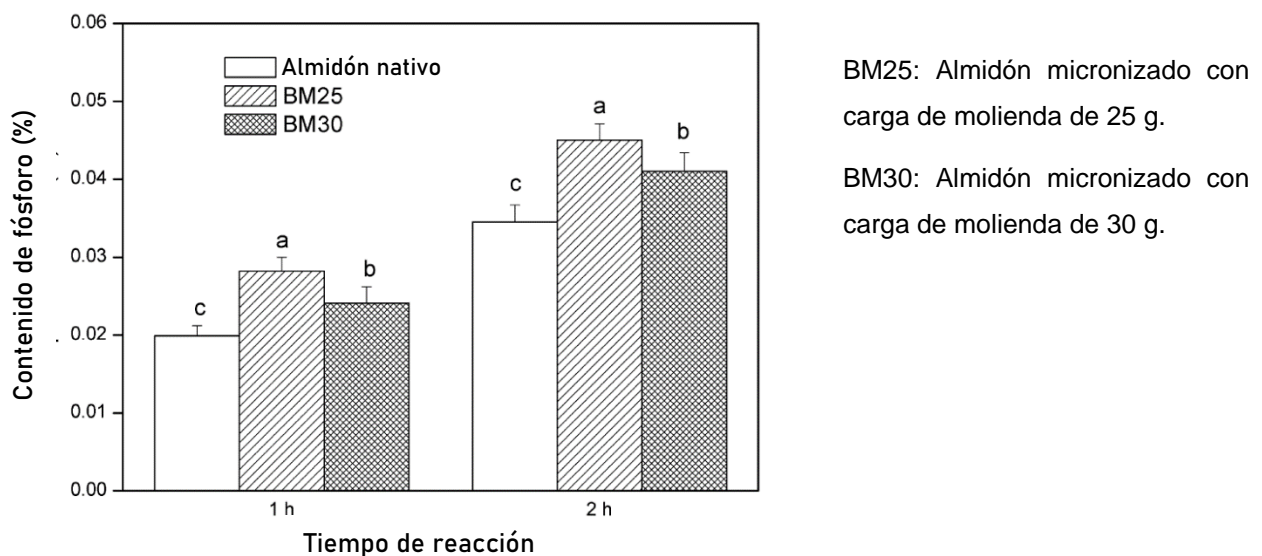


FIGURA 2.14 Contenido de fósforo de los productos entrecruzados de almidón de maíz micronizado. Tomado de Zhang *et al.*, 2015.

2.3.2 Aplicaciones de los almidones modificados en la industria alimentaria

El almidón es un ingrediente muy importante y flexible, que posee atributos de valor añadido para innumerables aplicaciones industriales. Sus diversos derivados modificados química y físicamente ofrecen un gran alcance de alto valor tecnológico en industrias alimentarias, como espesantes en productos que requieren una viscosidad alta y estable; confiriendo adhesión, evitando el endurecimiento, entre otros. También se emplean como sustitutos de grasa en sistemas de alta humedad, como aderezos para ensaladas, emulsiones de carne y algunos productos de panadería (Tharanathan, 2005; Kavlani *et al.*, 2012). Diversos autores han reportado el uso de almidones modificados empleados como materiales encapsulantes de compuestos bioactivos en el proceso de microencapsulación (Loksuwan, 2007; Robert *et al.*, 2012; Rocha *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012; Palma-Rodriguez *et al.*, 2013; He *et al.*, 2016).

Los estudios que se centran en el desarrollo de nuevos materiales de encapsulación o materiales de pared comúnmente emplean compuestos bioactivos termolábiles, por ejemplo ácido ascórbico (Moura *et al.*, 1996; Trindade & Grosso, 2000; Palma-Rodriguez *et al.*, 2013; Hoyos-Leyva *et al.*, 2018) como un indicador para evaluar los parámetros de secado, dado que las vitaminas se dañan total o parcialmente con el exceso de calor, oxígeno y humedad. Así mismo, cuando se requiere evaluar la retención de un compuesto volátil muchos investigadores han usado vainillina como modelo de material del núcleo (Tari *et al.*, 2003a; Hundre *et al.*, 2015; Noshad *et al.*, 2015). Tales indicadores se emplean debido a que su retención en el proceso de secado asegura que otros componentes de su misma naturaleza permanezcan sin alterarse durante el procesamiento.

El almidón nativo de malanga ha sido usado como material de pared para la encapsulación de diferentes compuestos bioactivos.

Tari *et al.* (2003) produjeron agregados esféricos de almidones de gránulo pequeño, amaranto, quinoa, arroz y malanga, para la encapsulación de un compuesto volátil modelo, vainillina. Previo a la formación de los agregados esféricos los autores evaluaron el contenido de amilosa/amilopectina de los almidones. La vainillina a 5 y 10 % se mezcló con una suspensión de almidón al 20 % en presencia de diferentes agentes aglutinantes, carragenina, goma arábiga y carboximetilcelulosa (CMC) de manera independiente y con diferentes cantidades, 0.1 g, 0.5 g, 1.0 g con la finalidad de preparar agregados esféricos. Esta solución fue alimentada a un secador por aspersión (Mini Spray BÜCHI B-190).

Sus resultados muestran que la goma arábica al 1.0 % con almidón de amaranto proporcionó la mejor retención de vainillina, 94 y 95.6 % para 5 y 10 % de vainillina, respectivamente.

Con la finalidad de comprender el papel de los tipos de almidones en la eficiencia de la vainillina, correlacionaron el contenido de amilosa de los almidones con la recuperación de vainillina en la parte superficial (SV), en el interior (EV) y el total de vainillina en la cápsula. Los autores mencionan la importancia en la proporción de amilosa: amilopectina como un punto clave en el rendimiento de encapsulación. Dado que aquellos con mayor peso molecular (almidones waxy) presentan una menor difusividad del soluto durante el secado por aspersión y una mayor tasa de formación de una corteza seca en la superficie de la cápsula (Reineccius & Coulter, 1969).

Otro estudio que empleó agregados esféricos de malanga para microencapsulación fueron Hoyos-Leyva *et al.* (2018), los cuales evalúan la estabilidad física de dos materiales de núcleo hidrófilo (ácido ascórbico) e hidrófobo (aceite de almendras). El almidón de malanga aislado presentó un contenido de proteínas de 4.7 g por 100 g b.s. La microencapsulación se llevó a cabo en un secador por aspersión (Mini Spray Dryer BÜCHI B-290).

De acuerdo las micrografías que obtuvieron, ellos observaron una morfología esférica compuesta por agregados de almidón para ambos materiales de núcleo. En cuanto a la eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico y el aceite de almendras en los agregados esféricos de almidón de taro fue de 99.9 ± 0.1 % y 56 ± 0.5 %, respectivamente. Los autores infieren que estas diferencias pueden ser inducidas por varios factores como la homogeneidad de la dispersión de la alimentación durante la preparación de la muestra antes del proceso de secado por aspersión, la afinidad entre el almidón y el material del núcleo y el orden de las moléculas de agua en la microestructura del material de la pared.

Los estudios presentados anteriormente demuestran que para que el almidón de malanga nativo pueda emplearse como agente encapsulante es necesario que se combinen con agentes aglutinantes como glicerol, gomas y proteínas para mejorar sus características emulsionantes y solubilidad.

En la literatura científica estudiada se encontró que Verdalet-Guzmán *et al.* (2013) realizaron dos modificaciones duales en el almidón de malanga empleando una hidrólisis ácida con HCl seguida de una esterificación (tripolifosfato de sodio (STPP) y anhídrido octenil succínico (OSA)) llevadas a cabo en un extrusor. Los almidones modificados se evaluaron

como material de pared en la encapsulación de aceite de naranja (*d*-limoneno) mediante secado por aspersión (SD-Basic Spray-Dryer, LabPlant).

Sus resultados mostraron una reducción de la viscosidad en ambas modificaciones duales (18,94 cP y 18.76 cP de STPP y OSA, respectivamente) con respecto al almidón nativo (4000 cP) la disminución drástica se debe en parte, a la hidrólisis dado que resultan productos de bajo peso molecular que muestran una absorción de agua reducida y al entrecruzamiento el cual estabiliza la estructura granular inhibiendo el hinchamiento del gránulo. La eficiencia de encapsulación del almidón de malanga fosfatado y con OSA fue de 96.9 y 98.64 %. Cabe señalar que estas eficiencias fueron muy similares a las que se obtuvieron con el almidón convencional de maíz (97 y 98 %), bajo las mismas condiciones de modificación y de encapsulación. Por lo cual los autores concluyen que el almidón de malanga modificado dualmente es una innovación tecnológica de bajo costo y con buenas capacidades de encapsulación del aceite de naranja.

2.4 Síntesis de antecedentes

Actualmente, el almidón es un biopolímeros funcional utilizado como material de soporte en la microencapsulación, debido a que puede ser fácilmente modificado para proporcionar atributos funcionales deseables, así como ofrecer una alternativa económica frente a otros ingredientes hidrocoloides como gomas y mucílagos, los cuales son limitados en disponibilidad (Tharanathan, 2005).

Una de las estrategias para mejorar o funcionalizar el almidón es realizando combinaciones de técnicas de modificación, por ejemplo, se ha modificado el almidón de yuca con una combinación de hidrólisis ácida y un tratamiento hidrotérmico en un autoclave con la finalidad de evitar el empleo de aglutinantes, en su uso como material de soporte (Loksuwan, 2007). Por otro lado, se ha modificado dualmente el almidón de malanga combinando la hidrólisis ácida con una esterificación (OSA) con el objetivo de dirigir la afinidad a encapsular compuestos hidrofóbicos (aceite de *d*-limoneno).

La hidrólisis ácida ha sido uno de los métodos de modificación del almidón ampliamente usado, sin embargo, requiere tiempos prolongados de procesamientos además de generar volúmenes grandes de productos químicos contaminantes. Entre otras opciones, las modificaciones físicas tienen ventajas sobre otros métodos, debido a que, el proceso de

producción de estos almidones no genera residuos. Uno de los métodos físicos actualmente empleados es la molienda mecánica de alta energía. Hasta el momento, sólo hemos encontrado en la literatura el trabajo reportado por Zhang *et al.*, (2015) quienes emplearon una modificación dual con molienda mecánica con etanol y entrecruzamiento con STMP en el almidón de maíz, evaluando solamente el contenido de fósforo en los almidones modificados duales sin realizar una caracterización fisicoquímica y estructural para conocer los cambios provocados en el almidón. En cuanto al almidón de malanga, Liu *et al.*, (2018) han reportado una modificación dual con la molienda mecánica de alta energía en conjunto con una esterificación (anhídrido octenil succínico, OSA) en almidón de malanga con el objetivo de emplearlo como estabilizante de emulsiones Pickering.

Hasta ahora no se han encontrado evidencia de una modificación dual en el almidón de malanga mediante molienda de bolas en vía seca y entrecruzamiento con STMP:STPP.

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de la modificación dual sobre las propiedades fisicoquímicas, térmicas, estructurales y morfológicas del almidón de malanga (*Colocasia esculenta* L.)

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto de la molienda de bolas sobre las propiedades fisicoquímicas y morfológicas del almidón de malanga.
- Evaluar el efecto de la molienda de bolas sobre las propiedades térmicas y estructurales del almidón de malanga.
- Evaluar el efecto del entrecruzamiento sobre las propiedades fisicoquímicas, térmicas y estructurales del almidón de malanga.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materia prima

La malanga fue proporcionada por productores de la región del Papaloapan y el almidón de malanga fue proporcionado por el Dr. Alejandro Aparicio Saguilán de la Universidad del Papaloapan.

4.2 Reactivos

El trimetafosfato de sodio (STMP), tripolifosfato de sodio (STPP), sulfato de sodio e hidróxido de sodio fueron adquiridos en Sigma-Aldrich. Todos los demás productos químicos son de grado analítico.

4.3 Métodos

En la Figura 4.1 se muestra un diagrama general de la metodología que se empleada en el presente trabajo.

4.3.1 Modificación dual del almidón

El proceso de la modificación dual se llevó a cabo en dos etapas, en la primera etapa se realizó una modificación física, molienda mecánica; posteriormente en la segunda etapa la modificación química, entrecruzamiento. Las etapas del proceso se describen a continuación.

4.3.1.1 Etapa I. Modificación física: Molienda mecánica

Se utilizó un equipo de molienda de bolas planetario (Planetary Micro Mill Pulverisette). Se utilizaron dos tazones (80 mL) y bolas (14 de 1 cm) de materiales de molienda de nitruro de silicio (Si_3N_4). Se estableció un diseño experimental factorial 2^2 siendo las variables independientes la velocidad giratoria (600 y 700 rpm) y el tiempo de molienda (50 y 70 min). Para llevar a cabo dichos tratamientos se trabajó con una relación almidón:bolas de nitruro de silicio de 1:4 (6 g almidón: 24 g de las bolas de Si_3N_4). Para evitar el sobrecalentamiento, la molienda se realizó en ciclos de 5 min de molienda y 5 min de pausa para enfriar. Al término de la molienda las muestras se recuperaron y fueron almacenadas en bolsas tricapa para su posterior análisis.

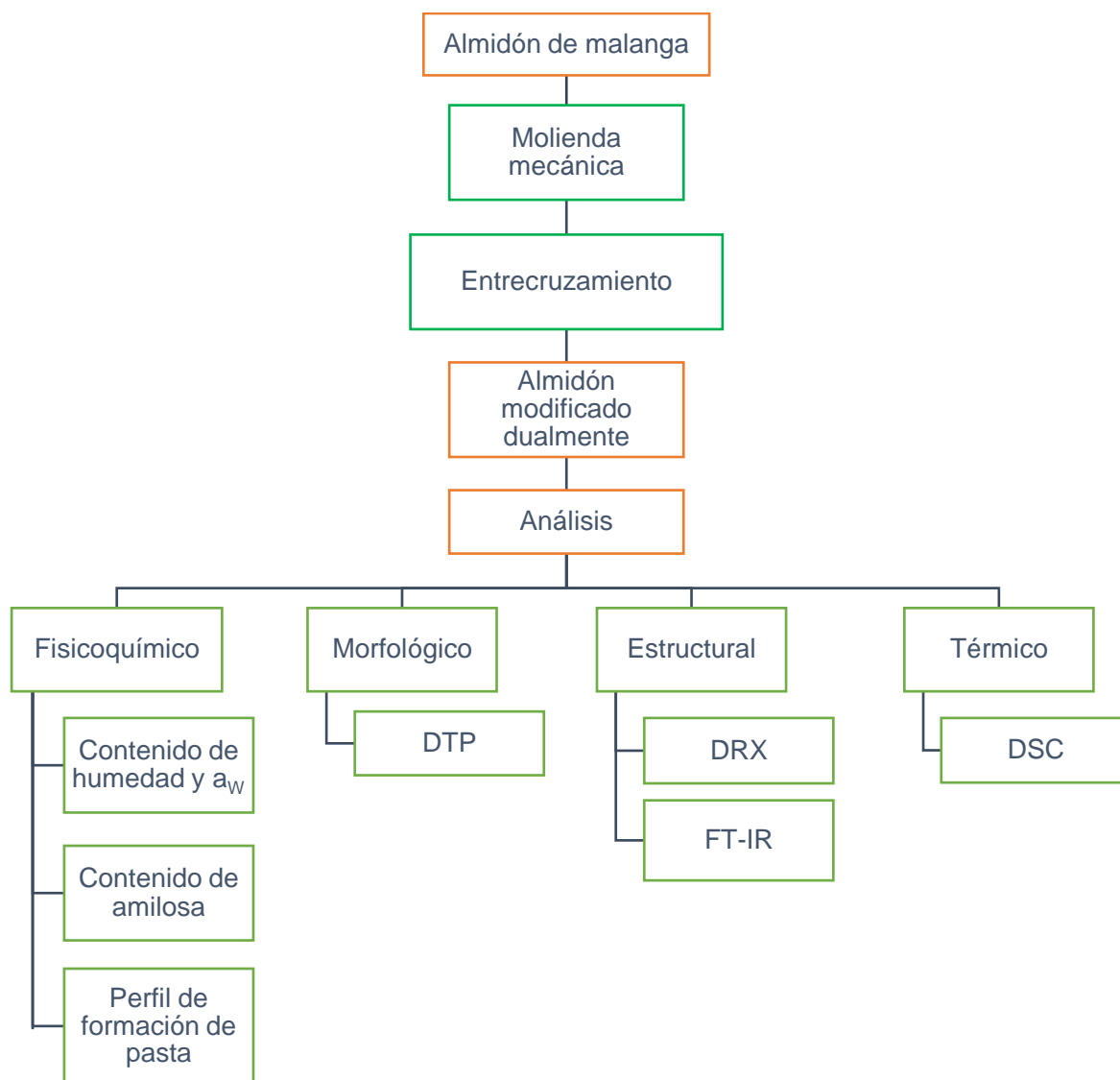


FIGURA 4.3.1.1 Diagrama de flujo de la metodología del proceso

4.3.1.2 Etapa II. Modificación química: Entrecruzamiento

El almidón entrecruzado se preparó usando el método de Seib & Woo (1999). Se colocaron 50 g de almidón de malanga y 100 g de agua destilada en un reactor (Figura 4.2). Se ajustó la temperatura a 45 °C y se agregó sulfato de sodio al 5 % y los agentes entrecruzantes, trimetafosfato de sodio (STMP) y tripolifosfato de sodio (STPP) al 6 % con respecto al peso del almidón y de acuerdo con las proporciones evaluadas de STMP y STPP. Por ejemplo, para 50 g de almidón se adicionó 2.5 g de sulfato de sodio (5 %) y para la proporción 50:50 de STPP:STMP, se adicionó 1.5 g de STPP y 1.5 g de STMP. Mientras que para la proporción 80:20 de STPP:STMP, se adicionó 2.4 g de STPP y 0.6 de STMP. Inmediatamente se ajustó el pH a 11 adicionando hidróxido de sodio 1 M. La suspensión se mantuvo en agitación y supervisión constante durante 3 h. Posteriormente la suspensión se neutralizó a pH 6.5 adicionando HCl 1 M. El almidón fue recuperado por centrifugación en una centrífuga Veronesi (Mod. SAT 130) y se realizaron 7 lavados con agua destilada para eliminar el fósforo residual. La suspensión se secó en una estufa (Imperial V, EEUU) a 40 ° C durante toda la noche, para obtener el almidón modificado. El polvo se trituró en un mortero, se cribó en un tamiz No. 100 (0.15 mm) y se almacenó en bolsas tricapa para su posterior análisis

TABLA 4.3.11 Niveles evaluados durante el entrecruzamiento.

Variable del proceso	Niveles evaluados	
Proporción de agentes entrecruzantes (STMP:STPP)	50 : 50	20 : 80



FIGURA 4.3.12 Equipo de trabajo empleado para la reacción de entrecruzamiento

4.4 Caracterización del almidón modificado

Una vez que el almidón de malanga se modificó dualmente se llevó a cabo la caracterización de este mediante análisis fisicoquímicos, morfológicos, térmicos y estructurales.

4.4.1 Análisis Fisicoquímicos

Dentro de los análisis fisicoquímicos evaluados se determinó el contenido de humedad, actividad de agua y perfil de formación de pasta, también se evaluó la pureza del almidón y el contenido de amilosa aparente.

4.4.1.1 Determinación del almidón total

El almidón total se evaluó mediante el kit para almidón total de Megazyme (K-TSTA-100A 02/17), el cual se fundamenta en cuantificar la glucosa liberada como resultado de la hidrólisis enzimática con α -amilasa y amiloglucosidasa termoestables. Se pesaron 100 mg de muestra en un tubo de ensayo, la cual fue humedecida con 0.2 mL de etanol al 80 % y se agitó en un vortex. Se adicionaron 2 mL de KOH 2 M y se mantuvo en agitación por 20 min en un baño de hielo/agua. Posteriormente se agregó 8 mL de buffer acetato de sodio 1.2 M (pH 3.8) a cada tubo con agitación magnética. Inmediatamente se adicionaron 0.1 mL de α -amilasa termoestable y 0.1 mL de amiloglucosidasa y se incubaron en un baño de agua a 50 °C por 30 min. Se transfirió todo el contenido del tubo a un matraz aforado de 100 mL y se aforó el volumen con agua destilada. Se centrifugó una alícuota de la solución a 1800 g por 10 min. Se tomaron por triplicado 0.1 mL del sobrenadante en tubos de ensayo para determinar la cantidad de glucosa liberada por digestión enzimática, mediante el método de glucosa/oxidasa peroxidasa (GOD-POD), se agregaron 3 mL de GOD-POD se incubó 20 min a 50°C. Las absorbancias fueron leídas a 510 nm en un espectrofotómetro.

El porcentaje de almidón total se calculó empleando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Almidón} = \Delta A \times F \times \frac{FV}{0.1} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} = \Delta A \times \frac{F}{W} \times FV \times 0.9$$

Donde:

ΔA = absorbancia (reacción) comparada con el blanco del reactivo.

$$F = \frac{100 (\mu\text{g de D-glucosa})}{\text{absorbancia para } 100 \mu\text{g de glucosa}} \text{ (conversión de absorbancia a } \mu\text{g)}$$

FV = volumen final (100 mL) = volumen de la muestra analizada

$$\frac{1}{1000} = \text{conversión de } \mu\text{g a mg}$$

$$\frac{100}{w} = \text{factor para expresar "almidón" como un porcentaje del peso de la harina}$$

W= el peso en miligramos de la harina analizada

$$\frac{162}{180} = \text{ajuste de D-glucosa libre a D-glucosa anhidro (como ocurre en almidón)}$$

4.4.1.2 Determinación del contenido de lípidos

Se determinó utilizando un equipo de extracción Soxhlet con 3 g de muestra empleando éter de petróleo como disolvente, el disolvente se evaporó en un rotavapor y el residuo se expresó como porcentaje de lípidos (método 30-25, AACC, 2000).

4.4.1.3 Determinación del contenido de proteínas

Para la determinación de nitrógeno total se utilizó el método de Kjeldahl, con un factor de conversión de 6.25. La cantidad de muestra analizada fue de 5 g y se realizó por duplicado (método 46-13, AACC, 2000).

4.4.1.4 Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó por pérdida de peso, empleando el método de la estufa de vacío (método 44-16, AACC, 2000). Las muestras de material de soporte de 1 g aproximadamente se colocaron en charolas de aluminio previamente secadas a peso constante y se introdujeron en una estufa de vacío (Barnstead Lab-Line mod. 3618-1). La temperatura de operación fue de 65 °C, las muestras se mantuvieron hasta llegar a peso constante (6 h); posteriormente fueron retiradas de la estufa, enfriadas en un desecador y pesadas empleando una balanza analítica (OHAUS mod. PA224C).

4.4.1.5 Determinación de la actividad de agua (a_w)

La actividad de agua en las muestras deshidratadas se determinó a 25 ± 1 °C empleando un medidor de actividad de agua AquaLab Series 3 (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA). Las mediciones se realizaron por triplicado.

4.4.1.6 Contenido de amilosa aparente

El contenido de amilosa aparente se determinó por una modificación de Hoover & Ratnayake, (2002) al método propuesto por McGrance, Cornell, & Rix, (1998). La amilosa tiene una afinidad de formar complejo con el yodo, con una capacidad de enlazamiento de 20 mg de yodo por 100 mg de amilosa, los complejos producen una coloración azul que puede ser cuantificado colorimétricamente (Buléon *et al.*, 1998). Se disolvieron 20 mg de almidón (bs, base seca) en 8 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) al 90 %, y se mantuvieron en agitación por 20 min, posteriormente se calentó en un baño de agua a 85 °C, agitando de manera intermitente. Es importante dejar enfriar los tubos a temperatura ambiente. Finalmente se aforó a un volumen de 25 mL con agua. Se transfirió 1 mL de esta solución a un matraz aforado de 50 mL, se agregaron 40 mL de agua destilada y 5 mL de una solución de I_2/KI (0.0025 M I_2 y 0.0065 M KI), se aforó y se dejó reposar por 15 min a temperatura ambiente antes de leer la absorbancia a 600 nm.

La cuantificación de amilosa se realizó por interpolación en una curva estándar preparada usando una mezcla de amilosa y amilopectina (en un intervalo de 0-100 % de amilosa), se reportó en porcentaje.

4.4.1.7 Perfil de formación de pasta

Para determinar el perfil de formación de pasta de las suspensiones de almidón nativo y modificado dualmente se preparó una dispersión de almidón al 10 % (p/v) y se transfirieron 30 mL a la celda para almidón del Reómetro Híbrido Discovery HR-2, el cual consta de cilindros concéntricos, donde el cilindro interno consta de un impulsor de una hélice. Se programó un ciclo de calentamiento-cocción-enfriamiento. La velocidad de corte se mantuvo constante en 16.78 rad/s. La temperatura inicial fue de 30 °C la cual se mantuvo por 60 s, posteriormente se realizó un calentamiento hasta 90°C a una velocidad de 15 °C/min, manteniendo esa temperatura durante 360 s y finalmente se enfrió hasta 30 °C a una velocidad de 30 °C/min,

manteniéndose a esa temperatura por 420 s. Se utilizó el software TA Instrument Trios versión 4 para obtener los valores de viscosidad con respecto al tiempo y la temperatura.

4.4.2 Análisis Térmicos

El análisis térmico (temperatura y entalpía de gelatinización) del almidón modificado dualmente fueron estudiadas mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC).

4.4.2.1 Determinación de la temperatura y entalpía de gelatinización

Los parámetros térmicos se evaluaron siguiendo el método propuesto por Paredes-López *et al.*, (1994). Se pesaron 2 mg de muestra (en b.s., mínimo de tres réplicas) dentro de una charola de aluminio, posteriormente se le adicionaron 7 μ L de agua desionizada. La charola se selló herméticamente y se dejó equilibrar por 1 h antes de realizar el análisis. Como referencia se utilizó una charola vacía. La muestra se sometió a un programa de calentamiento en un intervalo de temperatura de 30-120 °C y velocidad de calentamiento de 10 °C/min. La temperatura de gelatinización (T_p) fue obtenida directamente del análisis del software TA Instruments Trios versión 4.

4.4.3 Análisis morfológicos

Con la finalidad de evaluar la superficie y la distribución de tamaño de gránulo en los almidones dualmente modificados se realizaron los siguientes análisis.

4.4.3.1 Distribución de tamaño de partícula (DTP)

La distribución del tamaño de partícula de las muestras de almidón se determinó usando un analizador de dispersión láser Malvern Mastersizer 3000 equipado con un Hydro EV como unidad de dispersión (Malvern Instruments, Ltd., Reino Unido). Se registraron tres exploraciones para cada muestra. La dispersión de tamaño se evaluó utilizando el índice de dispersión, denominado span, en función de los diámetros Dv_{10} , Dv_{50} y Dv_{90} representando el 10 %, 50 % y 90 % del volumen total en la distribución de partículas.

$$span = \frac{Dv_{90} - Dv_{10}}{Dv_{50}}$$

4.4.4 Análisis estructural

La difracción de rayos X es un análisis rápido para observar los efectos producidos por la modificación física.

4.4.4.1 Difracción de Rayos-X (DRX)

Para el estudio de los cambios en la organización de la estructura cristalina de la muestra, identificando los picos característicos en 2θ para la región amorfa y cristalina. Las muestras de almidón se analizaron con un difractómetro de rayos-X marca Bruker Axs, modelo D8 Advance, con un generador de radiación de Cu-K α con filtro de Ni y rejilla de 2 mm. Las muestras se analizaron en 2θ de 5 a 60 ° con una corriente de 30 mA y un voltaje de 40 kV.

4.4.4.2 Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)

Los análisis se llevaron a cabo en un espectrofotómetro (DYNASCAN, Spectrum 100, Perkin Elmer) y utilizando un interferómetro de reflectancia total atenuada (ATR, por sus siglas en inglés). Los espectros fueron obtenidos en una resolución de 4 cm⁻¹, en un rango de 4000-515 cm⁻¹.

4.5 Análisis estadístico

Se utilizó un diseño factorial 2² con dos repeticiones para establecer las condiciones de molienda mecánica del almidón de malanga. Las variables independientes fueron la velocidad giratoria y el tiempo de molienda, los diferentes niveles evaluados se muestran en la Tabla 4.4. Las variables de respuesta fueron el contenido de humedad, la actividad de agua, cristalinidad relativa, diámetro medio, temperatura y entalpía de gelatinización y viscosidad máxima. Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente por medio de un análisis de varianza multivariado para definir la significancia de los parámetros para cada respuesta ($p < 0.05$).

TABLA 4.3.1.2 Niveles evaluados de las variables del proceso de molienda mecánica del almidón de malanga.

VARIABLES DEL PROCESO	NIVELES EVALUADOS	
Velocidad giratoria (rpm)	600	700
Tiempo de molienda (min)	50	70

Algunos resultados son mostrados con media \pm desviación estándar con la finalidad de ser comparados con el almidón nativo, para lo cual se realizó un ANOVA de una vía con un nivel de significancia del 5 %. Cuando se encuentren diferencias estadísticas significativas en las medias se utilizó el método de comparaciones múltiples mediante la prueba de Tukey al mismo nivel de significancia.

5 RESULTADOS

5.1 Contenido de almidón total, proteínas y lípidos de malanga nativo

El grado de pureza de un almidón está determinado por el contenido de almidón total. Es decir, posterior al aislamiento se obtiene un polvo, el cual no representa el 100 % en contenido de almidón, debido a que residuos como lípidos, proteínas y minerales se extraen en conjunto con el mismo.

El almidón nativo de malanga (AN) mostró un contenido de almidón total alrededor de 80 % (Tabla 5.1). Diversos autores han reportado resultados similares, tales como Hoyos-Leyva *et al.*, (2017), Gonzalez-Soto *et al.*, (2011), Antonio-Estrada *et al.*, (2009) y Aprianita *et al.*, (2009), quienes reportaron un contenido de almidón total de 84.6, 76, 82.4 y 88.6 %, respectivamente, en *Colocasia esculenta* L. Por otra parte, Ríos-Ríos *et al.*, (2016) reportaron un contenido de almidón total de 97 %, mayor que los trabajos mencionados anteriormente. Es importante mencionar que el tubérculo de malanga presenta una gran cantidad de mucílago, lo cual dificulta, en gran parte la sedimentación de los gránulos de almidón afectando el rendimiento.

Las proteínas y los lípidos son componentes que se encuentran presentes en cantidades mínimas o trazas en el almidón aún después del proceso de extracción debido a la formación de complejos moleculares con los gránulos de almidón (Fannon *et al.*, 1992). El almidón de malanga presentó un contenido de lípidos de 0.42 %. En la literatura se han reportado entre 0.2 a 1.9 % de material lipídico en almidón de *Colocasia esculenta* L. (Pérez *et al.*, 2005; Antonio-Estrada *et al.*, 2009; Sit *et al.*, 2014; Becerril *et al.*, 2015). El bajo contenido de lípidos es característico de almidones provenientes de tubérculos, lo cual representa una ventaja debido a que la presencia de lípidos afecta en la capacidad de absorción de agua y la solubilidad del almidón en solución. En cuanto al contenido de proteínas, algunos autores han reportado valores entre 1 a 7 % en muestras de *Colocasia esculenta* L. (Pérez *et al.*, 2005; Antonio-Estrada *et al.*, 2009; Gonzalez-Soto *et al.*, 2011; Becerril *et al.*, 2015; Hoyos-Leyva *et al.*, 2017). La presencia de esta macromolécula en almidones de gránulo pequeño produce aglomeraciones cuando son secados por aspersion. (Zhao & Whistler, 1994; Tari & Singhal, 2002; Hoyos-Leyva *et al.*, 2018). Por otro lado, se ha reportado que valores superiores al 1 % de proteínas puede afectar las propiedades funcionales y fisicoquímicas del almidón (Zhao & Whistler, 1994; Tari & Singhal, 2002; Hoyos-Leyva *et al.*, 2018).

TABLA 5.1 Contenido de almidón total, proteína y lípidos en el almidón de malanga nativo

Parámetros	AN (<i>Colocasia esculenta</i> L.)
Almidón total (%)	81.20 ± 2.40
Contenido de proteínas (%)	4.68 ± 0.03
Contenido de lípidos (%)	0.42 ± 0.00

Valor promedio de dos repeticiones ± desviación estándar

5.2 Efecto de la molienda mecánica sobre las propiedades fisicoquímicas, morfológicas y estructurales del almidón de malanga (*Colocasia esculenta* L.)

La molienda mecánica de alta energía modifica las propiedades del almidón de malanga, por lo cual, en el presente trabajo se evaluó el efecto de la velocidad giratoria y el tiempo de molienda sobre las propiedades fisicoquímicas, morfológicas y estructurales del almidón de malanga micronizado.

En la Tabla 5.2 se muestran los valores de las probabilidades (p) utilizados para definir la significancia de cada parámetro. Valores de p menores a 0.05 indicaron que los parámetros evaluados fueron significantes. El MANOVA mostró evidencia que las variables de la molienda mecánica tienen un efecto significativo sobre los parámetros evaluados, con excepción de los parámetros térmicos y la viscosidad máxima, los cuales no fueron significantes ($p < 0.05$).

TABLA 5.2 Significancia de los parámetros de cada variable de respuesta del almidón de malanga micronizado

Variables independientes	Contenido Humedad	Actividad de agua	Contenido amilosa	Viscosidad máxima	Tp	ΔH_g	CR	DTP D(50)
Tiempo	<0.01	<0.01	<0.01	0.12	0.21	0.88	0.07	<0.01
Velocidad giratoria	<0.01	<0.01	<0.01	0.11	0.32	0.68	<0.01	<0.01

DTP: Distribución de tamaño de partícula. D(50): Diámetro medio
CR: Cristalinidad Relativa. Tp: Temperatura de gelatinización. ΔH_g : Entalpía de gelatinización

5.2.1 Análisis Físicoquímicos

El contenido de humedad, actividad de agua, contenido de amilosa y perfil de formación de pasta corresponden a las variables de respuesta evaluadas.

5.2.1.1 Contenido de humedad y actividad de agua

En la Tabla 5.3, se presentan los resultados sobre el contenido de humedad (% H, bs) y actividad de agua (a_w) de los almidones de malanga modificados empleando nitrato de silicio como material de molienda. De acuerdo con el MANOVA (Tabla 5.2), los parámetros evaluados presentaron un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre el contenido de humedad. Los valores oscilaron alrededor de 6.5 %, lo cual se encuentra dentro de lo reportado para almidones de malanga (Aprianita *et al.*, 2009; Ríos, 2014).

El contenido de humedad del almidón de malanga modificado aumentó en comparación con la muestra no modificada, debido a que los grupos hidroxilo de la amilopectina pudieron haberse modificado durante el proceso de molienda, lo cual incrementó su carácter hidrofílico (Juarez-Arellano *et al.*, 2019).

Por otra parte, la actividad de agua de los almidones, tanto modificados como nativo, fueron significativamente diferentes. Puede observarse, que para los AM la actividad de agua osciló alrededor de 0.3 y fue menor que lo encontrado en el almidón nativo (0.4). Esto podría ser atribuido a un ligero reordenamiento de las cadenas amiláceas formando una red que atrapó las moléculas de agua que anteriormente estaba libre. Sin embargo, para comprender el comportamiento de estas variables es importante realizar un estudio de isothermas de sorción.

TABLA 5.3 Contenido de humedad y actividad de agua de los almidones modificados mediante molienda mecánica.

Muestra	Humedad (%H, bs)	Actividad de Agua (a_w)
AN	5.62 ± 0.70 ^b	0.433 ± 0.001 ^a
AM 600/50	7.79 ± 0.04 ^a	0.382 ± 0.001 ^c
AM 600/70	6.81 ± 0.10 ^{ab}	0.356 ± 0.001 ^e
AM 700/50	6.67 ± 0.04 ^{ab}	0.396 ± 0.001 ^b
AM 700/70	6.50 ± 0.64 ^{ab}	0.368 ± 0.001 ^d

Valor promedio de tres repeticiones ± desviación estándar

Valores en la misma columna y con diferente letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

5.2.1.2 Contenido de amilosa

El contenido de amilosa de los gránulos de almidón es variable dependiendo de la fuente botánica, así como del tipo de suelo y las condiciones climáticas en donde se desarrolla. Se ha demostrado que las enzimas involucradas en la biosíntesis del almidón son responsables de la variación del contenido de amilosa (Singh *et al.*, 2003; Lu *et al.*, 2008).

El contenido de amilosa del almidón nativo y modificados se muestran en la Tabla 5.4. El almidón de malanga presentó un contenido de amilosa del 14.33 %, clasificándolo como un almidón normal. Diversos estudios reportan diferentes contenidos de amilosa en almidón de malanga, Aprianita *et al.*, (2009), 14.45 %; Antonio-Estrada *et al.*, (2009), 26.9 %; Agama-Acevedo *et al.*, (2011), 2.5 %; Sit *et al.*, (2014), 16 % y Hoyos-Leyva *et al.*, (2017), 8.3 %. La gran diferencia entre los valores de amilosa reportados puede deberse a la zona del cultivo del tubérculo (Singh *et al.*, 2003) y al método empleado para la cuantificación o a la mala reproducibilidad que existe entre los laboratorios en la determinación del contenido de amilosa (Fitzgerald *et al.*, 2009).

La molienda mecánica de alta energía del almidón de malanga a diferentes tiempos y velocidad giratoria presentó un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre el contenido de amilosa. Los

datos de la Tabla 5.2 muestran que los contenidos de amilosa de las muestras tratadas mecánicamente aumentan conforme aumenta el tiempo de molienda y las rpm de la velocidad giratoria esto sugiere que la molienda mecánica atacó zonas amorfas en el almidón, como las cadenas de amilosa, las cuales pudieron ser fraccionadas reflejándose en el aumento de los valores. Este comportamiento concuerda con lo reportado por Zhang *et al.*, (2010) y Moraes *et al.*, (2013) quienes observaron la degradación de la amilopectina y la formación de componentes con menor peso molecular después de periodos prolongados de molienda en el almidón de arroz y yuca, respectivamente. Moraes *et al.*, (2013) sugieren que los enlaces α - (1-6) del almidón fueron atacados durante la molienda mecánica causando la liberación de cadenas ramificadas de amilopectina, las cuales también pudieron formar complejos con el yodo, conduciendo a una sobreestimación del contenido de amilosa.

La presencia de cadenas de amilopectina de menor peso molecular, podría favorecer la eficiencia de encapsulación debido a que favorecería la movilidad molecular durante el proceso de evaporación de agua de la gota durante el secado por aspersion. Teniendo en cuenta que las ramificaciones de las cadenas de amilopectina podrían retener más material del núcleo al mismo tiempo que pueden ofrecer una mejor protección.

TABLA 5.4 Contenido de amilosa del almidón nativo y modificados mediante molienda mecánica

Muestra	Contenido de amilosa (%)
AN	14.70 \pm 0.12 ^e
AM 600/50	15.75 \pm 0.04 ^d
AM 600/70	16.15 \pm 0.04 ^c
AM 700/50	17.62 \pm 0.04 ^b
AM 700/70	18.32 \pm 0.04 ^a

Valor promedio de dos repeticiones \pm desviación estándar
Valores en la misma columna y con diferente letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

5.2.1.3 Perfil de formación de pasta

Cuando una dispersión de almidón se somete a un calentamiento, los gránulos comienzan a hincharse y aumentan su volumen original, provocando un incremento de la viscosidad. Como consecuencia se obtiene un pico de viscosidad máxima, debido al hinchamiento máximo de los gránulos y la lixiviación de la amilosa. El reómetro proporciona el cambio de torque producido por el almidón durante el calentamiento, observándose cambios debido a la gelatinización y gelación del almidón (Acosta-Osorio *et al.*, 2011).

De acuerdo con el MANOVA (Tabla 5.2), los parámetros evaluados no fueron significantes ($p < 0.05$) para esta variable de respuesta. En la Figura 5.1AB se muestra el perfil de formación de pasta para las dispersiones acuosas de almidón nativo y los micronizados, se puede apreciar que todos los tratamientos presentan la misma temperatura de formación de pasta (≈ 80 °C). Lo cual coincide con las temperaturas de gelatinización obtenidas por calorimetría diferencial de barrido (Tabla 5.5).

Al comparar el pico de viscosidad máxima de la dispersión de almidón nativo con la dispersión de almidón micronizado en cada tratamiento, se puede apreciar un cambio significativo entre éstos. A pesar de que para esta variable de respuesta los parámetros no fueran significantes; un tiempo de molienda de 50 min a 600 rpm fueron suficientes para efectuar un cambio en la estructura granular.

Las soluciones del almidón micronizado presentaron valores de pico de viscosidad máxima alrededor de 2.5 Pa.s, como se mencionó anteriormente, inferior al almidón nativo (4.5 Pa.s). Lo cual se atribuye a que la molienda mecánica desorganizó las dobles hélices que forman parte de las zonas cristalinas de la amilopectina, estos resultados concuerdan con los observados en difracción de rayos X, donde se observó una pérdida de la cristalinidad (Figura 5.4) causada por la molienda mecánica.

Este comportamiento es consistente con los resultados de Cavallini & Franco, (2010) y Moraes *et al.*, (2013), ambos autores atribuyeron la reducción, al menor número de gránulos que aún se encuentran intactos y tienen la capacidad de hinchamiento. En este sentido, Asmeda *et al.*, (2016) mencionan que, al aumentar el contenido del almidón dañado, el almidón adquiere menos resistencia al hinchamiento de los gránulos, lo que resulta en un menor pico de viscosidad.

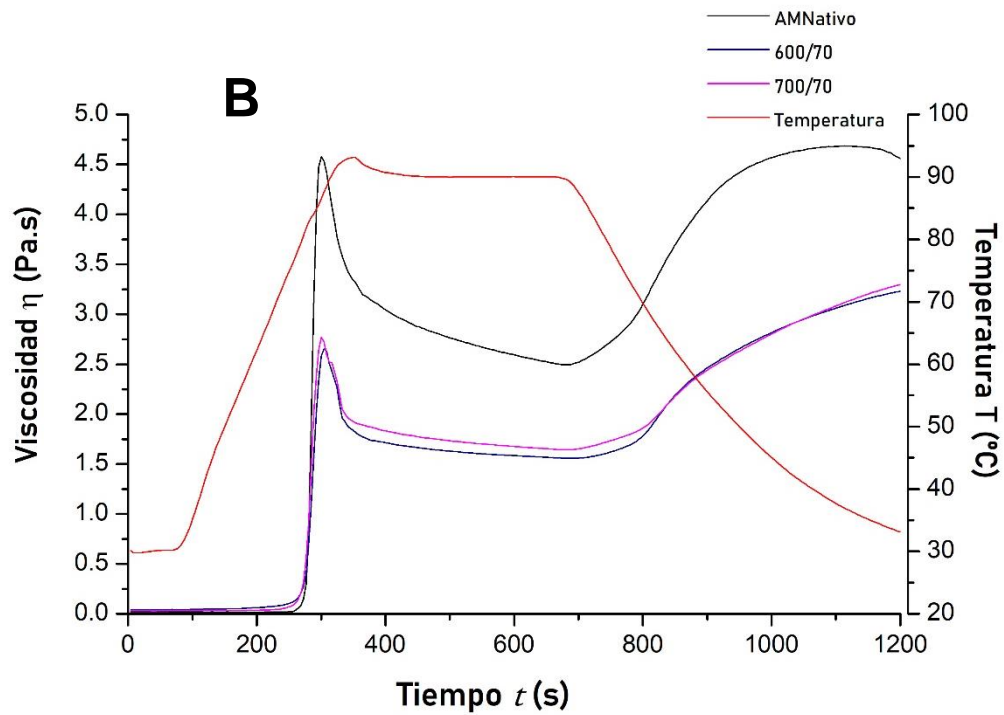
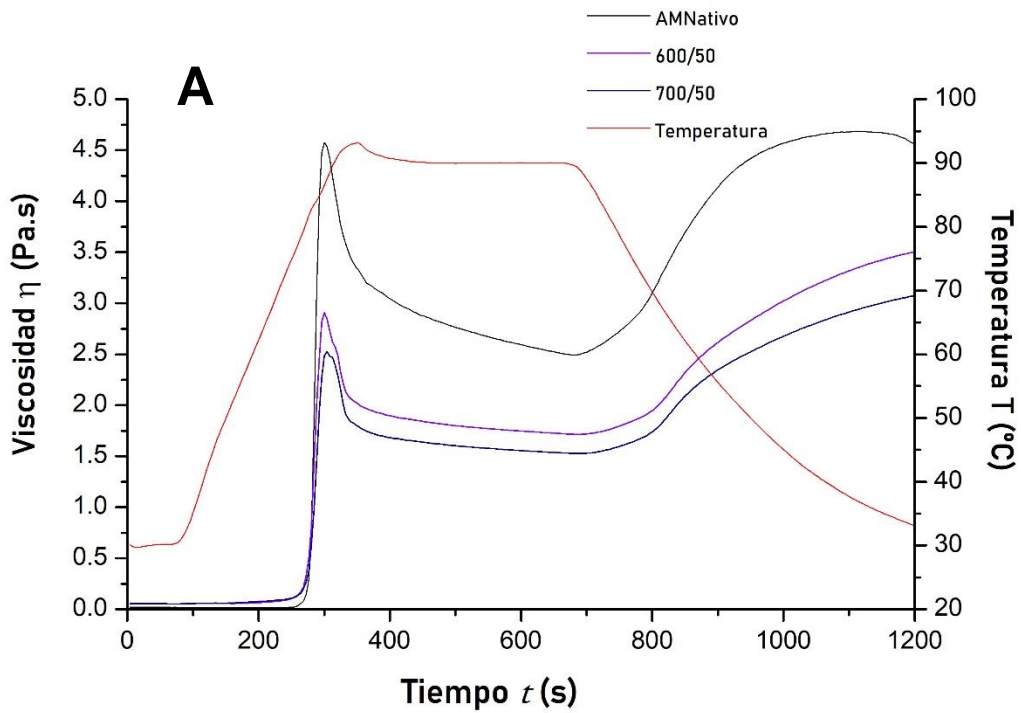


FIGURA 5.1 Perfil de formación de pasta de la dispersión de almidón nativo y de los modificados mediante molienda mecánica.

5.2.2 Análisis Térmico

A continuación, se mostrarán los resultados de la temperatura y entalpía de gelatinización de los almidones de malanga tratados con molienda mecánica.

5.2.2.1 Temperatura y entalpía de gelatinización

La gelatinización del gránulo de almidón es una transición de su estructura semicristalina a una estructura amorfa. Dicha transición se lleva a cabo durante el calentamiento del gránulo de almidón en una solución acuosa. Los parámetros de gelatinización han sido ampliamente estudiados, debido a que las modificaciones en el almidón alteran la estructura granular.

Las temperaturas y entalpías de gelatinización del almidón nativo y los almidones micronizados se muestran en la Tabla 5.5. El almidón nativo presentó temperaturas y entalpías de gelatinización de 81.57 °C y 2.27 J/g, respectivamente. Agama-Acevedo *et al.* (2011) reportaron una temperatura de gelatinización similar (80.6 °C); sin embargo, el valor de la entalpía del almidón fue alto (10.6 J/g) para el almidón de malanga cultivado en México. Así mismo, Jane *et al.*, (1992) y Aprianita *et al.*, (2009) reportaron temperaturas de gelatinización similares (79 °C y 78 °C) con valores de entalpía más altos (14 J/g y 6.28 J/g, respectivamente). Es importante mencionar que la temperatura de gelatinización varía de acuerdo con la fuente del almidón y su tamaño de gránulo (Liu, 2005; Aparicio-Saguilán *et al.*, 2006).

En la Tabla 5.5 se observa que la molienda mecánica disminuyó significativamente la T_p del almidón de malanga comparado con su contraparte nativa. Estos resultados se correlacionan con los picos de viscosidad observados en los almidones modificados, lo cual, refleja la desorganización de las dobles hélices, provocando que gelatinicen a una menor temperatura.

Con lo que respecta a los almidones micronizados, de acuerdo con el MANOVA los parámetros evaluados no tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la temperatura y entalpía de gelatinización. Podría esperarse que la T_p y ΔH_g disminuyera conforme disminuía el porcentaje de Cristalinidad Relativa (Figura 5.4) debido al efecto de la molienda mecánica en la zona cristalina. Sin embargo, los parámetros de gelatinización no son influenciados por la proporción de la región cristalina (amilopectina), sino por la arquitectura molecular de dicha región, es decir, la desorganización de las dobles hélices. (Noda *et al.*, 1998).

Numerosas investigaciones dónde evalúan el impacto de la molienda mecánica sobre las propiedades térmicas, han reportado que a medida que aumenta el tiempo de molienda los valores de los parámetros de DSC disminuyen (Martínez-Bustos *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2008; Roa *et al.*, 2015; González *et al.*, 2018). Es importante mencionar que estos trabajos han realizado sus estudios con tiempos mayores y distintas velocidades de rotación que los estudiados en el presente trabajo.

TABLA 5.5 Temperatura y entalpía de gelatinización de los almidones modificados.

Muestra	Tp (°C)	ΔH_g (J/g)
AN	81.57 \pm 0.09 ^a	2.27 \pm 0.29 ^a
AM 600/50	80.88 \pm 0.04 ^b	1.66 \pm 0.27 ^a
AM 600/70	80.73 \pm 0.10 ^b	1.77 \pm 0.09 ^a
AM 700/50	80.76 \pm 0.07 ^b	1.49 \pm 0.19 ^a
AM 700/70	80.72 \pm 0.02 ^b	1.58 \pm 0.42 ^a

Tp: Temperatura de gelatinización (°C); ΔH : Entalpía de gelatinización (J/g).

Valor promedio de dos repeticiones \pm desviación estándar

Valores en la misma columna y con diferente letra son significativamente diferentes (p<0.05)

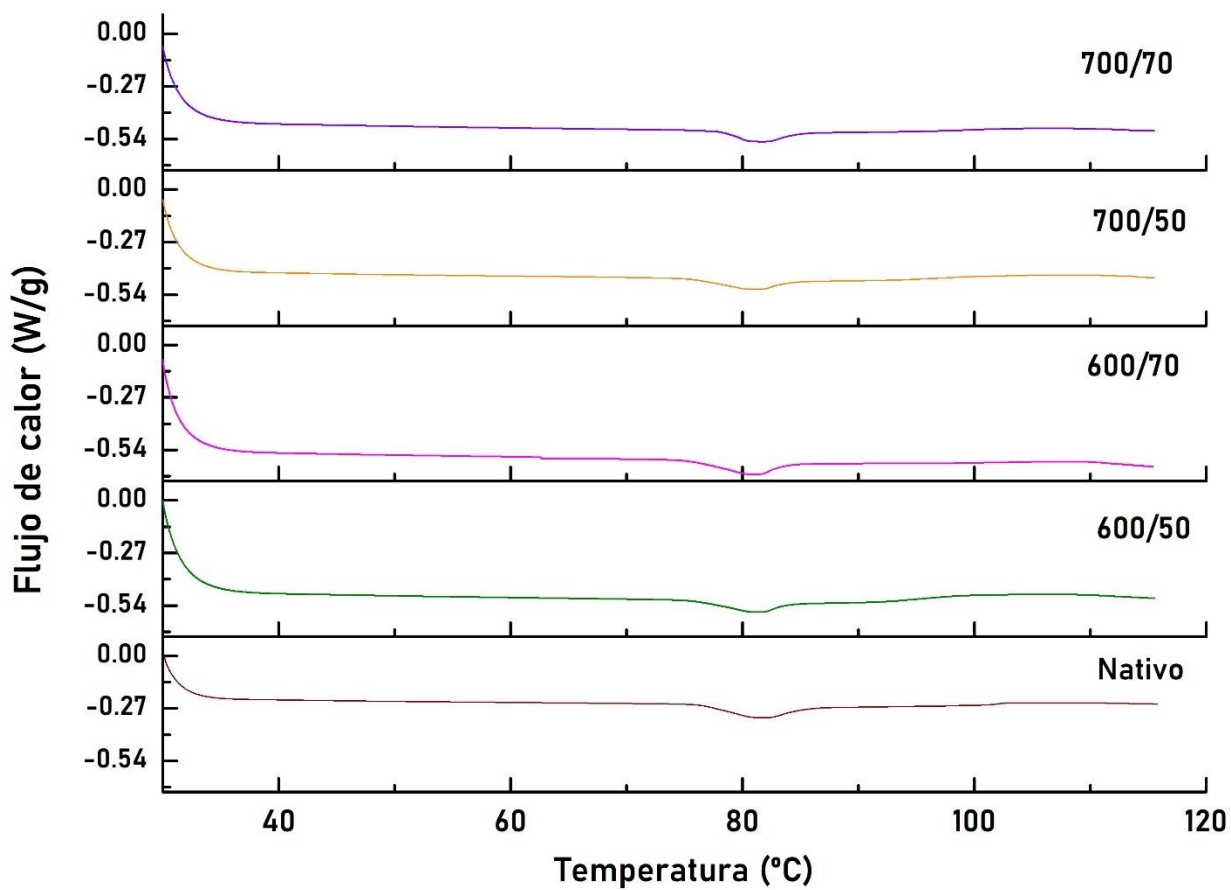


FIGURA 5.2 Termograma del almidón nativo y de los almidones tratados mediante molienda mecánica.

5.2.3 Análisis Morfológico

Se analizó el efecto de la velocidad y tiempo de molienda sobre los parámetros de la distribución de tamaño de partícula y el índice de dispersión (*span*).

5.2.3.1 Distribución de tamaño de partícula

Las distribuciones del tamaño de partícula de las muestras de almidón de malanga obtenidas con diferentes velocidades de rotación y tiempos de molienda se muestran en la Figura 5.3, y las variaciones de los diámetros y el *span* de los almidones de malanga en la Tabla 5.6. El *span* representa el ancho de la distribución de volumen de los gránulos de almidón. Los gránulos de almidón de malanga no tratados se distribuyeron principalmente en el intervalo de 1-24 μm y mostraron una distribución de tamaño multimodal no simétrica. Después del tratamiento de molienda de bolas, se puede observar que la distribución de tamaño de partícula presenta un comportamiento bimodal no simétrico, lo que indica que el índice de dispersión disminuyó. Se infiere que los gránulos de mayor tamaño que presenta el almidón nativo pueden ser aglomerados que a causa de la fuerza mecánica son separados, por lo cual los fragmentos obtenidos se cuentan como gránulos más pequeños.

Con respecto al diámetro medio D_{50} , los parámetros evaluados tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) y oscilaron alrededor de 2.5 μm siendo estadísticamente menores a su contraparte nativa (3.39 μm). Por lo que se refiere al D_{10} , el diámetro presentó un aumento significativo comparado con el almidón nativo. La molienda de bolas causó una reducción significativa ($p < 0.05$) de D_{90} comparado con el almidón nativo. En relación con la dispersión de la población se observó una marcada reducción de los índices de dispersión (*span*) lo cual indica una mayor homogeneidad de los almidones micronizados.

A diferencia del comportamiento observado en el presente trabajo, Liu *et al.*, (2011) y He *et al.*, (2014) reportan un efecto contrario, es decir observan un aumento de D_{50} , conforme aumenta el tiempo de molienda. Ambos estudios se llevaron a cabo con almidón de maíz y es importante mencionar que emplearon alcohol etílico como medio dispersante en la medición de distribución de tamaño de partícula. Del mismo modo, los dos autores explican que el efecto del proceso de molienda de bolas se puede dividir en procesos de molienda y de activación mecánica. Durante el proceso de molienda, los mecanismos mecánicos y de molienda se encuentran en un equilibrio dinámico que depende del tamaño del gránulo durante la transición dura-frágil. Mientras que, durante la activación mecánica, los gránulos de almidón se rompen en partículas más pequeñas que forman aglomerados o se adhieren a la superficie de gránulos

más grandes, a consecuencia de ello, los gránulos de almidón se transforman de “frágiles” a “duros”, lo cual conlleva a un aumento general del tamaño de partícula.

TABLA 5.6 Distribución de tamaño de partícula e índice de dispersión de los almidones modificados mediante moliendo mecánica.

Muestra	D ₁₀ (μm)	D ₅₀ (μm)	D ₉₀ (μm)	span
AN	1.03 ^a	3.39 ^a	24.76 ^a	6.98 ^a
AM 600/50	1.00 ^b	2.43 ^d	6.57 ^b	2.28 ^{b,c}
AM 600/70	1.12 ^c	2.68 ^{b,c}	7.02 ^b	2.20 ^{b,c}
AM 700/50	1.12 ^c	2.74 ^b	8.13 ^b	2.55 ^b
AM 700/70	1.11 ^c	2.56 ^{c,d}	6.45 ^b	2.08 ^c

Valor promedio de tres repeticiones ± desviación estándar

Valores en la misma columna y con diferente letra son significativamente diferentes (p<0.05)

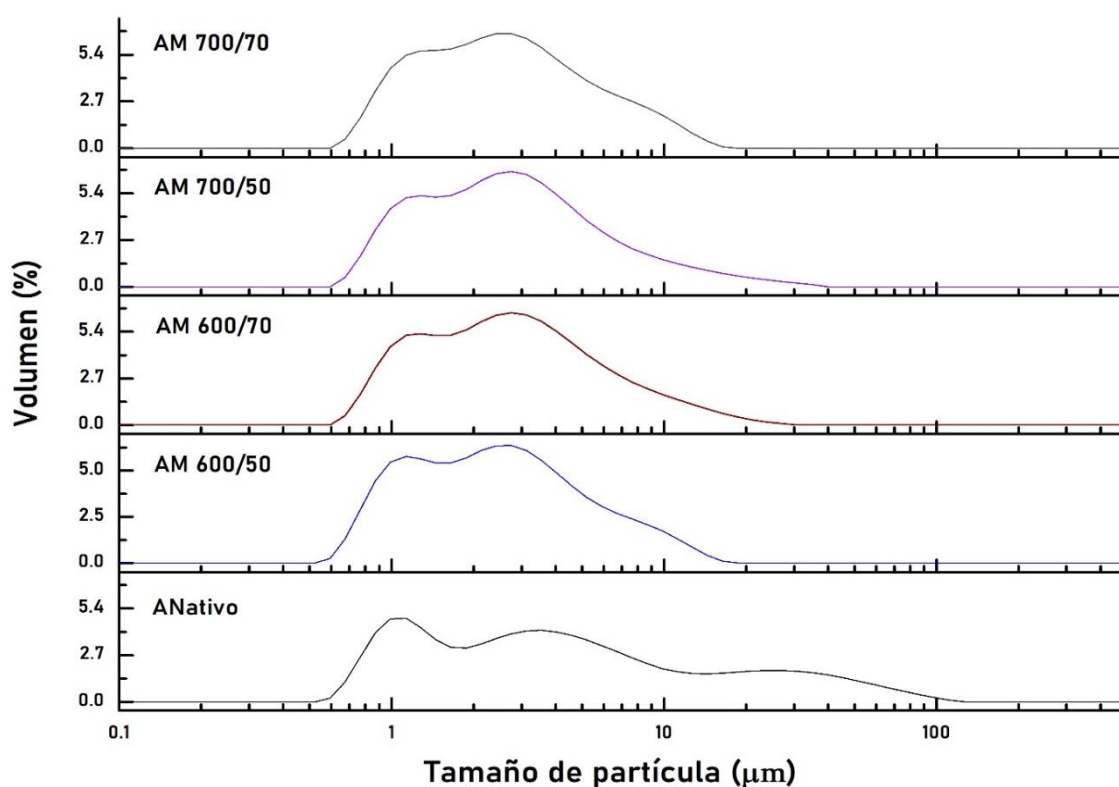


FIGURA 5.3 Distribución de tamaño de gránulo del almidón de malanga nativo y de los modificados mediante molienda mecánica.

5.2.4 Análisis Estructural

Diversos autores (Liu *et al.*, 2011; He *et al.*, 2014) han realizado estudios estructurales para evaluar el efecto de la molienda mecánica sobre la cristalinidad del almidón.

5.2.4.1 Difracción de rayos X

El patrón de difracción de rayos X del almidón de malanga nativo y los tratados con molienda mecánica se muestran en la Figura 5.4. El almidón de malanga nativo muestra un patrón de difracción de tipo A, el cual se caracteriza por la presencia de picos de mayor intensidad de difracción para los ángulos $2\theta = 15^\circ$, 23° y picos de doblete a 17° y 18° . Este patrón también ha sido reportado por Jane *et al.*, (1992) y Agama-Acevedo *et al.*, (2011).

El conocimiento del patrón de difracción de rayos X nos proporciona información del ordenamiento de las dobles hélices de la amilopeptina, la cual es responsable de la cristalinidad del gránulo de almidón (Yoo & Jane, 2002).

Las cristalinidades relativas de los almidones micronizados se muestran en Figura 5.4. De acuerdo con el MANOVA, sólo el parámetro de velocidad giratoria presentó un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la cristalinidad relativa de los almidones de malanga micronizados. De manera general, conforme la velocidad de rotación (600-700 rpm) aumentaba, la cristalinidad relativa de las muestras disminuía significativamente. Estos resultados explican la degradación de la región cristalina de los almidones, en consecuencia, un aumento de áreas amorfas, tendencia que puede observarse en la Tabla 5.4 del contenido de amilosa.

Liu *et al.*, (2011) concluyeron que las muestras micronizadas pierden la estructura cristalina debido a la alta energía empleada durante la molienda de bolas. Es decir que los enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares en el almidón se rompieron debido a la fuerza mecánica, lo que resultó en la destrucción parcial de la estructura cristalina, lo cual es consistente con el perfil de formación de pasta.

En la Figura 5.4 se puede observar las diferencias significativas entre los niveles del factor “velocidad de rotación”, en contraste con los tiempos de molienda en donde no se observó un impacto significativo. Es decir, con el tratamiento de 700 rpm y 50 min, obtenemos % de cristalinidad relativa semejante que con un tiempo de molienda de 70 min.

Liu *et al.*, (2018), reportó una cristalinidad relativa para el almidón de malanga nativo de 29.77 %, la cual después de 5 h de molienda a 420 rpm disminuyó a 5.33 %. En otro estudio realizado por Moraes *et al.*, (2013) se evaluó la cristalinidad del almidón de yuca tratado

mediante molienda mecánica, en el cual se observó que las muestras presentaban picos cristalinos a las 4 h de molienda. Requiriendo un tiempo de 32 h para obtener un patrón más amorfo (de 34.66 % a 19.78 %). El autor menciona que almidones con un bajo contenido de amilosa se dañan más fácilmente, dado que la amilosa crea un efecto protector sobre los gránulos, reduciendo el impacto en las regiones cristalinas, es por ello que se requirió un mayor tiempo de molienda para obtener almidones menos cristalinos.

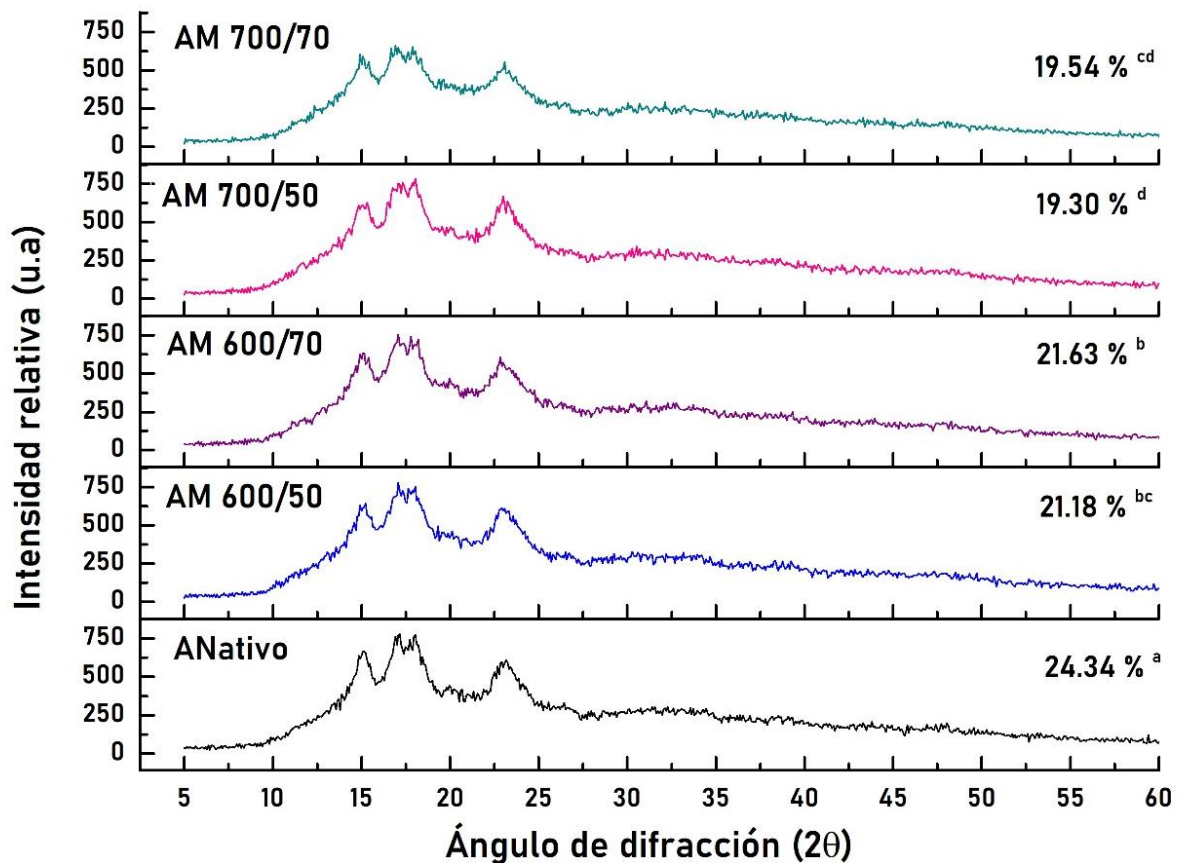


FIGURA 5.4 Patrones de difracción de rayos X de los almidones tratados mediante molienda mecánica.

5.3 Efecto del entrecruzamiento del almidón de malanga micronizado

De acuerdo con los resultados obtenidos, se decidió utilizar el tratamiento de 700 rpm y 50 min, ya que permitió obtener un material con menor cristalinidad, mayor homogeneidad de diámetro de partícula, y un mayor porcentaje de amilosa, lo cual favorecerá la reacción de entrecruzamiento

5.3.1 Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)

Se utilizó la espectroscopia infrarroja para estudiar los cambios en la estructura química de las moléculas de almidón resultantes de la modificación dual.

Primeramente, es necesario recordar que los espectros del almidón tienen dos regiones importantes para la caracterización de las bandas clave: 500-1500 cm^{-1} , región huella dactilar; 1500-3000, región de estiramiento de CH.

El espectro FTIR del almidón nativo (Figura 5.5) muestra las señales características de las moléculas del almidón. En todos los espectros del almidón se observó una banda extremadamente ancha aproximadamente en 3000 cm^{-1} que se asocia a la vibración de estiramiento de los grupos hidroxilo. La banda de 2931 cm^{-1} representa la vibración de estiramiento del enlace carbono-hidrógeno ($-\text{CH}_2$). La banda observada a 1644 cm^{-1} se asocia al agua absorbida en la región amorfa de los gránulos de almidón. La banda de 1417 cm^{-1} fue causada por el modo de flexión en tijera de CH_2 ; la banda de infrarrojo en los 1344 cm^{-1} se origina por los modos de flexión de CH_2 y la banda de 929 cm^{-1} es atribuida a los enlaces glucosídicos en los almidones. Como se muestra en la Figura 5.7 AB, AME y AMD comparten las mismas bandas de la huella dactilar.

El espectro de absorción infrarroja de los agentes entrecruzantes se muestra en la Figura 5.6. Se identificaron las bandas características de estos compuestos, observándose que los grupos funcionales se encuentran dentro de la zona de huella digital del almidón.

De acuerdo con la estructura química de STMP, STPP y la vibración de estiramiento de los compuestos de éster de fosfato, existe una banda de absorción para P-O-C a 810 cm^{-1} , este pico no fue observado en los espectros de las muestras de almidón modificado, dada la sensibilidad del equipo y la concentración tan baja de agente entrecruzante resultó difícil observarlos, probablemente porque las señales quedan inmersas y se traslapan con las señales del almidón de la zona de huella digital. Estos resultados concuerdan con los trabajos

reportados por Gao *et al.*, (2014) y Xie *et al.*, (2019) en estudios de almidón de maíz y trigo entrecruzados, respectivamente. No obstante, Tharanathan, (2005) informa que un grado reducido de entrecruzamiento, es suficiente para efectuar cambios significativos en las propiedades y funcionalidad del almidón.

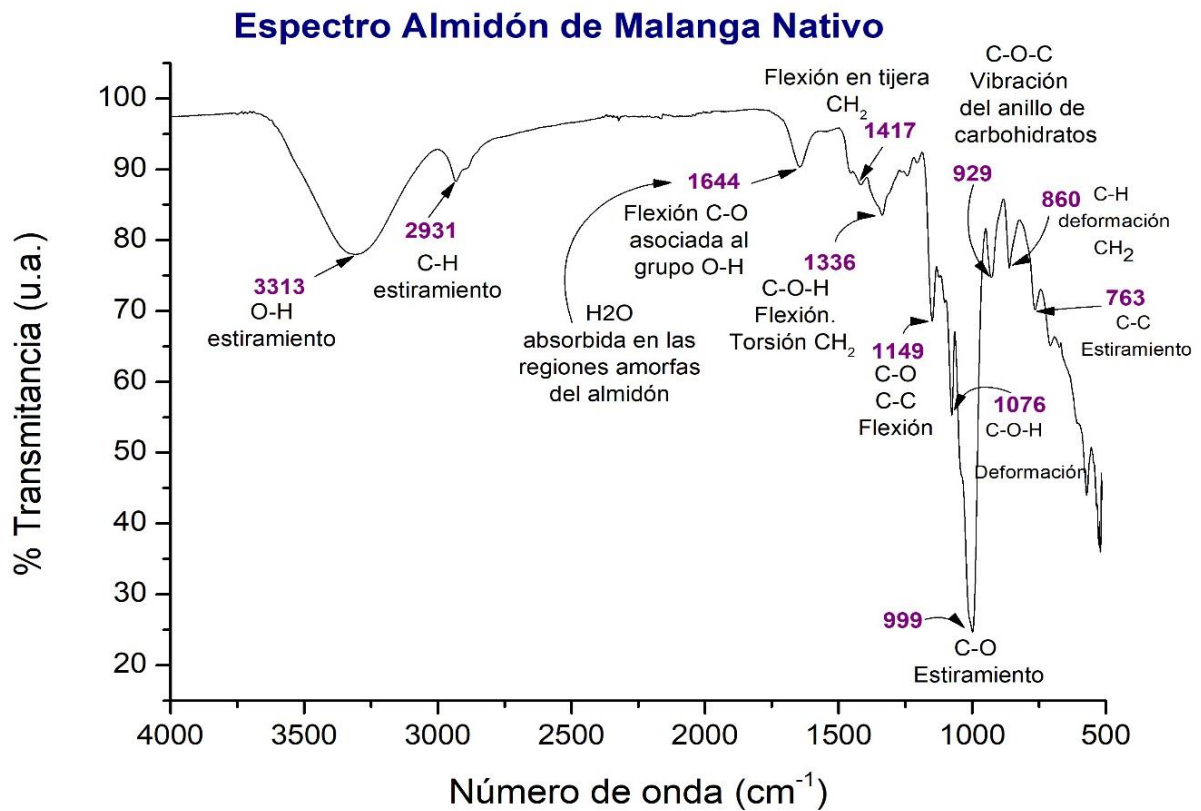


FIGURA 5.5 Espectro FT-IR del almidón de malanga nativo

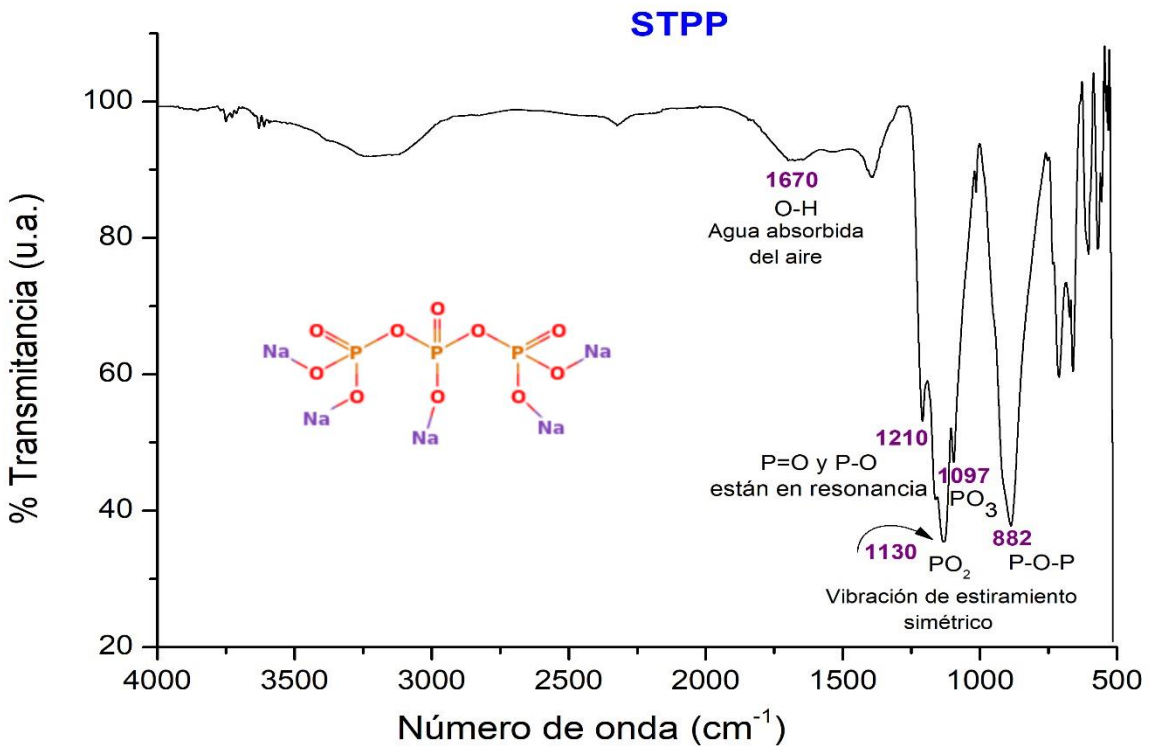
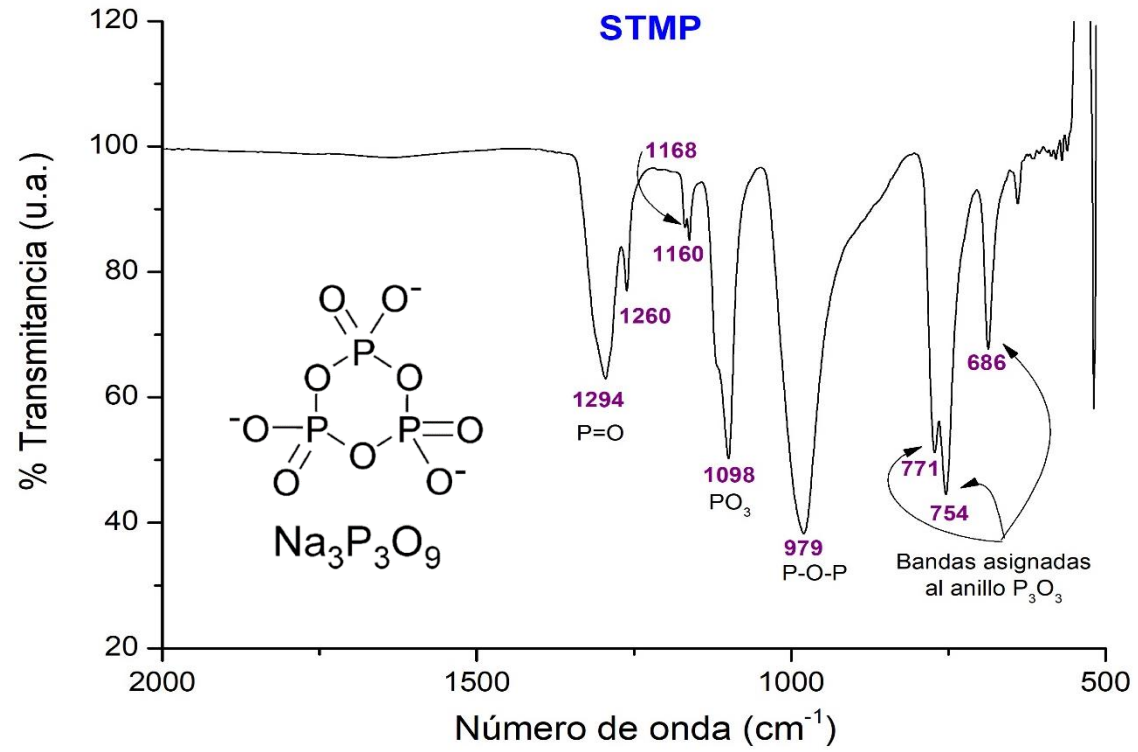


FIGURA 5.6 Espectros FTIR de los agentes entrecruzantes empleados.

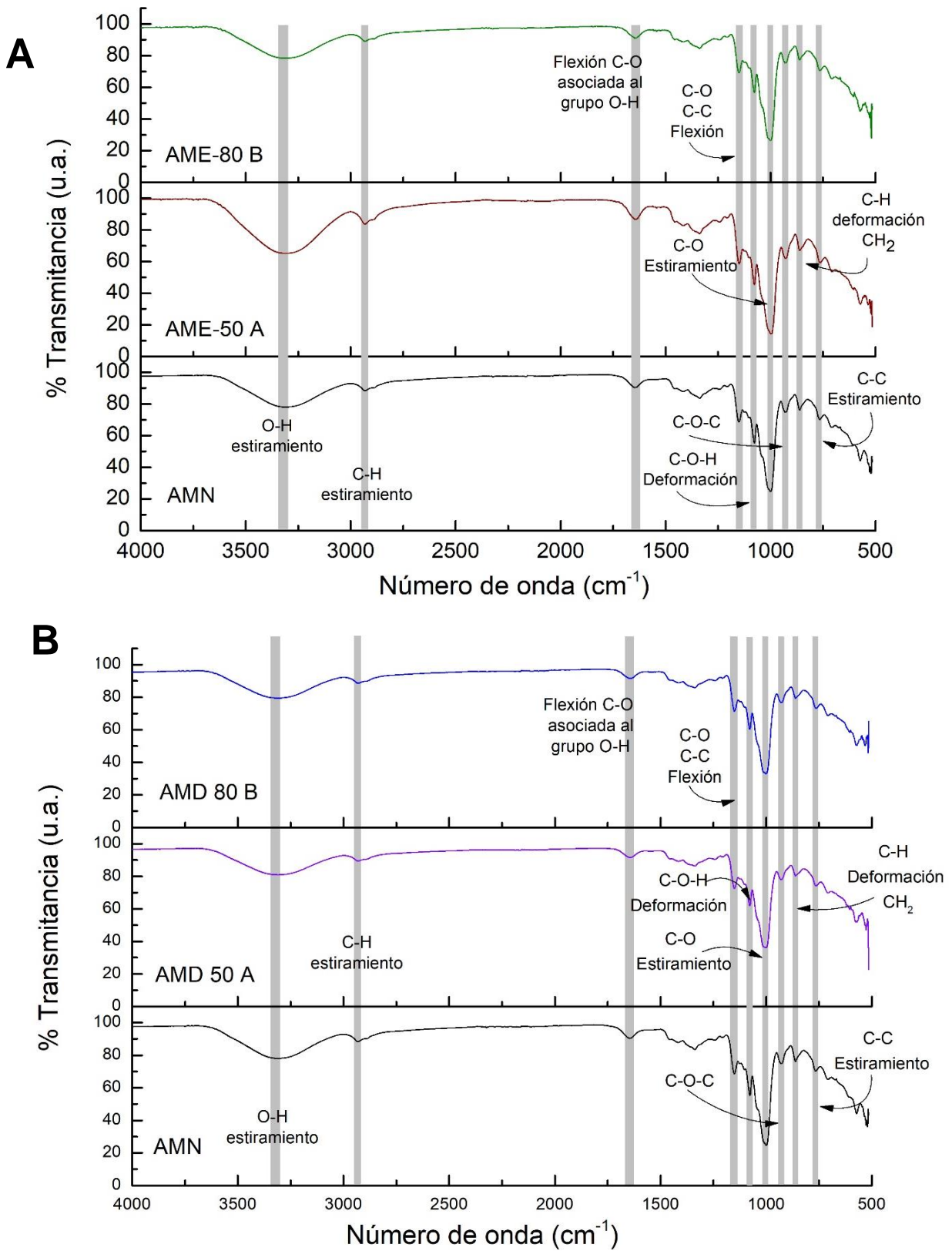


Figura 5.7 Espectros FTIR del almidón de malanga entrecruzados (A) y los almidones modificados dual (B)

5.3.2 Perfil de formación de pasta

Los perfiles de formación de pasta de los almidones entrecruzados (AME) y almidones modificados dual (AMD) con diferentes proporciones de agente entrecruzante se muestran en la Figura 5.8. Los almidones modificados dual exhibieron un pico de viscosidad máxima superior al almidón nativo y al almidón entrecruzado, siendo la solución de AMD con 80:20 (STPP:STMP) el que presentó la mayor viscosidad (Tabla 5.8). Esto puede ser atribuido a que el STPP genera monoésteres fosforilados de almidón, los cuales debido a su carga negativa causan repulsión entre las cadenas y reducen la formación de enlaces de hidrógeno entre las moléculas adyacentes. Permitiendo una extensa penetración de agua e hidratación de gránulos de almidón, lo que resulta en una menor temperatura de gelatinización, mayor hinchamiento y una viscosidad de pico mayor (Wei *et al.*, 2011).

El mismo comportamiento puede observarse en el tratamiento 50:50 (STMP:STPP). El agente entrecruzante STMP da lugar a un fosfato de dialmidón formándose cuando dos grupos hidroxilo de dos subunidades de glucosa se unen al mismo grupo fosfato, lo cual refuerza la unión entre cadenas e inhibe el hinchamiento de los gránulos (Hirsch & Kokini, 2002; Singh *et al.*, 2007). Algunos estudios de investigación han demostrado que un ligero entrecruzamiento con niveles bajos del reactivo puede aumentar el hinchamiento de los gránulos de almidón y la viscosidad máxima durante el calentamiento en exceso de agua (Miranda & Teixeira, 2017; Dong & Vasanthan, 2020). Landerito & Wang, (2005) también observaron la tendencia de aumento de la viscosidad de pico en las muestras tratadas con STPP y STMP.

Cabe mencionar, que el pico de viscosidad máxima se obtiene como respuesta del torque en el reómetro, debido al hinchamiento máximo de los almidones, es decir, cuanto más se hinchen los gránulos, mayor será el valor en el pico de viscosidad.

En la etapa de enfriamiento ocurre una reorganización entre las moléculas del almidón, principalmente la amilosa, ya que se ordena en forma paralela conformando un gel. Los almidones modificados presentaron valores de viscosidad mayores a los obtenidos por el almidón nativo, lo cual puede deberse al que los fosfatos enlazados aumentaron el número de moléculas solubles reorganizadas, generando un aumento de viscosidad (Tharanathan, 2005).

TABLA 5.7 Viscosidad máxima de los almidones entrecruzados y modificado dual.

Muestra	Viscosidad máxima (Pa.s)
AN	4.48 ± 0.12^{bc}
AME 50	4.92 ± 0.09^{abc}
AME 80	4.41 ± 0.03^c
AMD 50	5.35 ± 0.30^{ab}
AMD 80	5.62 ± 0.39^a

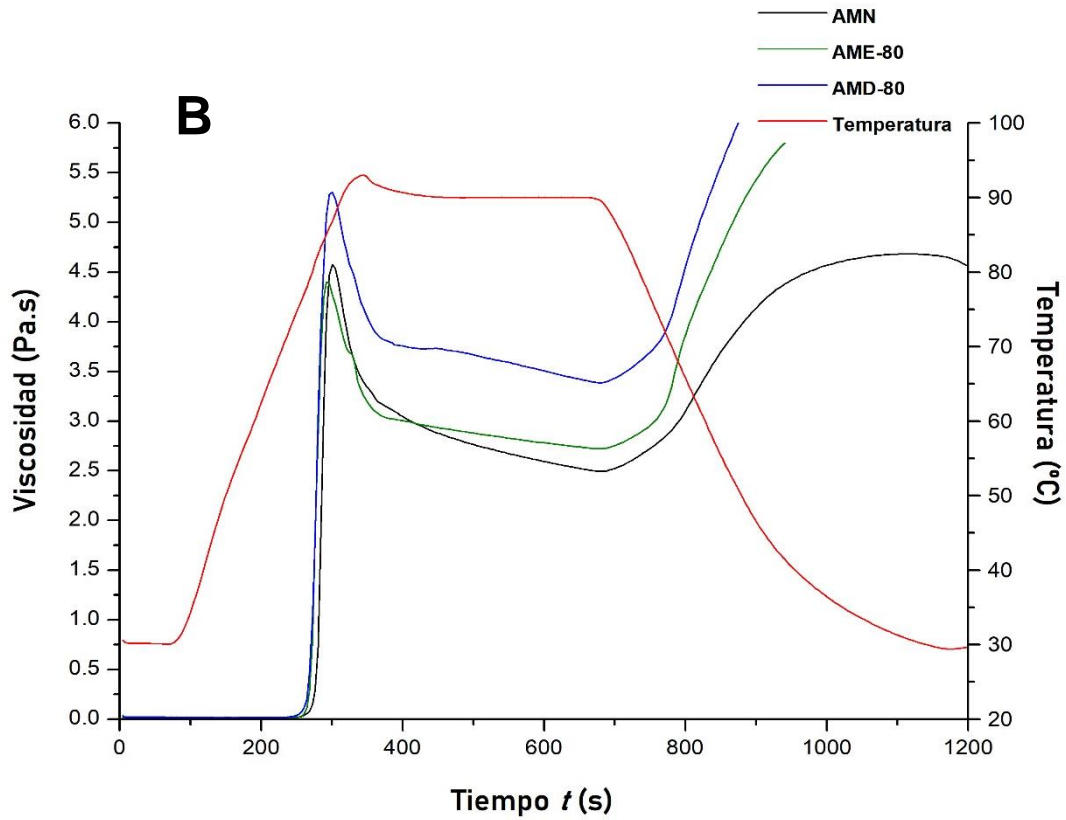
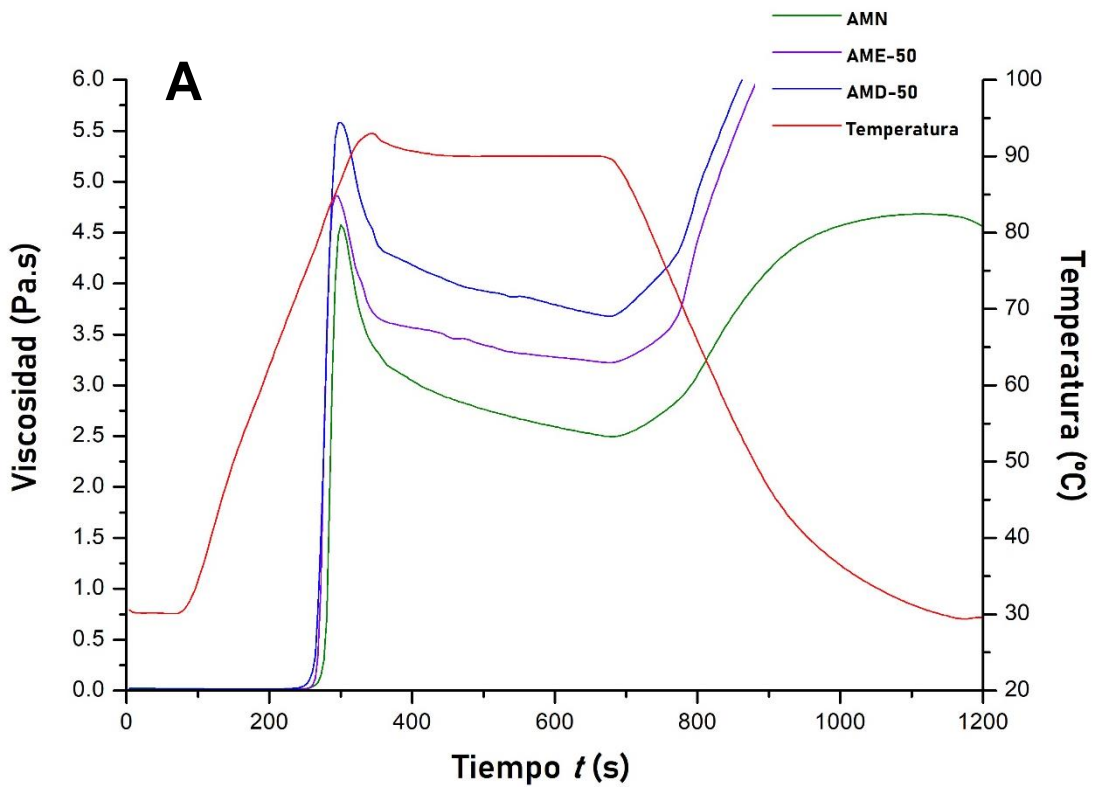


FIGURA 5.8 Perfil de formación de pasta de los almidones entrecruzados y modificados dual con diferentes proporciones de agente entrecruzante 50:50 A) y 80:20 B) STPP:STMP.

5.3.3 Difracción de rayos X

Los difractogramas y las cristalinidades relativas de los almidones modificados se muestran en Figura 5.9. El análisis estadístico de los datos mostró un efecto significativo de la modificación dual sobre la cristalinidad relativa del almidón de malanga. La disminución en las cristalinidades relativas del almidón de malanga entrecruzado demuestra que la modificación química afectó la estructura cristalina del almidón.

Se observó que los picos de difracción a 16° y 17° (2θ) de AMD empezaron a fusionarse en un solo pico, siendo más notable en la muestra AMD-80, reflejando la disminución de la cristalinidad, indicando que la acción de entrecruzamiento pudo llevarse a cabo en cadenas de amilopectina, interrumpiendo la cristalinidad del almidón. Estos resultados fueron consistentes con los estudios de Gao *et al.*, (2014) y Xie *et al.*, (2019) quienes observaron la tendencia de los picos a fusionarse, ambos estudios emplearon sólo STMP como agente entrecruzante. Por otro lado, Miranda & Teixeira, (2017), observaron la supresión de picos de difracción 15° , 17° y 23° en almidones fosforilados con STMP y STPP, atribuyendo esta característica a la distribución aleatoria de los fosfatos y al medio alcalino en el que se desarrolla la reacción provocando un posible reordenamiento estructural.

Comparando la cristalinidad relativa del almidón de malanga entrecruzado (AME) y los dualmente modificados (AMD) se aprecia una disminución significativa de la cristalinidad cuando se lleva a cabo la modificación dual, indicando que el tratamiento de molienda de bolas mejora la eficacia de entrecruzamiento del almidón. En este sentido, Zhang *et al.*, (2015) sugirieron que una mejor actividad de reacción del almidón micronizado puede deberse a la estructura cristalina dañada, lo cual promueve la penetración de los agentes entrecruzantes.

Por otro lado, Koo *et al.*, (2010), Liu *et al.*, (2014) y Páramo-Calderón *et al.*, (2015) no observaron diferencias entre los patrones de difracción de los almidones estudiados, sugiriendo que el entrecruzamiento tuvo lugar principalmente en las regiones amorfas del gránulo de almidón.

Los diferentes comportamientos en el patrón cristalino del almidón pueden deberse a los diferentes niveles entrecruzamiento, así como también a las diferentes fuentes botánicas de almidón.

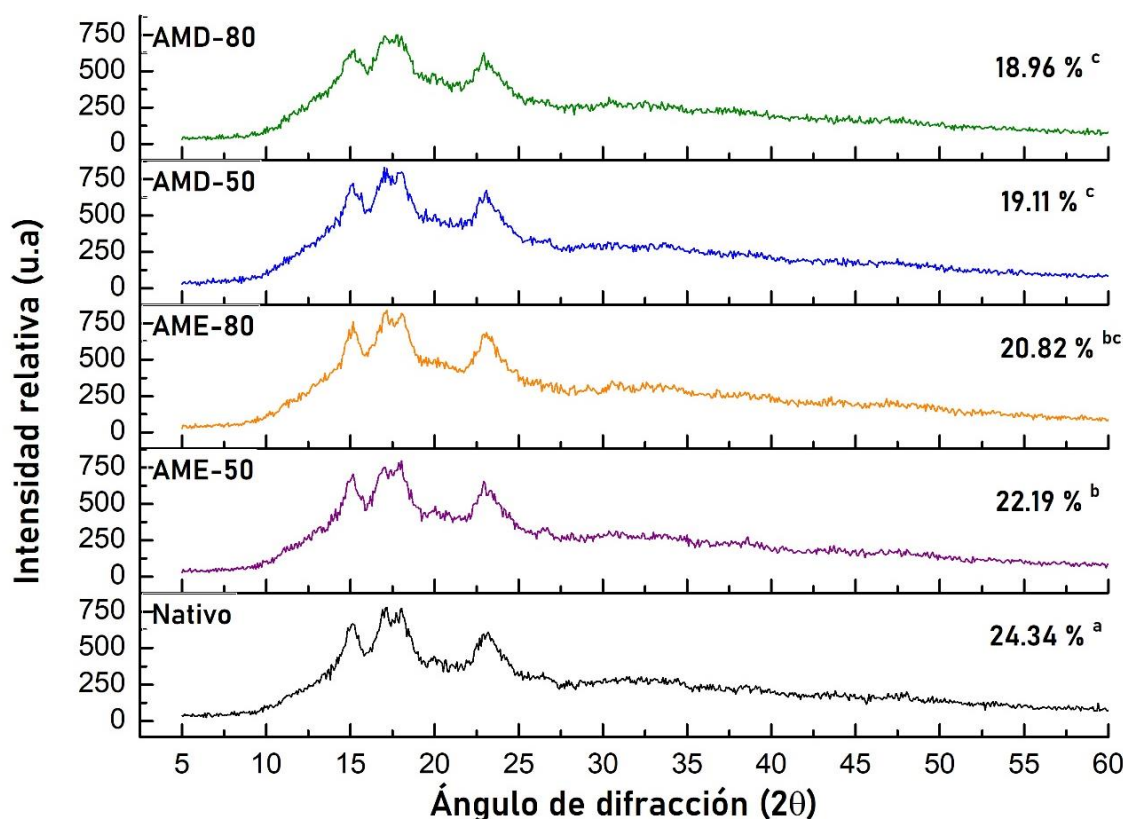


FIGURA 5.9 Patrones de difracción de rayos X de los almidones entrecruzados y modificados dualmente.

5.3.4 Temperatura y entalpía de gelatinización

La Tabla 5.9 muestra los parámetros térmicos de gelatinización determinados por DSC del almidón de malanga nativo, almidón entrecruzado y almidón modificado dual. En la Figura 5.10 se observan los termogramas.

De acuerdo con el ANOVA, el entrecruzamiento tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la temperatura y entalpía de gelatinización. Con lo que respecta a la temperatura de gelatinización los almidones modificados (AME y AMD) mostraron una ligera disminución. Generalmente los almidones entrecruzados con STMP/STPP (99:1) muestran T_p más elevadas que su contraparte nativa, debido a la formación de enlaces fosfodiéster en el almidón, los cuáles refuerzan la estructura y permiten que la gelatinización se lleve a cabo a

temperaturas más elevadas (Chatakanonda *et al.*, 2000; Chung *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2014). Sin embargo, en el presente trabajo no se observa tal aumento, lo cual sugiere que la reacción de fosfatización dio lugar a la formación de almidón monodiestéster, concordando con los resultados del perfil de formación de pasta. Landerito & Wang, (2005) mencionan que, la fuerza repulsiva de los grupos fosfato cargados negativamente y el impedimento estérico desestabilizan la estructura del almidón, por lo que los almidones fosforilados facilitan la gelatinización a temperaturas menores.

Con respecto a la entalpía de gelatinización, se observó un ligero aumento para las AME, siendo significativo para la AME-80. Un valor de ΔH mayor, indica que se requiere una mayor cantidad de energía para llevar a cabo la gelatinización, lo cual puede relacionarse con los resultados de cristalinidad relativa, sugiriendo que estos almidones presentan una estructura más ordenada que los AMD.

TABLA 5.8 Temperatura y entalpía de gelatinización de los almidones entrecruzados y modificados dual.

Muestra	Tp (°C)	ΔH_g (J/g)
AN	81.57 \pm 0.09 ^a	2.38 \pm 0.12 ^b
AME-50	79.73 \pm 0.12 ^b	2.66 \pm 0.07 ^b
AME-80	79.82 \pm 0.04 ^b	3.81 \pm 0.12 ^a
AMD-50	79.36 \pm 0.32 ^{bc}	1.84 \pm 0.09 ^c
AMD-80	79.02 \pm 0.14 ^c	1.50 \pm 0.03 ^c

Tp: Temperatura de gelatinización (°C); ΔH : Entalpía de gelatinización (J/g).

Valor promedio de dos repeticiones \pm desviación estándar

Valores en la misma columna y con diferente letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Liu *et al.*, (1999) y Landerito & Wang, (2005) mencionan que la fosforilación reduce la estabilidad de la estructura del almidón al inhibir la formación de dobles hélices, reduciendo así la energía requerida para la transición estructural en la gelatinización, lo cual explica los bajos valores presentados por AMD y esto se relaciona con los menores índices de cristalinidad determinadas. A pesar de que los valores de ΔH de AMD son menores, estos presentan similitud con la ΔH del almidón micronizado AM 700/50 (1.49 J/g, Tabla 5.5)., empleado para la modificación dual.

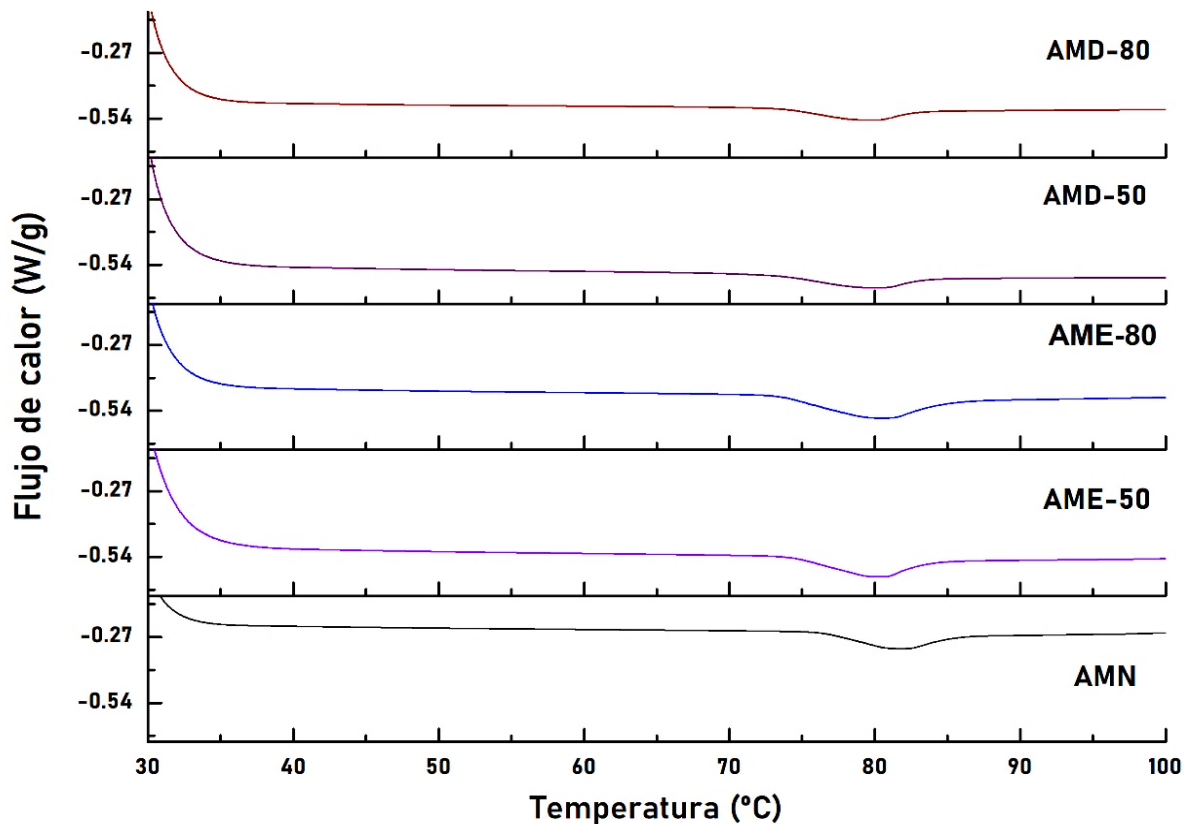


FIGURA 5.10 Termograma de los almidones entrecruzados (AME) y los almidones modificados dual (AMD) con distintas proporciones de agentes entrecruzantes.

6 CONCLUSIONES

El tiempo de molienda y la velocidad de rotación mostraron efecto significativo ($p < 0.05$) sobre las propiedades fisicoquímicas y el diámetro medio de partícula, a excepción de la viscosidad máxima de las soluciones de almidón modificado de malanga.

Los parámetros evaluados no tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre las propiedades térmicas y sólo la velocidad giratoria afectó significativamente ($p < 0.05$) el índice de cristalinidad relativa del almidón de malanga modificado.

Las diferentes proporciones de agentes entrecruzantes evaluadas no mostraron un efecto significativo ($p < 0.05$) en los resultados de espectroscopía de infrarrojo, debido a la reducida concentración de STMP/STPP. Por otro lado, el índice de cristalinidad relativa, los parámetros térmicos y la viscosidad máxima de las soluciones de almidón de malanga dualmente modificado mostraron efecto significativo. Lo cual muestra evidencia que el tratamiento con molienda mecánica facilita la incorporación de los reactivos empleados en el entrecruzamiento a la estructura del almidón.

7 PERSPECTIVAS

De acuerdo a lo observado en el presente trabajo, se recomiendan los siguientes estudios:

- ❖ Realizar un estudio complementario evaluando tiempos prolongados de molienda mecánica con la finalidad de conocer la relación entre el efecto de la cristalinidad del almidón con la eficiencia de encapsulación

- ❖ Obtener isotermas de adsorción para conocer el comportamiento de los almidones modificados en diferentes condiciones de humedad relativa de equilibrio.

- ❖ Ensayar diferentes condiciones de operación del proceso de secado por aspersion para evaluar el almidón de malanga modificado como material de pared

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta-Osorio, A. A., Herrera-Ruiz, G., Martínez-Bustos, F., Gaytán, M., Cornejo-Villegas, M. de los A., & Rodríguez-García, M. E. (2011). Analysis of the Apparent Viscosity of Starch in Aqueous Suspension within Agitation and Temperature by Using Rapid Visco Analyzer System. *Mechanical Engineering Research*, 1(1), 110–124.
- Agama-Acevedo, E., Garcia-Suarez, F. J., Gutierrez-Meraz, F., Sanchez-Rivera, M. M., San Martin, E., & Bello-Pérez, L. A. (2011). Isolation and partial characterization of Mexican taro (*Colocasia esculenta* L.) starch. *Starch/Staerke*, 63(3), 139–146.
- Alam, F., & Hasnain, A. (2009). Studies on Swelling and Solubility of Modified Starch from Taro (*Colocasia esculenta*): Effect of pH and Temperature. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 74(1), 45–50.
- Albano, K. M., Franco, C. M. L., & Telis, V. R. N. (2014). "Rheological behavior of Peruvian carrot starch gels as affected by temperature and concentration. *Food Hydrocolloids*, 40, 30–43.
- Antonio-Estrada, C., Bello-Pérez, L. A., Martínez-Sánchez, C. E., Montañez-Soto, J. L., Jiménez-Hernández, J., & Vivar-Vera, M. A. (2009). Enzymatic production of maltodextrins from taro (*Colocasia esculenta*) starch. *CYTA - Journal of Food*, 7(3), 233–241.
- Aparicio-Saguilán, A., Méndez-Montealvo, G., Solorza-feria, J., & Bello-Pérez, L. A. (2006). Thermal and viscoelastic properties of starch gels from maize varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 1078–1086.
- Aprianita, A., Purwandari, U., Watson, B., & Vasiljevic, T. (2009). Physico-chemical properties of flours and starches from selected commercial tubers available in Australia. *International Food Research Journal*, 16(4), 507–520.
- Arai, S., Oosawa, J., & Sakamoto, K. (1989). *Manufacture of gelatinized starch particles*. (Abstr.).
- Asmeda, R., Noorlaila, A., & Norziah, M. H. (2016). Relationships of damaged starch granules and particle size distribution with pasting and thermal profiles of milled MR263 rice flour. *Food Chemistry*, 191, 45–51.
- Atwell, W. A., Hood, L., Lineback, D. R., Varriano-Marston, E., & Zohel, H. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomenon. *Cereal Foods World*, 33, 306–311.
- Barichello, V., Yada, R., Coffin, R., & Stanley, D. W. (1990). Low-temperature sweetening in susceptible and resistant potatoes - starch structure and composition. *Journal of Food Science*, 55, 1054–1059.
- Becerril, M. T., Carmona, R. G., & Aguirre, A. C. (2015). Obtención y caracterización estructural y funcional de almidón acetilado de malanga (*Colocasia esculenta* Schott). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6, 905–912.
- Bello-Pérez., L. A. (1995). *Amilopeptina: Caracterización molecular y funcional*. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato, Guanajuato, México.
- Bello-Pérez, L. A., Méndez-Montealvo, G., & Solorza-Feria, J. (2002). Estructura molecular de almidones. In *Memorias de investigación*. México.
- Bemiller, J. N., & Lafayette, W. (1997). Starch Modification : Challenges and Prospects *. *Starch/Stärke*, 49(4), 127–131.
- Biliaderis, C. G. (1991). The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 69, 60–78.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. (1998). Starch granules: Structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 23(2), 85–112.
- Cavallini, C. M., & Franco, C. M. L. (2010). Effect of acid-ethanol treatment followed by ball milling on structural and physicochemical characteristics of cassava starch. *Starch/Staerke*, 62(5), 236–245.

- CFR (Code of Federal Regulation). (2018). Food starch modified. In *Food Additives Permitted in Food for Human Consumption, 21/1/172/172.892*. Washington, USA.
- Chatakanonda, P., Varavinit, S., & Chinachoti, P. (2000). Relationship of Gelatinization and Recrystallization of Cross-Linked Rice to Glass Transition Temperature. *Cereal Chemistry*, *77*(3), 315–319.
- Chávez-Murillo, C. E., Wang, Y. J., & Bello-Pérez, L. A. (2008). Morphological, physicochemical and structural characteristics of oxidized barley and corn starches. *Starch/Stärke*, *60*, 634–645.
- Chung, H. J., Woo, K. S., & Lim, S. T. (2004). Glass transition and enthalpy relaxation of cross-linked corn starches. *Carbohydrate Polymers*, *55*, 9–15.
- Cooke, D., & Gidley, M. J. (1992). Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition. *Carbohydrate Research*, *227*, 103–112.
- Curá, J. A., Jansson, P. E., & Krisman, C. R. (1995). Amylose is not strictly linear. *Starch-Stärke*, *47*(6), 207–209.
- Dai, L., Li, C., Zhang, J., & Cheng, F. (2018). Preparation and characterization of starch nanocrystals combining ball milling with acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, *180*, 122–127.
- Daniel, J. R., & Whistler, R. I. (1990). Fatty sensory qualities of polysaccharides. *Cereal Foods World*, *35*, 825.
- Dong, H., & Vasanthan, T. (2020). Effect of phosphorylation techniques on structural, thermal, and pasting properties of pulse starches in comparison with corn starch. *Food Hydrocolloids*, Article in press.
- El-Eskandarany, M. S. (2015). Controlling the powder milling process. In *Mechanical Alloying (Second Edition)* (Segunda ed, pp. 48–83). William Andrew.
- Fannon, J. E., Hauber, R. J., & BeMiller, J. N. (1992). Surface pores of starch granules. *Cereal Chemistry*, *69*, 284–288.
- FAO/WHO. (1997). Modified starches. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/w6355e/w6355e0o.htm>
- Fitzgerald, M. A., Bergman, C. J., Resurreccion, A. P., Möller, J., Jimenez, R., Reinke, R. F., ... Xie, L. (2009). Addressing the Dilemmas of Measuring Amylose in Rice. *Cereal Chem.*, *86*(5), 492–498.
- French, D. (1984). Organization of starch granules. In R. L. Whistler, J. N. BeMiller, & E. F. Paschall (Eds.), *Starch: chemistry and technology*. Orlando, Florida U.S.A.: Academic Press.
- Gao, F., Li, D., Bi, C. H., Mao, Z. H., & Adhikari, B. (2014). Preparation and characterization of starch crosslinked with sodium trimetaphosphate and hydrolyzed by enzymes. *Carbohydrate Polymers*, *103*(1), 310–318.
- Gonzalez-Soto, R. A., De la Vega, B., García-Suarez, F. J., Agama-Acevedo, E., & Bello-Pérez, L. A. (2011). Preparation of spherical aggregates of taro starch granules. *LWT - Food Science and Technology*, *44*(10), 2064–2069.
- González, L. C., Loubes, M. A., & Tolaba, M. P. (2018). Incidence of milling energy on dry-milling attributes of rice starch modified by planetary ball milling. *Food Hydrocolloids*, *82*, 155–163.
- Han, J. A., & BeMiller, J. N. (2008). Effects of protein on crosslinking of normal maize, waxy maize, and potato starches. *Carbohydrate Polymers*, *73*(4), 532–540.
- Hazarika, B. J., & Sit, N. (2016). Effect of dual modification with hydroxypropylation and cross-linking on physicochemical properties of taro starch. *Carbohydrate Polymers*, *140*, 269–278. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.055>
- He, H., Hong, Y., Gu, Z., Liu, G., Cheng, L., & Li, Z. (2016). Improved stability and controlled release of CLA with spray-dried microcapsules of OSA-modified starch and xanthan gum. *Carbohydrate Polymers*, *147*, 243–250.

- He, S., Qin, Y., Walid, E., Li, L., Cui, J., & Ma, Y. (2014). Effect of ball-milling on the physicochemical properties of maize starch. *Biotechnology Reports*, 3, 54–59. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.06.004>
- Hirsch, J. B., & Kokini, J. L. (2002). Understanding the Mechanism of Cross-Linking Agents (POCl₃, STMP, and EPI) Through Swelling Behavior and Pasting Properties of Cross-Linked Waxy Maize Starches. *Cereal Chemistry*, 79(1), 102–107.
- Hoover, R. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 45(3), 253–267. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00260-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00260-5)
- Hoover, R., & Ratnayake, W. S. (2002). Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. *Food Chemistry*, 78(4), 489–498.
- Hoyos-leyva, J., Bello-pérez, L. A., Agama-acevedo, E., & Alvarez-ramirez, J. (2018). Potential of taro starch spherical aggregates as wall material for spray drying microencapsulation: Functional, physical and thermal properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 237–244.
- Hoyos-Leyva, J. D., Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., & Alvarez-Ramirez, J. (2018). Thermodynamic analysis for assessing the physical stability of core materials microencapsulated in taro starch spherical aggregates. *Carbohydrate Polymers*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.012>
- Hoyos-leyva, J. D., Bello-pérez, L. A., Alvarez-Ramirez, J., & García, H. S. (2018). *Microencapsulation using starch as wall material: A review*. 34(2), 148–161.
- Hoyos-Leyva, J. D., Bello-Pérez, L. A., Yee-Madeira, H., Rodriguez-Garcia, M. E., & Aguirre-Cruz, A. (2017). Characterization of the flour and starch of aroid cultivars grown in Mexico. *Starch/Stärke*, 69(1600370), 1–8.
- Huang, Z.-Q., Xie, X., Chen, Y., Lu, J., & Tong, Z.-F. (2008). Ball-milling treatment effect on physicochemical properties and features for cassava and maize starches. *Comptes Rendus Chimie*, 11, 73–79.
- Hundre, S. Y., Karthik, P., & Anandharamakrishnan, C. (2015). Effect of whey protein isolate and β -cyclodextrin wall systems on stability of microencapsulated vanillin by spray-freeze drying method. *Food Chemistry*, 174, 16–24. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.11.016>
- Imberty, A., Buleon, A., Tran, V., & Pérez, S. (1991). Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch/Stärke*, 43, 375–384.
- Jane, J. L., Kasemsuwan, T., Leas, S., Zobel, H., & Robyt, J. F. (1994). Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. *Starch/Stärke*, 46, 121–129.
- Jane, J., Shen, L., Chen, J., Lim, S., Kasemsuwan, T., & Nip, W. K. (1992). Physical and Chemical Studies of Taro Starches and Flours. *Cereal Chemistry*, 69(5), 528–535.
- Juarez-Arellano, E. A., Morales-Toledo, L. I., Martinez-Lopez, V., Urzua-Valenzuela, M., Aparicio-Saguilan, A., & Navarro-Mtz, A. K. (2019). Mechano-Hydrolysis of Non-Conventional Substrates for Biofuel Culture Media. *Starch/Stärke*, 1800206, 1–13. <https://doi.org/10.1002/star.201800206>
- Kavlani, N., Sharma, V., & Singh, L. (2012). Various techniques for modification of starch and applications of its derivatives APPLICATIONS OF ITS DERIVATIVES Kavlani Neelam *, Sharma Vijay , Singh Lalit. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(5), 25–31.
- Kim, Y. J., Suzuki, T., Hagiwara, T., Yamaji, I., & Takai, R. (2001). Enthalpy relaxation and glass to rubber transition of amorphous potato starch formed by ball-milling. *Carbohydrate Polymers*, 46(1), 1–6. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00274-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00274-5)
- Koo, S. H., Lee, K. Y., & Lee, H. G. (2010). Effect of cross-linking on the physicochemical and physiological properties of corn starch. *Food Hydrocolloids*, 24(6–7), 619–625.

- Landerito, N. A., & Wang, Y. (2005). Preparation and Properties of Starch Phosphates Using Waxy, Common, and High-Amylose Corn Starches. I. Oven-Heating Method. *Cereal Chemistry*, 82(3), 264–270.
- Lin, H., Qin, L., Hong, H., & Li, Q. (2016). Preparation of starch nanoparticles via high-energy ball milling. *Journal of Nano Research*, 40, 174–179.
- Lindeboom, N., Chang, P. R., & Tyler, R. T. (2004). Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. *Starch/Stärke*, 56, 89–99.
- Lineback, D. R. (1984). The starch granule organization and properties. *Bakers Digest*, 13, 16–21.
- Liu, C., An, F., He, H., He, D., Wang, Y., & Song, H. (2018). Pickering emulsions stabilized by compound modified areca taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) starch with ball-milling and OSA. *Colloids and Surfaces A*, 556(15), 185–194.
- Liu, H., Ramsden, L., & Corke, H. (1999). Physical Properties and Enzymatic Digestibility of Phosphorylated waxy, wx, and Normal Maize Starch Prepared at Different pH Levels 1. *Cereal Chem.*, 76(6), 938–943.
- Liu, J., Wang, B., Lin, L., Zhang, J., Liu, W., Xie, J., & Ding, Y. (2014). Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch. *Food Hydrocolloids*, 36, 45–52.
- Liu, Q. (2005). Understanding starches and their role in food. In *Food carbohydrates: Chemistry, physical properties and applications* (pp. 309–355). New York, USA: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Liu, T. Y., Ma, Y., Yu, S. F., Shi, J., & Xue, S. (2011). The effect of ball milling treatment on structure and porosity of maize starch granule. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(4), 586–593.
- Loksuwan, J. (2007). Characteristics of microencapsulated B-carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloids*, 21(5–6), 928–935.
- Loubes, M. A. (2015). *Molienda seca y húmeda de arroz en molino planetario. Cinética de la molienda, efecto de las condiciones de molienda en las propiedades funcionales de la harina y del almidón y diseño de mezclas para pastas sin gluten*. Tesis de Doctorado. Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Lu, T. J., Lin, J. H., Chen, J. C., & Chang, Y. H. (2008). Characteristics of taro (*Colocasia esculenta*) starches planted in different seasons and their relations to the molecular structure of starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(6), 2208–2215.
- Martínez-Bustos, F., López-Soto, M., Martín-Martínez, E., Zazueta-Morales, J. J., & Velez-Medina, J. J. (2007). Effects of high energy milling on some functional properties of jicama starch (*Pachyrhizus erosus* L. Urban) and cassava starch (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Food Engineering*, 78, 1212–1220.
- McGrance, S. J., Cornell, H. J., & Rix, C. J. (1998). A simple and rapid colorimetric method for the determination of amylose in starch products. *Starch-Stärke*, 50(4), 158–163.
- Millán-Testa, C. E., Méndez-Montealvo, M. G., Otthenhof, M. A., Farhat, I. A., & Bello-Pérez, L. A. (2005). Determination of the molecular and structural characteristics of okenia, mango and banana starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 495–501.
- Miranda, S., & Teixeira, P. (2017). Preparation and Physicochemical, Structural and Morphological Characterization of Phosphorylated Starch 2. Materials and Methods. *Materials Research*, 20(2), 174–180.
- Moraes, J., Alves, F. S., & Franco, C. M. L. (2013). Effect of ball milling on structural and physicochemical characteristics of cassava and Peruvian carrot starches. *Starch/Stärke*, 65(3–4), 200–209.

- Moura, T. F., Gaudy, D., Jacob, M., Terol, A., Pauvert, B., & Chauvet, A. (1996). Vitamin C Spray Drying: Study of the Thermal Constraint. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 22(5), 393–400. <https://doi.org/10.3109/03639049609069347>
- Muñozcano, M. R. (2009). Ven en malanga cultivo rentable para Sinaloa. Retrieved from Fundación produce Sinaloa A.C. website: <https://www.fps.org.mx/portal/index.php/notas/683-ven-en-malanga-cultivo-rentable-para-sinaloa>
- Noda, T., Takahata, Y., Sato, T., Suda, I., Morishita, T., Ishiguro, K., & Yamakawa, O. (1998). Relationships between chain length distribution of amylopectin and gelatinization properties within the same botanical origin for sweet potato and buckwheat. *Carbohydrate Polymers*, 37(2), 153–158.
- Noshad, M., Mohebbi, M., Koocheki, A., & Shahidi, F. (2015). Microencapsulation of vanillin by spray drying using soy protein isolate-maltodextrin as wall material. *Flavour and Fragrance Journal*, 30(5), 387–391. <https://doi.org/10.1002/ffj.3253>
- Onwueme, I. (1999). *Taro cultivation in Asia and the Pacific. Food and Agriculture*. Bangkok: Organization (FAO) of the United Nations Regional office for Asia and the Pacific.
- Palma-Rodríguez, H. M., Agama-Acevedo, E., Gonzalez-Soto, R. A., Vernon-Carter, E. J., Alvarez-Ramirez, J., & Bello-Perez, L. A. (2013). Ascorbic acid microencapsulation by spray-drying in native and acid-modified starches from different botanical sources. *Starch/Stärke*, 65(7–8), 584–592.
- Páramo-Calderón, D. E., Carrillo-ahumada, J., Juárez-Arellano, E. A., Bello-Pérez, L. A., Aparicio-Saguilán, A., & Alvarez-Ramirez, J. (2015). Effect of cross-linking on the physicochemical, functional and digestibility properties of starch from Macho (*Musa paradisiaca* L.) and Roatan (*Musa sapientum* L.) banana varieties. *Starch - Stärke*, 67, 1–9.
- Paredes-López, O., Bello-Perez, L. A., & López, M. G. (1994). Amylopectin: structural, gelatinisation and retrogradation studies. *Food Chemistry*, 50(4), 411–417.
- Pérez, E., Schultz, F. S., & de Delahaye, E. P. (2005). Characterization of some properties of starches isolated from *Xanthosoma sagittifolium* (tannia) and *Colocassia esculenta* (taro). *Carbohydrate Polymers*, 60(2), 139–145.
- Reineccius, G. A., & Coulter, S. T. (1969). Flavour retention during drying. *Journal of Dairy Science*, 52, 1219–1222.
- Ríos-Ríos, K., González-Mondragón, E., Segura-Campos, M., Ramírez-Jiménez, M., López-Luna, J., López-Martínez, I., & Betancur-Ancona, D. (2016). Physicochemical and Nutritional Characterization of Starch Isolated from *Colocasia antiquorum* Cultivated in Oaxaca, Mexico. *Journal of Chemistry*, 7.
- Ríos, K. L. (2014). *Análisis comparativo de las propiedades Físico-químicas y nutrimentales de almidón obtenido a partir de dos especies de malanga (Colocasia antiquorum y Colocasia esculenta) cultivadas en el estado de Oaxaca*. Universidad Tecnológica de la Mixteca.
- Roa, D. F., Baeza, R. I., & Tolaba, M. P. (2015). Effect of ball milling energy on rheological and thermal properties of amaranth flour. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 8389–8394.
- Robert, P., García, P., Reyes, N., Chávez, J., & Santos, J. (2012). Acetylated starch and inulin as encapsulating agents of gallic acid and their release behaviour in a hydrophilic system. *Food Chemistry*, 134(1), 1–8.
- Rocha, G. A., Fávoro-Trindade, C. S., & Grosso, C. R. F. (2012). Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bioproducts Processing*, 90(1), 37–42.
- Rodríguez-Reyes, M. (2006). *Obtención y caracterización de almidones modificados de Malanga (Colocasia esculenta) y Trigo (Triticum sativum), y su aplicación en la fabricación de yogurt*.

- Röper, H. (2002). Materias primas renovables en Europa: utilización industrial del almidón y el azúcar. *Starch/Stärke*, 54(3–4), 89–99.
- Scott, G. J. E., Herrera, N., Espíndola, M., Daza, C., Fonseca, H., & M., B. (1992). *Desarrollo de Productos de Raíces y Tubérculos. Volumen II- América Latina*.
- Seib, P. A., & Woo, K. S. (1999). *Food grade starch resistant to alpha- amylase and method of preparing the same*. U. S. Patent 5.
- SIAP. (2017). Anuario estadístico de la Producción Agrícola. Retrieved from <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> website: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Singh, J., Kaur, L., & McCarthy, O. J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-A review. *Food Hydrocolloids*, 21(1), 1–22.
- Singh, P., Singh, J., Kaur, L., Sodhi, n. S., & Gill, B. S. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, 81, 219–231.
- Sit, N., Misra, S., & Deka, S. C. (2014). Characterization of Physicochemical , Functional , Textural and Color Properties of Starches from Two Different Varieties of Taro and Their Comparison to Potato and Rice Starches. *Food Science and Technology Research*, 20(2), 357–365.
- Takeda, Y., Shibahara, S., & Hanashiro, I. (2003). Examination of the structure of amylopectin molecules by fluorescent labeling. *Carbohydrate Research*, 338(5), 471–475.
- Tan, X. Y., Zhang, B. J., Chen, L., Li, X. X., Li, L., & Xie, F. W. (2015). Effect of planetary ball-milling on multi-scale structures and pasting properties of waxy and high-amylose corn starches. *Innov. Food Sci. & Emerg. Technol.*, 30, 198–207.
- Tari, T. A., Annapure, U. S., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2003a). Starch-based spherical aggregates : screening of small granule sized starches for entrapment of a model flavouring compound , vanillin. *Carbohydrate Polymers*, 53, 45–51.
- Tari, T. A., Annapure, U. S., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2003b). *Starch-based spherical aggregates : screening of small granule sized starches for entrapment of a model flavouring compound , vanillin*. 53, 45–51.
- Tari, T. A., & Singhal, R. S. (2002). Starch-based spherical aggregates: stability of a model flavouring compound, vanillin entrapped therein. *Carbohydrate Polymers*, 50(4), 417–421. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00055-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00055-3)
- Tester, R. F., & Karkalas, J. (2002). Starch. In *Biopolymers* (pp. 318–438).
- Tester, Richard F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch - Composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151–165.
- Tharanathan, R. N. (2005). Starch — Value Addition by Modification Starch ---- Value Addition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 371–384.
- Thomas, D. J., & Atwell, W. A. (1999). *Starches*. Eagan Press handbook series.
- Thurn, A., y Burchard, W. (1985). Heterogeneity in branching of amylopectin. *Carbohydrate Polymers*, 5(6), 441–460.
- Trindade, M. . A., & Grosso, C. R. F. (2000). The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum arabic. *Journal of Microencapsulation*, 17(2), 169–176.
- Vásquez, R. (2013). *Efecto de la modificación química del almidón de plátano obtenido a partir de 2 diferentes variedades sobre el contenido de AR: caracterización fisicoquímica, de digestibilidad, térmica, y morfológica*. Universidad del Papaloapan, San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, México.
- Verdalet-Guzmán, I., Martínez-Ortiz, L., & Martínez Bustos, F. (2013). Characterization of new sources of derivative starches as wall materials of essential oil by spray drying. *Food Science and*

Technology Research, 33(4), 757–764.

- Villarreal, M. E., Ribotta, P. D., & Iturriaga, L. B. (2013). Comparing methods for extracting amaranthus starch and the properties of the isolated starches. *LWT - Food Science and Technology*, 51(2), 441–447.
- Waliszewski, K. N., Aparicio, M. A., Bello, L. A., & Monroy, J. A. (2003). Changes of banana starch by chemical and physical modification. *Carbohydrate Polymers*, 52, 237–242.
- Wang, Y. F., Ye, H., & Zhou, C. (2012). Study on the spray-drying encapsulation of lutein in the porous starch and gelatin mixture. *Eur Food Res Technol*, 234, 157–163.
- Wei, M., Liu, Y., Liu, B., Lv, X., Sun, P., Zhang, Z., ... Liu, Z. (2011). Preparation and Application of Starch Phosphate With a Low Degree of Substitution. *Phosphorus, Sulfur and Silicon*, 186, 974–982.
- Xie, Y., Zhang, B., Li, M., & Chen, H. (2019). Effects of cross-linking with sodium trimetaphosphate on structural and adsorptive properties of porous wheat starches. *Food Chemistry*, 289, 187–194.
- Yoo, S. H., & Jane, J. L. (2002). Molecular weights and gyration radii of amylopectins determined by high-performance size-exclusion chromatography equipped with multi-angle laser-light scattering and refractive index detectors. *Carbohydrate Polymers*, 49(3), 307–314.
- Zhang, B., Cui, D., Liu, M., Gong, H., Huang, Y., & Han, F. (2012). Corn porous starch: Preparation, characterization and adsorption property. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50, 250–256.
- Zhang, W., Ding, W., Ndeurumi, K. H., Wang, Z., & Feng, Y. (2015). Effect of wet ball milling on physicochemical properties and crosslinking reaction performance of corn starch. *Starch/Starke*, 67, 958–963.
- Zhang, Z., Zhao, S., & Xiong, S. (2010). Morphology and physicochemical properties of mechanically activated rice starch. *Carbohydrate Polymers*, 79(2), 341–348.
- Zhao, J., & Whistler, R. L. (1994). Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. *Food Technology*, 48, 104–105.
- Zhu, F. (2014). Structure, physicochemical properties, and uses of millet starch. *Food Research International*, 64, 200–211.