

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ
INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS



MODIFICACIÓN FÍSICA DEL ALMIDÓN DE SEMILLA DE RAMÓN
(*Brosimum alicastrum* Sw.): PROPIEDADES FUNCIONALES Y
POTENCIAL APLICACIÓN

POR

LUIS ALBERTO QUIÑONES CORRAL

TESIS

LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGIA

CD. JUÁREZ, CHIH.

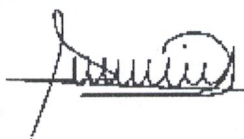
MAYO, 2023.

MODIFICACIÓN FÍSICA DEL ALMIDÓN DE SEMILLA DE RAMÓN (*Brosimum
alicastrum* Sw.): PROPIEDADES FUNCIONALES Y POTENCIAL APLICACIÓN

POR

LUIS ALBERTO QUIÑONES CORRAL

TESIS



DRA. NINA DEL ROCÍO MARTÍNEZ RUIZ
DIRECTORA DE INVESTIGACIÓN



DRA. PERLA ARACELI MAGALLANES CRUZ
DIRECTORA DE INVESTIGACIÓN



DR. JOSÉ ALBERTO NÚÑEZ GASTÉLUM
COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. JOSÉ ALBERTO LÓPEZ DÍAZ
JEFE DEL DEPARTAMENTO



CD. SALVADOR DAVID NAVA MARTÍNEZ
DIRECTOR DEL INSTITUTO

MAYO, 2023.

DEDICATORIA

Esta tesis esta dedicada a mis padres, en agradecimiento por su apoyo, aliento y estimulo, mismos que ayudaron a la conquista de esta meta, a ustedes quiero agradecer mi existencia, mi formación como ser humano y formación profesional.

A mis hermanas por su gran apoyo y aliento a culminar y seguir adelante en la obtencion de una carrera profesional, siendo parte importante para no darme por vencido en ningun momento.

A mis amigos, por su gran cariño y aprecio, esas largas horas de platicas y momentos tan únicos que pasamos juntos, ahora que los considero como parte de mi familia, también quiero agradecerles por su apoyo incondicional y formar parte de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres Irene Corral y Luis Quiñones, por haberme brindado la gran oportunidad de poder tener una carrera universitaria, por apoyarme en todo momento siendo mis pilares durante todo el proceso y por muchas cosas más que nunca terminaría de agradecerles en la vida, este logro es suyo y gracias por ser mis padres.

A todas esas personas que compartieron conmigo durante todo este proceso tanto amigos, como profesores, a mis hermanas que siempre me apoyaron cuando más necesitaba de ellas fueron parte de mis tristezas y alegrías, así como de mis triunfos y fracasos.

Gracias a las doctoras Nina del Rocío Martínez Ruiz y Perla Aracely Magallanes Cruz, por su ayuda y su paciencia en la realización de este trabajo, que, aunque hubo dificultades nunca se rindieron conmigo, gracias también por la confianza que depositaron en mi para la elaboración de este trabajo, pues sin ello hubiera sido imposible lograrlo.

RESUMEN

Brosimum alicastrum Sw. (Ramón), es un árbol originario de Mesoamérica y el Caribe, con amplia distribución en México, no obstante, es un recurso natural subutilizado. La harina de su semilla tiene alto contenido de proteína, fibra dietética y almidón, el cual ha sido poco estudiado en forma nativa. El objetivo del presente estudio fue obtener un almidón modificado a partir de la harina de semilla de Ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.) mediante tratamiento físico y evaluar sus propiedades funcionales con potencial aplicación como ingrediente alimentario. El almidón se aisló de harina de semilla de Ramón (HSR), harina de maíz (HM) y trigo (HT), la composición proximal de los almidones se realizó en base seca y se modificaron mediante tratamiento hidrotérmico (HMT) (10, 20 y 30% de humedad a 120 °C). El porcentaje de AR se calculó en base al método (AOAC 2002.02). Se determinó el índice de solubilidad (ISA), capacidad de absorción de agua (CAA) y poder de hinchamiento (PH) y a 60, 70, 80 y 90 °C. El rendimiento de almidón fue mayor para HSR (31.2%) que HM (12%). El AHR se caracterizó por mayor contenido de minerales (0.9%) y menor de proteína (0.2%). El AHR modificado a 30% de humedad mostró el mayor contenido de AR (33.3%). El ISA incrementó a 90 °C en AHR 10%, (18.7%), comparado con su forma nativa (4.9%). El AHR 10% mostró mayor CAA a 90°C que AHT 10% y AHM 10% y que en estado nativo (13.3 ± 0.1 , 12.8 ± 0.1 y 11.1 ± 0.6 g agua/g almidón, respectivamente). De la misma forma el PH fue mayor en AHR 10% a 90°C (22.2 ± 0.2 g agua/ a almidón) que AHT y AHM 10% y AHR nativo (11.6 ± 0.6 g agua/ g almidón). La semilla de Ramón es una fuente de almidón con una fracción importante de almidón resistente (AR). La modificación de este almidón mediante HMT al 10% incrementó el contenido de AR y mejoró sus propiedades funcionales (ISA, CAA y PH), lo cual es de interés como ingrediente funcional en la elaboración de alimentos estables y más saludables para el consumidor debido a su potencial como prebiótico.

Palabras clave: Ramón, *Brosimum alicastrum* Sw, Almidón resistente.

ABSTRACT

Brosimum alicastrum Sw. (Ramón) is a tree native to Mesoamerica and the Caribbean, with a wide distribution in Mexico, however, it is an underutilized natural resource. Its seed flour is high in protein, dietary fiber and starch, which has been little studied in native form. The objective of the present study was to obtain a modified starch from Ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.) seed flour by physical treatment and to evaluate its functional properties with potential application as a food ingredient. Starch was isolated from Ramón seed flour (HSR), corn flour (HM) and wheat (HT), the proximate composition of starches was performed on dry basis and modified by hydrothermal treatment (HMT) (10, 20 and 30% moisture at 120 °C). The percentage of AR was calculated based on the method (AOAC 2002.02). Solubility index (ISA), water absorption capacity (CAA) and swelling power (PH) were determined and at 60, 70, 80 and 90 °C. Starch yield was higher for HSR (31.2%) than HM (12%). AHR was characterized by higher mineral content (0.9%) and lower protein (0.2%). Modified AHR at 30% moisture showed the highest RA content (33.3%). ISA increased at 90 °C in AHR 10%, (18.7%), compared to its native form (4.9%). AHR 10% showed higher CAA at 90°C than AHT 10% and AHM 10% and then in native state (13.3 ± 0.1 , 12.8 ± 0.1 and 11.1 ± 0.6 g water/g starch, respectively). Similarly, PH was higher in AHR 10% at 90°C (22.2 ± 0.2 g water/starch) than AHT and AHM 10% and native AHR (11.6 ± 0.6 g water/starch). Ramon seed is a starch source with a significant fraction of resistant starch (AR). Modification of this starch by HMT 10% increased the RA content and improved its functional properties (ISA, CAA and PH), which is of interest as a functional ingredient in the elaboration of stable and healthier foods for the consumer due to its potential as a prebiotic.

Keywords: Ramon, *Brosimum alicastrum* Sw, Resistant starch.

CONTENIDO

Índice de Cuadros	ix
Índice de Figuras.....	x
INTRODUCCIÓN	1
1. Antecedentes	2
1.1 Almidón.....	2
1.1.1 Características	6
1.1.2 Propiedades funcionales en el alimento.....	8
1.1.2.1 Gelatinización.....	9
1.1.2.2 Gelación	10
1.1.2.3 Retrogradación	10
1.1.3 Principales almidones nativos utilizados en la industria alimentaria .	12
1.2 Digestibilidad del almidón	13
1.2.1 Tipos de almidón resistente	15
1.3 Modificación de los almidones nativos.....	16
1.3.1 Modificación química.....	17
1.3.2 Modificación enzimática	17
1.3.3 Modificación física.....	18
1.4 Modificación hidrotérmica (HMT) del almidón.....	20
1.5 Almidón modificado	21
1.5.1 Características	21
1.5.2 Almidones modificados y su efecto en las propiedades del alimento	21
1.6 Brosimum alicastrum Sw. (Ramón)	24
1.6.1 Características del árbol	24
1.6.2 Semilla de Ramón.....	25
1.7 Hipótesis.....	27
1.8 Objetivos.....	27
1.8.1 Objetivo general	27
1.8.2 Objetivos específicos	27
2. Materiales y Métodos	28

2.1 Obtención de harina de semilla de Ramón.....	28
2.1.1 Extracción de almidón.....	28
2.2 Composición proximal del almidón	29
2.2.1 Determinación de humedad	29
2.2.2 Determinación de cenizas.....	30
2.2.3 Determinación de proteína.....	30
2.2.4 Determinación de grasa.....	32
2.2.5 Carbohidratos totales	33
2.3 Modificación Hidrotérmica (HMT)	34
2.4 Almidón resistente	34
2.5 Propiedades funcionales del almidón	36
2.5.1 Índice de solubilidad en agua (ISA) y poder de hinchamiento (PH) ..	36
2.5.2 Capacidad de absorción de agua (CAA).....	37
2.6 Análisis de datos	37
3. Resultados y Discusión.....	38
3.1 Rendimiento de almidón.....	38
Cuadro I. Rendimiento de almidón extraído.....	38
3.2 Análisis proximal de almidones	39
Cuadro II. Composición proximal de los almidones en base seca.	39
3.3 Almidón resistente (AR).....	44
3.4 Propiedades funcionales de almidones	51
3.4.1 Solubilidad	51
3.4.2 Capacidad de absorción de agua	54
3.4.3 Poder de hinchamiento del gránulo de almidón	57
3.6 Recomendaciones.....	61
3.7 Difusión de resultados.....	62
LITERATURA CITADA.....	63

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
I Rendimiento de almidón extraído	39
II Composición proximal de los almidones en base seca	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1 Estructura de la amilosa	3
2 Dobles hélices en amilosa tipo A y B	4
3 Estructura de la amilopectina	4
4 Amilopectina: A) cadenas en diagrama de racimo B) regiones amorfas y cristalinas	6
5 Representación de la transformación estructural por la que pasa el gránulo de almidón hasta su retrogradación.....	9
6 Contenido de almidón resistente en almidones nativos	44
7 Contenido de almidón resistente en almidones modificados	45
8 Contenido de almidón resistente en almidón de harina de semilla de Ramón nativo y modificado por HMT a diferentes contenidos de humedad.....	46
9 Índice de solubilidad de almidones nativos y modificados por HMT a diferentes temperaturas	52
10 Capacidad de absorción de agua de almidones nativos y modificados por HMT a diferentes temperaturas	55
11 Poder de hinchamiento de almidones nativos y modificados por HMT a diferentes temperaturas	58

INTRODUCCIÓN

La estructura nativa de los almidones puede presentar limitantes para elaboración de productos debido a que las condiciones de proceso, por ejemplo, la temperatura, pH, presión, entre otros, limitan su uso en aplicaciones industriales debido a la baja viscosidad, estabilidad térmica, retrogradación y sinéresis (Bello-Pérez et al., 2002a). Además, almidones como el de maíz o trigo son altamente digeribles (> 90% después del tratamiento térmico) lo que el alto consumo de este tipo de alimentos puede aumentar la respuesta glucémica y aumentar el riesgo de padecer enfermedades como obesidad, diabetes y dislipidemias (Bello-Pérez et al., 2020). La modificación del almidón mejora atributos y reduce las limitaciones de los almidones nativos, ampliando su aplicación en la elaboración de productos. El tratamiento con calor y humedad (HMT), es un método físico, que se ha utilizado recientemente para alterar la estructura y las propiedades fisicoquímicas del almidón (Ramos et al., 2018).

Por otra parte, la semilla del árbol Ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.) se caracteriza por su aporte de nutrimentos y alto contenido de almidón. Un estudio previo indicó que el almidón de Ramón podría utilizarse en sistemas alimentarios con altas temperaturas y con uso potencial como agente espesante y gelificante (Pérez et al., 2014). Por lo que el objetivo del presente estudio fue obtener un almidón modificado a partir de la harina de semilla de Ramón mediante un tratamiento físico y evaluar sus propiedades fisicoquímicas y funcionales con potencial aplicación en la industria alimentaria. La presente información podría ser de interés para el sector alimentario para incorporar el almidón modificado de esta semilla en la producción de alimentos más saludables y con propiedades de interés.

1. Antecedentes

1.1 Almidón

El almidón es la mayor fuente de hidratos de carbono en la dieta del ser humano y el polisacárido de almacenamiento más abundante en las plantas. Se presenta naturalmente en forma de gránulos en los cloroplastos de hojas verdes y amiloplastos de semillas, legumbres y tubérculos (Villarreal et al., 2018). Todos los almidones están constituidos por α -D- glucopiranososa en cadenas lineales con enlaces α (1-4) en la amilosa, o en cadenas ramificadas por el enlace α (1,6) sobre cadenas α (1-4) en la amilopectina (Delgado, 2018).

Estas cadenas están organizadas en un gránulo insoluble en agua a temperatura ambiente y en la mayoría de solventes orgánicos, el cual se caracteriza por un núcleo alrededor del cual se ubican las cadenas poliméricas de manera radial. El gránulo de almidón y su tamaño son determinantes en su funcionalidad, lo cual afecta la solubilidad y también el poder de hinchamiento granular (que facilita la liberación de cadenas poliméricas solubles para formación de una única fase amorfa coherente). El hinchamiento del gránulo y la liberación de material soluble comienza en el núcleo del gránulo de almidón y rápidamente se extiende a los alrededores (Medina & Salas, 2008).

La amilosa es un polímero esencialmente lineal formado por unidades de D- glucosa unidas por enlaces α 1,4, (Figura 1), esto debido al acoplamiento axial ecuatorial de las unidades D- glucosa lo cual permite que la molécula mantenga una estructura helicoidal, esta se forma con 6 unidades por giro de la hélice. La amilosa tiene un peso molecular entre 1×10^5 - 1×10^6 daltones (Da) aproximadamente. Dentro del gránulo este polímero se encuentra en una proporción del 20-30 % (Miñón, 2015).

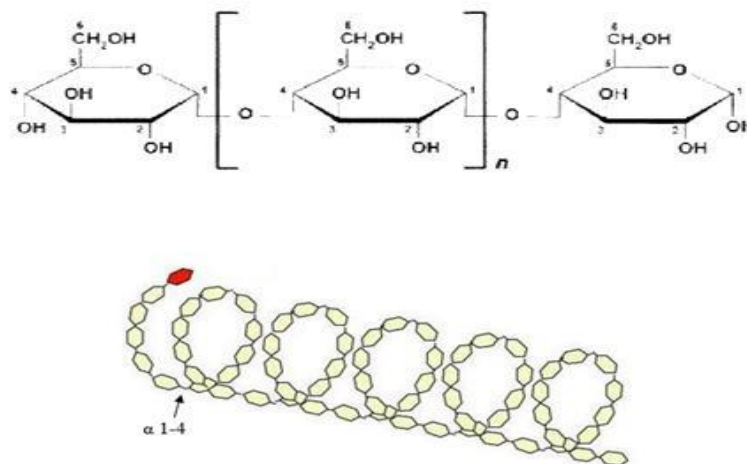


Figura 1. Estructura de la amilosa. Fuente: (Miñón, 2015).

Se ha logrado observar el acoplamiento de los monómeros de glucosa en una estructura de hélice o espiral con giro a la derecha en la que cada vuelta de hélice que consta de seis moléculas de glucosa por difracción de rayos X, en fibras orientadas de amilosa. También es posible observar el interior de la hélice que contiene sólo átomos de hidrógeno, por lo tanto es lipofílico, mientras que los grupos hidroxilo están situados en el exterior de la hélice. Los patrones corresponden a los tipo A y B (Figura 2), los elementos estructurales de la forma B son hélices dobles empaquetadas de forma hexagonal antiparalela, el canal que se encuentra en el centro está relleno de agua, en cambio, en la forma A el canal central está ocupado por otra doble hélice, de manera que el empaquetamiento es más denso; punto importante es que el agua ocupa los espacios comprendidos entre las hélices (Luisillo, 2014). Las moléculas de amilosa son capaces de formar complejos moléculas pequeñas como yodo (dando lugar a un color azul porciones lineales hidrófobas de ácidos grasos, de inclusión con característico) y monoglicéridos, fenoles, halogenuros de arilo, n-butanol, t-butanol, ciclohexano, entre otros. En éstos se estabiliza la conformación tipo V que posee también 6 moléculas de glucosa por vuelta; el diámetro de la hélice se acomoda al tamaño de la molécula incluida y oscila entre

13.7 y 16.2 Å. La conformación V, tras la eliminación de una molécula de glucosa se transforma lentamente en la conformación lineal B; esta transformación ocurre también durante el envejecimiento de productos de panadería conocido como fenómeno de retrogradación (Luisillo, 2014).

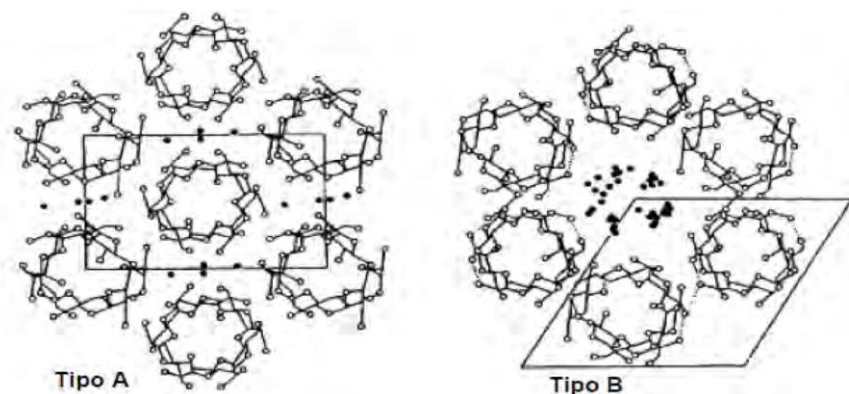


Figura 2. Dobles helices en amilosa tipo A y B. Fuente: (Luisillo, 2014).

La amilopectina es una estructura ramificada que está formada por unidades de glucosa unidas por enlaces glucosídicos α 1,6 (Figura 3), esta tiene un peso molecular entre 1×10^7 - 1×10^9 daltones (Da) aproximadamente. Responsable de la formación de pasta y viscosidad del almidón y es el principal componente del almidón, representa aproximadamente del 70-80% (Miñón, 2015).

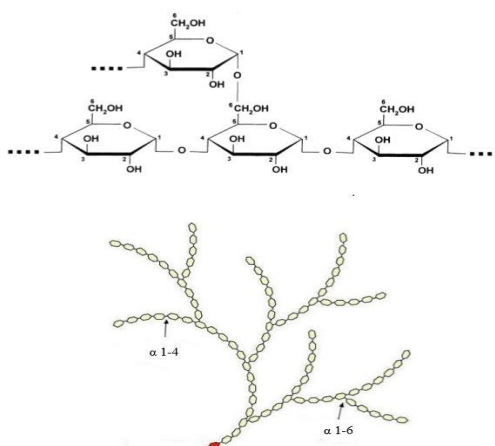


Figura 3. Estructura de la amilopectina. Fuente: (Miñón, 2015).

En el nivel más bajo de estructura, la mayoría de los gránulos de almidón se componen de capas amorfas y semicristalinas alternas que tienen entre 100 y 400 nm de espesor. Estas estructuras tienen como nombre "anillos concéntricos". Se cree que la organización radial de la amilopectina dentro de tales estructuras causa polarización óptica (Perez & Bertoft, 2010).

En un nivel más alto de orden molecular, las investigaciones de patrón de difracción de rayos X indican una periodicidad de aproximadamente 9-10 nm dentro del gránulo. La periodicidad se interpreta debido a laminillas cristalinas y amorfas que se encuentran dentro de las capas semicristalinas. Estos estarían formados por grupos de cadenas laterales, ramificándose de las moléculas de amilopectina dispuestas radialmente, estos parecen ser una característica universal en la estructura del almidón. Se pueden obtener patrones de difracción de buena calidad a partir de almidón en polvo tratado mediante hidrólisis ácida suave para eliminar materiales amorfos, dichos patrones son utilizados para identificar varios alomorfos y para agrupar la mayoría de los almidones de acuerdo con sus propiedades físicas. La multiplicidad en la ramificación es una característica común tanto de la amilopectina como del glucógeno. La organización básica de las cadenas se describe en términos de las cadenas A, B y C. De esta forma, las cadenas externas (A) están enlazadas mediante enlaces glucosídicos en su grupo reductor potencial a través del carbono 6 del residuo de glucosa a una cadena interna, las cadenas B son las cadenas que se definen a su vez como cadenas que llevan otras cadenas como rama y por último la cadena C simple por molécula también lleva otras cadenas como ramificaciones, pero contiene el único residuo terminal reductor (Buléon, Colona, & Ball, 1998). Generalmente, la mayoría de los almidones de cereales son del patrón tipo A, algunos tubérculos (como la papa y el ñame menor), los rizomas (por ejemplo, canna) por otro lado los almidones de cereales ricos en amilosa producen el patrón B y por último los almidones de leguminosas generalmente tienen un patrón de tipo C (Perez & Bertoft, 2010).

La amilopectina contribuye con la estructura cristalina de los gránulos de almidón las áreas ramificación donde comienza la ramificación y aquellas que solo tienen cadenas lineales están claramente separadas, produciendo capas amorfas (segmentos menos densos) y cristalinas (más densos) respectivamente, como se puede observar en la Figura 4 (Luisillo, 2014).

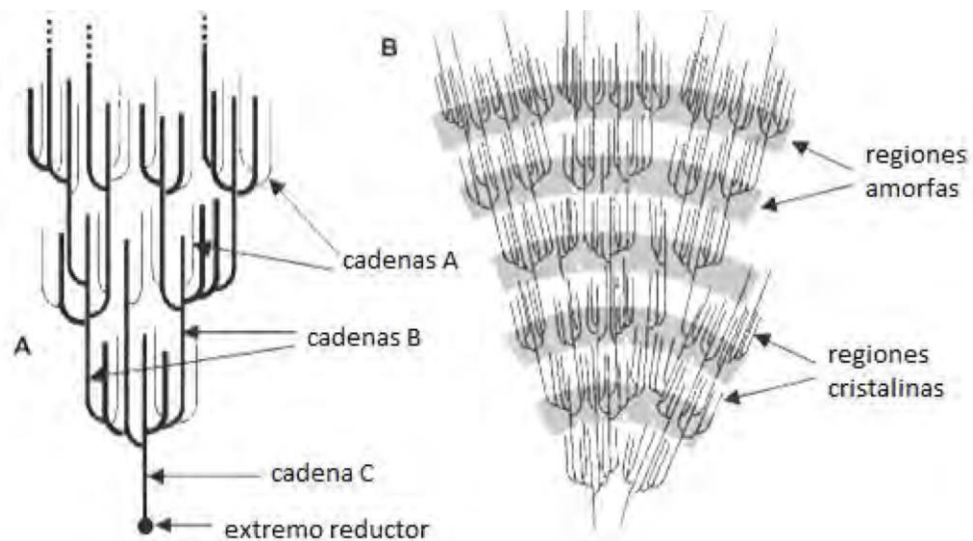


Figura 4. Amilopectina: A) cadenas en diagrama de racimo B) regiones amorfas y cristalinas. Fuente: (Luisillo, 2014).

1.1.1 Características

Los gránulos de almidón de la mayoría de las plantas consisten en aproximadamente una cuarta parte de moléculas de amilosa y tres cuartas partes de moléculas de amilopectina. La primera es fácilmente soluble en agua a temperatura ambiente y forma una solución ligeramente viscosa difícil de gelatinizar, tiende a formar estructuras helicoidales, capaces de incluir otras moléculas como ácidos grasos o hidrocarburos. Los gránulos de almidón varían en forma (esférica, ovalada, poligonal, lenticular, alargada, forma de riñón, etc.). Existe una correlación directa entre el contenido de amilosa y algunos rasgos morfológicos. Cuanto mayor es el contenido de amilosa, mayor es el número de

gránulos filamentosos que se encuentran en el almidón de maíz (Perez & Bertoft, 2010).

Las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón y sus productos dependen de su naturaleza, morfología y estructura estas características fueron estudiadas de distintos tipos de gránulos de almidón como el granulo de maíz, yuca y papa a continuación se detallan dichas características. El almidón de maíz muestra formas que son aproximadamente irregulares, poligonales en el plano y se asumen poliédricas irregulares en el espacio, lo cual se ha observado mediante microscopia electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés). La superficie de los gránulos presenta apariencia rugosa; la ubicación del nucleo es concéntrica, lo cual revela un crecimiento de gránulo equi-radial con las imperfecciones poliédricas mencionadas; su forma es mixta, para algunos gránulos es una línea y para otros, simplemente, puntos centrales (Medina & Salas, 2008).

La forma general del gránulo de almidón nativo de yuca se aproxima a elipses y/o esteras, en ocasiones truncadas, como si hubiese recibido cortes en sólo uno de sus extremos. Aunque tambien existen formas irregulares, son menos apreciables que las que se presentan en las micrografías del almidón de maíz. El núcleo se establece también de manera concéntrica, por otro lado el crecimiento del gránulo igualmente es equi-radial. A diferencia del maíz, el tamaño no se relaciona con diferentes tipos de núcleo (Medina & Salas, 2008).

Existen diferencias morfológicas entre almidones de papa dependiendo de las prácticas agrícolas, ya que se han revelado formas circulares para los tamaños pequeños y elípticas para los tamaños grandes. Las superficies son suaves y homogéneas, con superficies menos accidentadas que las dos fuentes agrícolas antes mencionadas como lo son el maiz y la yuca, la papa similar a lo que ocurría con los gránulos de almidón de yuca, se logra observar algunas geometrías

truncadas con cortes en sus extremos, aunque con menor frecuencia. El núcleo se ubica en el centro para gránulos pequeños y es excéntrico para gránulos grandes elípticos. Al igual que en la yuca, este es de geometría preferencialmente puntual, incluso en gránulos grandes (Medina & Salas, 2008).

En estudios realizados sobre el almidón de Ramón se logró observar que los gránulos de este mostraban una forma esférica al igual que superficies tanto rugosas como lisas de igual forma también lograron clasificar el tamaño de estos gránulos como pequeños (Pech-Cohuo et al., 2021).

1.1.2 Propiedades funcionales en el alimento

Hoy en día el estudio de la estructura y las enzimas que participan en la biosíntesis del almidón permite conocer de mejor forma sus características morfológicas, fisicoquímicas y por lo tanto sus propiedades funcionales, debido a que de esto dependen sus potenciales aplicaciones en la industria alimentaria como materia prima de diversos productos alimenticios (Miñón, 2015).

En función de la proporción amilosa/amilopectina da lugar a dos propiedades fundamentales que presentan: absorción y retención de agua y capacidad de gelificación de igual forma la viscosidad y las propiedades térmicas que son otorgadas por esta proporción son de gran importancia en el estudio del almidón. Los almidones son utilizados como materia prima en diversas industrias, representando un insumo vital para la industria de alimentos como estabilizadores, ayudantes en la emulsificación, mejoradores de textura y otros, siendo sus propiedades funcionales determinantes en la calidad del producto final (Tupa, 2019).

La amilopectina es más termoestable que la amilosa debido a su estructura ramificada y, por lo tanto, su tendencia a la retrogradación después del cocinado es mucho menor. Las pastas de amilopectina se mantienen viscosas durante

largos periodos de tiempo y aunque se produzca una cierta retrogradación, es reversible con el calentamiento. La retrogradación del almidón es un proceso que ocurre cuando las moléculas en los gránulos de almidón gelatinizados comienzan a reasociarse en una estructura ordenada como se observa en la Figura 5 (Delgado, 2018).

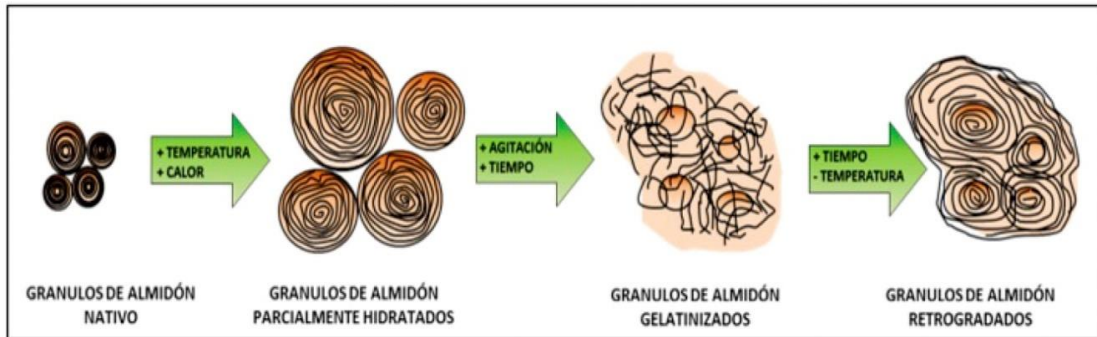


Figura 5. Representación de la transformación estructural por la que pasa el granulo de almidón hasta su retrogradación. Fuente: (Villaruel et al., 2018).

1.1.2.1 Gelatinización

La gelatinización es un proceso irreversible que sufren los almidones al ser calentados en una suspensión con agua provocando la ruptura de los enlaces de hidrógeno en el interior del gránulo mejorando la absorción de agua y el hinchamiento. Este proceso ocurre al alcanzar la temperatura de gelatinización, que es característica de cada almidón y depende de la concentración de la suspensión. Al calentar, cercano al punto de gelatinización, los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, pero pueden embeber agua de manera reversible, dicho de otra forma, pueden hincharse ligeramente y volver luego al tamaño original al secarse, por lo tanto, se obtiene un producto que se dispersa en agua fría y desarrolla una viscosidad considerable. Los almidones pre-gelatinizados son productos que han sido sometidos a un proceso de gelatinización y luego de extraer el agua separada por retrogradación se aíslan nuevamente como un sólido pulverizado. Esta modificación sencilla y de escasos

requerimientos aumenta la capacidad de absorción de agua, lo que permite la utilización de este producto como estabilizante alimentario industrial (Pérez, Ley, González, & Valdés, 2017).

1.1.2.2 Gelación

Después de la gelatinización o formación de pastas del almidón, las moléculas de amilosa y amilopectina pueden considerarse como "disueltas", durante el enfriamiento, la dispersión de almidón gelatinizado adquiere, dependiendo de la concentración, una consistencia de pasta suave o gel. Cuando la pasta o gel se almacena por largos periodos de tiempo, las moléculas de amilosa se re-asocian a través de la formación de enlaces de hidrógeno con moléculas de amilosa adyacentes. El grado de hinchamiento y desorganización del gránulo, dependen del tipo del almidón, la proporción amilosa/amilopectina, temperatura, presencia de otros solutos y el corte o agitación aplicada durante el calentamiento (Flores, 2004).

1.1.2.3 Retrogradación

Este fenómeno sucede si la pasta de almidón gelatinizado se enfría lentamente, ya que las moléculas de amilosa tienen suficiente tiempo para alinearse de tal forma que varios enlaces de hidrógeno pueden formarse entre cadenas paralelas adyacentes. Esta retrogradación se manifiesta por la formación de precipitados o geles y afecta a la textura, aceptabilidad y digestibilidad de los alimentos que contienen almidón. Como se ha mostrado, la retrogradación consiste en dos procesos: uno la gelación de las moléculas de amilosa lixiviada del gránulo durante la gelatinización y un segundo que es la recristalización de la amilopectina (Flores, 2004).

La retrogradación en las moléculas de amilosa, las cadenas se orientan paralelamente y forman entre sí puentes de hidrógeno a través de sus múltiples grupos hidroxilo, estas interacciones se pueden efectuar por diversas rutas que

dependen de la concentración y de la temperatura del sistema; en cambio, la retrogradación de la amilopectina parece que requiere en primer lugar la asociación de sus ramas exteriores, lo cual requiere de un tiempo mucho mayor respecto a la retrogradación de la amilosa. Los agregados de amilosa gelatinizada pueden formar una red gelatinosa durante su enfriamiento, mientras que la amilopectina actúa como un agente de agregación formando una red rellena (Perera et. al., 2010).

La conocida relación entre alto contenido de amilosa y almidón resistente surge del gran número de largas ramificaciones que pueden formar especies retrogradadas pequeñas. El desarrollo de las zonas de asociación en un gel puede ser considerada como la primera fase del inicio de la cristalización por parte de las moléculas de almidón, al enfriar y dejar en reposo las pastas de almidón, éste se hace progresivamente menos soluble. Por otro lado, en soluciones diluidas las moléculas de almidón tienden a precipitar, y este material insoluble es cada vez más difícil de redissolver por calentamiento. La velocidad de retrogradación depende de distintas variables, las cuales pueden ser: la proporción amilosa/amilopectina esta se rige por el genoma y su potencial genético a sufrir mutaciones, también por el largo de sus cadenas, otra de ellas las estructuras de las moléculas de amilosa y amilopectina las cuales vienen determinadas por la fuente botánica del almidón, o la temperatura, la concentración de almidón y por último, la presencia y concentración de otros ingredientes como lípidos, surfactantes y sales (Luisillo, 2014).

La retrogradación es de gran importancia para la industria alimentaria ya que muchos defectos de calidad como lo son el endurecimiento del pan, la pérdida de viscosidad, la precipitación de sopas y salsas son debido, por lo menos en parte a la transición gradual del almidón amorfo y otro parcialmente cristalino (retrogradado). En estos productos la velocidad de retrogradación depende de la formulación, del proceso y de las condiciones de almacenamiento (Luisillo, 2014).

Es importante resaltar el hecho de que el almidón retrogradado es menos digerible que el almidón no retrogradado, es por ello por lo que llega sin haber sido digerido al colon, donde es fermentado por las bacterias del mismo donde funciona como prebiótico, generando así ácido propiónico y ácido butírico (ácidos grasos de cadena corta C3 y C4, respectivamente), este último actúa como fuente de energía para los coloncitos (las células del colon). El almidón retrogradado actúa como fibra soluble y tiene un papel importante en la prevención de cáncer de colon (Bello-Pérez, Contreras-Ramos, Romero-Manilla, Solorza-Fería, & Jiménez-Aparicio, 2002).

1.1.3 Principales almidones nativos utilizados en la industria alimentaria

El uso del almidón como ingrediente en la industria alimentaria está creciendo por su bajo precio, continua disponibilidad en grandes cantidades y la capacidad que posee de adaptarse a los procesos industriales, es una excelente materia prima para modificar la textura y consistencia de los alimentos (Montano-Aragón, 2013). Las fuentes principales de almidón son los cereales, raíces, tubérculos y leguminosas. Los almidones más utilizados son de trigo, maíz, papa, yuca y arroz, sin embargo, existen otras fuentes menos conocidas, pero no por ello menos importantes como es el camote (Araujo de Vizcarrondo, Rincón, & Padilla, 2004). El almidón proveniente de papa tiene un potencial uso en productos de confitería de igual forma en agentes espesantes y estabilizantes en sistemas alimenticios que necesiten ser refrigerados y congelados, por otro lado, el almidón de yuca es de gran uso en productos que requieren retención de agua, tales como productos cárnicos, embutidos y jaleas (Hernández-Medina, Torruco-Uco, Chel-Guerrero, & Betancur-Ancona, 2008).

Las semillas de frutas son otra fuente no convencional de almidones de la cual se ha estudiado muy poco, entre estas el mango tiene una gran importancia ya que las semillas de las variedades como Safeda, Chausa y Dussheri del mango

son una fuente rica en almidón el cual es utilizado para la realización de distintos productos (Bharti et al., 2019).

1.2 Digestibilidad del almidón

La digestión del almidón ocurre generalmente en el intestino delgado por la acción de α -amilasa, dextrinasa y glucoamilasa. También se produce una secreción considerable de α -amilasa a través de la saliva, y puede incluso sobrevivir a las condiciones gástricas para ejercer su efecto en el intestino delgado. Sin embargo, no se sabe si esta amilasa salival tiene efectos significativos sobre la digestión del almidón. Un estudio reveló que hasta el 40% del almidón se degradaba después de masticarlo seguido de incubación con saliva humana durante 10 minutos, pero cuando posteriormente se incubó con enzimas pancreáticas, este tratamiento previo no tuvo ningún efecto sobre la digestión total del almidón. Aunque sorprendentemente se han realizado pocos estudios, la digestibilidad total del tracto digestivo parece ser casi completa para las dietas humanas típicas (Svihus & Kolderup, 2016). La digestibilidad del almidón se ha asociado con el índice glucémico (IG) para evaluar la calidad nutricional de los alimentos, de esta forma el IG se ha utilizado como un indicador de la respuesta de la glucosa postprandial para los alimentos a base de almidón (Magallanes-Cruz, Flores-Silva, & Bello-Perez, 2017). Las mediciones en seres humanos con ileostomía también han demostrado que el porcentaje de almidón que se digiere en el intestino delgado es normalmente superior al 95% en alimentos comunes ricos en almidón, tales como pan blanco, papas recién cocidas, pasta, cereales para el desayuno y arroz. Una serie de estudios previos informaron que su modificación por el método hidrotérmico (HMT) redujo la tasa de digestión y el índice glucémico (IG) del almidón al aumentar la porción de almidón de digestión lenta (SDS) y el contenido de almidón resistente (RS) y por otro tanto, disminuyó el contenido de almidón de digestión rápida (RDS) (Dong et al., 2021; Svihus & Kolderup, 2016).

Después de haber descubierto que el almidón no era completamente hidrolizado y absorbido en el intestino delgado humano, este fue clasificado conforme a su digestibilidad Englyst y Cummings (1992), en tres grupos: almidón fácilmente digerible, almidón parcialmente resistente y almidón resistente de acuerdo a esa clasificación.

Almidón fácilmente digerible es la fracción de almidón que causa un aumento rápido en el nivel de glucosa en sangre después de la ingestión. Químicamente se mide como almidón digerido a glucosa después de 20 min de incubación con α -amilasa, es principalmente las fracciones amorfas de almidón y puede ocurrir en grandes cantidades en alimentos recién cocinados. Almidón parcialmente resistente o de digestión lenta es la fracción de almidón que se digiere lentamente en el intestino delgado este tipo no puede ser interrumpido por α -amilasa salival; es hidrolizado por la α -amilasa pancreática y se descompone en oligómeros lineales y dextrinas límite, químicamente se mide como un almidón digerido en 100 min de incubación enzimática. El almidón resistente se define como la suma del almidón y los productos de degradación de todos los almidones no absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos. Químicamente, AR también se puede definir como la fracción de almidón no digerida después de 120 min de incubación con enzimas (Wanikar & Kotwal, 2021).

La resistencia a la digestión del almidón se atribuye principalmente a la particular estructura física, esto debido a una cantidad más alta de amilosa en relación con la amilopectina, la cual permite constituir una estructura más compacta y que es menos susceptible a la hidrólisis enzimática. Se ha reportado la importancia de la mayor relación amilosa: amilopectina en alimentos como la harina de maíz, que normalmente tiene un 25% de amilosa, donde el incremento en el contenido de amilosa a un 70% se asocia con un mayor contenido de almidón resistente. Otro aspecto muy importante que afecta la resistencia de este almidón es el tamaño y tipo de gránulo, donde el aumento en la densidad del almidón ramificado y la

estructura cristalina contribuyen a su propiedad de digestión lenta. Este tipo de almidón también implica beneficios a largo plazo en el control de la hiperlipidemia. En el colon, el almidón resistente aumenta el volumen fecal, reduce pH colónico y la porción fermentada por el intestino, se cree que el almidón resistente también proporciona un grado de protección contra el cáncer de intestino (Uzizerimana et al., 2021; Villarroel et al., 2018).

1.2.1 Tipos de almidón resistente

De acuerdo con Villarroel et al., (2018), el almidón resistente se clasifica en cinco tipos:

Tipo 1 (AR1), es almidón físicamente inaccesible se compone de gránulos de almidón rodeados por una matriz indigerible, son estables al ser expuestos a calor como las operaciones normales de cocción, permitiendo así su uso como ingrediente en una amplia variedad de alimentos convencionales. De manera natural se encuentra en granos enteros y legumbres

Tipo 2 (AR2), está representado por gránulos de almidón resistente a la digestión enzimática, ya que, en los gránulos de almidón crudo, la estructura compacta limita la accesibilidad de las enzimas digestivas. Se encuentra en alimentos crudos tales como papas y plátanos verdes.

Tipo 3 (AR3), es el almidón retrogradado formado durante el enfriamiento del almidón que ha sido procesado. La formación de este almidón se ha atribuido a la reorganización molecular de la amilosa (amilosa retrogradada) proveniente de un proceso de gelatinización. En este tipo de almidón resistente los principales factores que influyen a su resistencia son la composición del almidón, el producto de la matriz y el contenido de humedad.

Tipo 4 (AR4), almidones modificados químicamente, donde se hacen presentes nuevos enlaces químicos que son formados a través de esterificación,

reticulación o transglicosilación y los cuales no pueden descomponerse, ya que el proceso de modificación hace que la estructura sea inaccesible a la digestión por amilasas. Se utilizan como aditivos en gran variedad de productos alimentarios para mejorar la viscosidad y otras características tecnológicas y sensoriales.

Tipo 5 (AR5) en este tipo de almidón se forman complejos lípido-amilosa cuando la amilosa y las largas cadenas ramificadas de amilopectina interactúan con ácidos grasos y alcoholes. Estos complejos pueden formarse de distintas formas ya sea durante el procesamiento/cocción como es en el caso del pan que contiene grasa como ingrediente, o también artificialmente al agregarlos a los alimentos, como almidones altos en amilosa acomplejados con ácidos grasos.

1.3 Modificación de los almidones nativos

Existen algunas limitaciones funcionales del almidón nativo que pueden ser superadas modificando su estructura, para lo que se han desarrollado modificaciones químicas, enzimáticas y físicas aplicadas para cambiar la estructura granular de los almidones y regular su hinchamiento, gelatinización y solubilidad en agua fría. Con estos procesos se pretende modificar las propiedades de pasta, el poder de hinchamiento, la solubilidad, la formación de gel, entre otras, que posee el almidón nativo para lograr una mayor estabilidad de los alimentos que están sujetos a cambios de pH, temperatura y agitación mecánica durante el almacenamiento (Montano- Aragón, 2013).

La modificación del almidón es la causante de cambiar la forma y de mejorar los atributos de comportamiento del almidón nativo, mejorando así su calidad para tener diversas aplicaciones o también para satisfacer su necesidad de usos distintivos (Olawoye et al., 2022; Tupa, 2019)

Los almidones se modifican principalmente por 4 razones principales:

- Proveer atributos funcionales al alimento.

- Ajustar el tipo de modificación a algún proceso específico.
- Proveer una ventaja económica.
- Extender la vida de anaquel del producto.

1.3.1 Modificación química

En general, la modificación química redonda en una mayor estabilidad molecular al cizallamiento mecánico y a la hidrólisis ácida y térmica, se puede modular la viscosidad de las pastas y, entre otros beneficios, se reduce la tasa de retrogradación respecto de la del almidón nativo. La modificación química del almidón es generalmente alcanzada a través de reacciones de derivatización tales como eterificación, esterificación, entrecruzamiento (*cross-linking*) o de descomposición, como la hidrólisis ácida u oxidación del almidón (Leyva, Palma, Rodriguez, Lopez, & Vargas, 2019).

La modificación química del almidón está directamente relacionada con las reacciones de los grupos hidroxilo del polímero de almidón. Reacciones vía éter, formación de ésteres, oxidación y la hidrólisis de los grupos hidroxilos, son algunas de las tantas modificaciones químicas aplicables al almidón (Peñaranda-Contreras et al., 2008).

1.3.2 Modificación enzimática

La modificación enzimática del almidón es la hidrólisis de alguna parte del almidón en un almidón de bajo peso molecular llamado maltodextrina, o dextrina usando enzimas amilolíticas (Abbas, 2010). Los almidones modificados enzimáticamente atraen mucho la atención debido a su gran capacidad de adsorción por los poros formados. Contienen abundantes poros desde la superficie hasta el centro de los gránulos, que aumentan la superficie específica, actuando como excelentes absorbentes naturales. En la industria alimentaria, se

utilizan para retener aditivos, compuestos bioactivos, probióticos, entre otros (Leyva et al., 2019).

La modificación enzimática es un método ecológico, ya que posee una especificidad de producto y selectividad de sustrato, con la generación de menos subproductos dañinos. Investigaciones previas han reportado que la hidrólisis enzimática de los gránulos de almidón está influenciada principalmente por la estructura superficial, al igual que la distribución del tamaño de las partículas, la porosidad y la distribución de la longitud de la cadena ramificada de la amilopectina. También se ha comprobado que el comportamiento funcional de los almidones se relaciona directamente con la longitud de las cadenas de amilopectina (Ochoa-Martínez et al., 2021).

Debido a que la amilosa solo contiene un extremo no reductor para la acción de la enzima, un alto contenido de amilosa hace que el almidón no se hidrolice fácilmente. En cambio, la amilopectina tiene varios extremos no reductores que son más susceptibles a la hidrólisis enzimática y la cantidad de extremos no reductores depende de la longitud de la cadena ramificada y el grado de ramificación. Por lo tanto, el incremento del grado de ramificación y el número de cadenas laterales cortas de amilopectina, así como la reducción del contenido de amilosa incrementan el número de sitios de acceso para las reacciones de la amilasa (Ochoa-Martínez et al., 2021)

1.3.3 Modificación física

La modificación física implica la pre-gelatinización y el tratamiento térmico del almidón. Los almidones pregelatinizados son almidones precocinados que se pueden utilizar como espesantes en agua fría. Mientras que los procesos de tratamiento térmico incluyen tratamientos de calor-humedad y recocido, los cuales causan una modificación física del almidón sin ninguna gelatinización, daño a la integridad granular o pérdida de birrefringencia (Abbas, 2010).

El calentamiento del almidón en suspensión acuosa mejora tanto la hidrólisis ácida como la susceptibilidad a la acción de las enzimas amilolíticas, ya que cambia la estructura granular. Se ha observado que la sinéresis y la pre-gelatinización inducen cambios en el poder de hinchamiento, solubilidad y estabilidad durante el almacenamiento en almidones de banano, yuca, papa y maíz (Montano-Aragón, 2013). Modificar el almidón de forma física tiene grandes consecuencias ya que ayuda a mejorar su solubilidad en agua y reduce el tamaño de los gránulos de almidón. Las modificaciones físicas para el tratamiento de los gránulos nativos incluyen diferentes combinaciones de temperatura, humedad, presión, esfuerzo cortante y la irradiación (Leyva et al., 2019).

El uso de los almidones nativos en el procesamiento del alimento está limitado principalmente por su tendencia a retrogradar y presentar sinéresis, o bien por la inestabilidad de la viscosidad durante el procesamiento, debido a esto se han desarrollado procesos de modificación física a los almidones nativos. Estos estudios han contribuido al ampliar y mejorar la gama de sus propiedades funcionales, permitiendo así desarrollar nuevos productos, encontrar nuevas aplicaciones para cubrir los requerimientos de la industria dentro del procesamiento de alimentos (Rojas-del Muro, Perez, Ramos, de la Rosa-Millan, & Chavez, 2017).

Los métodos físicos hoy en día han ganado una amplia aceptación por su bajo costo, su gran seguridad al no producir subproductos químicos y su efectividad para mejorar la aplicabilidad del almidón. El recocido (annealing) y la modificación hidrotérmica (HMT) son los métodos más utilizados para alterar las propiedades del almidón, tales como la cristalinidad relativa, capacidad de absorción de agua y propiedades viscoelásticas, manteniendo sobre todo la integridad molecular del almidón (Martins et al., 2021; Zhou et al., 2021).

1.4 Modificación hidrotérmica (HMT) del almidón

La utilización del almidón como ingrediente alimentario se basa principalmente en la interacción del gránulo con el agua, a estos fenómenos se les conoce como procesos hidrotérmicos. Durante éstos se presentan fenómenos que cambian el comportamiento y la estructura del mismo (Montano- Aragón, 2013).

El tratamiento con calor y humedad (HMT) se ha utilizado recientemente para alterar la estructura y las propiedades fisicoquímicas del almidón. Las diversas condiciones de HMT exploradas hasta el momento para los almidones incluyen niveles bajos de humedad que van del 10-30% y con un calentamiento a altas temperaturas de 90-120 °C durante 15 min a 16 h. Este tipo de modificación se utiliza principalmente para inducir un reordenamiento estructural al alterar la estructura cristalina y disociar la estructura de doble hélice en la región amorfa esto sin alterar la estructura granular del almidón. Basado en estos cambios estructurales, HMT se ha utilizado para aumentar el contenido de almidón lentamente digestible y almidón resistente en el almidón gelatinizado. Las propiedades estructurales y fisicoquímicas del almidón después de la aplicación de HMT se han investigado ampliamente utilizando varias fuentes botánicas de almidón. Con anterioridad se ha demostrado que los efectos de la modificación HMT tienen gran variación con las fuentes de almidón, y los almidones de tubérculos fueron más susceptibles que los almidones de legumbres y cereales (C. Liu et al., 2020; Park et al., 2017).

La modificación de almidones por HMT ha tenido resultados positivos con tratamientos en almidones de camote y trigo al tener efectos reductores en el poder de hinchamiento y entalpía de gelatinización, también aumentó la temperatura de formación de pasta. En el caso del almidón de trigo, HMT disminuyó la cristalinidad, así como mejoró su contenido de ADL y/o AR en varios almidones. Este tratamiento hidrotérmico demostró ser eficaz para promover cambios en las propiedades de pasta del almidón nativo de plátano, mostrando así la sensibilidad

a este tratamiento. A través de HMT, trigo sarraceno tartario y sorgo mostraron alta estabilidad para tratamiento térmico y cizallamiento mecánico sin diferencia significativa en la estabilidad de la pasta (breakdown) y tendencia a la retrogradación (setback) , la cual es mejor durante tratamientos térmicos para la producción de productos en el procesamiento de alimentos (Han et al., 2021; Macêdo-Viana et al., 2022; Piecyk et al., 2018; Uzizerimana et al., 2021).

1.5 Almidón modificado

1.5.1 Características

El almidón modificado es una fuente renovable con capacidad filogénica que satisface aspectos de disponibilidad, biocompatibilidad, palatabilidad y propiedades funcionales, asegurando la calidad de los alimentos perecederos. Por lo anterior, el empleo de almidón modificado para elaborar películas y coberturas se ha usado para estabilizar las propiedades funcionales y nutritivas de los alimentos a nivel industrial (Zahedi et al., 2010).

1.5.2 Almidones modificados y su efecto en las propiedades del alimento

El almidón se ha modificado para ser utilizado principalmente en la industria, en este sentido el almidón modificado es el responsable de la mejora de propiedades de muchos productos procesados. En años recientes un informe de Mordor Intelligence, estimó que el mercado mundial de almidón modificado podría llegar a 13.18 mil millones de dólares para el 2024, con una tasa anual de crecimiento del 4.4% de 2019 a 2024 (Schafransk et al., 2021).

Los almidones modificados se utilizan ampliamente en la industria dado que actúan con mejor tolerancia al proceso, al calor, ácido y cizallamiento, estabilidad de vida útil prolongada y sensación en boca, espesante y texturizado con agua fría, viscosidad en caliente reducida y buena fuerza en geles, formación de película, textura brillante o crujiente, estabilidad de congelación / descongelación lo que permite a los fabricantes producir por adelantado o almacenar productos

durante más tiempo sin comprometer la experiencia sensorial (Zahedi et al., 2010). Los usos de almidones modificados en productos alimenticios se han dividido en subgrupos según sus aplicaciones funcionales. Se utiliza como sustituto de grasa en donde el almidón se puede modificar mediante hidrólisis para formar un sustituto de grasa. Un sustituto de grasa bastante conocido de la base de almidón es la maltodextrina junto con otros productos de hidrólisis de almidón. Este se usa ampliamente en productos bajos en grasa como margarina, mayonesa, productos lácteos y helados. Como componente alimenticio, la grasa contribuye al sabor, apariencia, textura y vida útil de los productos alimenticios. Los consumidores de hoy en día tienen mayor preocupación por el efecto adverso en la salud del consumo excesivo de ciertos tipos de compuestos en los alimentos esto ha resultado en cierto desarrollo de alimentos reducidos en grasas y carbohidratos altamente digeribles para mitigar el problema. Es difícil imitar la calidad de los productos tradicionales cuando se preparan alimentos bajos en grasa. Aunque se puede utilizar una combinación de ingredientes sin grasa con diferentes propiedades funcionales para reemplazar los atributos de calidad que se pierden cuando se elimina la grasa. Los almidones modificados también pueden ser utilizados como mejoradores de textura. Se han realizado varios estudios sobre el uso potencial de almidones modificados como mejoradores de textura en la industria alimentaria, los cuales pueden proporcionar frescura a alimentos como las galletas saladas y bizcochos, resistencia a la sinéresis en alimentos enlatados, masticabilidad deseada para ciertos alimentos y mejoras en la calidad de los productos extruidos (Abbas, 2010).

Por otra parte, el almidón resistente comercial es un almidón especial con alto contenido de amilosa que ha sido modificado mediante procesamiento bioquímico o físico para maximizar su contenido total de fibra dietética. El almidón resistente se considera como un tipo de fibra dietética, ya que puede brindar algunos de los beneficios de la fibra insoluble y algunos de los beneficios de la fibra soluble. Tiene muchas ventajas en comparación con la fuente tradicional de

fibra debido a sus cristales más pequeños que tienen baja capacidad de retención de agua, tamaño de partícula pequeño y sabor suave (Abbas, 2010).

El almidón modificado también se usa para dar estabilidad en condiciones de alta temperatura y cizallamiento, en los que regularmente los almidones nativos pierden su claridad y capacidad de retención de agua con el envejecimiento prolongado a baja temperatura, de igual forma la degradación por cizallamiento se encuentra en el procesamiento de alimentos, este problema se ha solucionado al modificar el almidón mediante acetilación con un contenido de acetilo de 0.5-2.5%, de esta forma se conserva la resistencia al cizallamiento y se mejora la estabilidad al envejecimiento en frío. Estos almidones modificados son de gran ayuda a la hora de encapsular aceites esenciales, se conoce que presencia de aire, luz, humedad y calor, generalmente la mayoría de los componentes del sabor en los alimentos son altamente volátiles y químicamente inestables. Para superar estos problemas, se han utilizado popularmente técnicas versátiles como las técnicas de microencapsulación. Explicado de una forma sencilla, una microcápsula es una pequeña esfera con una pared uniforme a su alrededor. Estos tipos de microcápsulas son creadas a partir de polímeros naturales tales como goma arábica, agar, cera, parafina, caseína, gelatina y, por supuesto, almidón modificado (Abbas, 2010).

Por otra parte, reportan que la modificación del almidón permite mejorar consistencia, poder aglutinante y estabilidad a cambios en el pH y la temperatura, además genera gelificación, dispersión y consistencia en los productos en los cuales interviene y en productos congelados, como el helado, también favorece la formación de emulsiones con componentes lácteos y no lácteos. Otro punto importante en la estabilización en la elaboración de helados es un proceso complejo y la presencia de cristales de hielo debido a la existencia de agua libre en el gel luego de la congelación es un defecto inaceptable. Por lo

cual se emplea una gama de productos entre ellos los almidones pregelatinizados con fines de estabilización (O. Pérez et al., 2017).

Estudios realizados sostienen que la acetilación es un método de sustitución, donde se implica la introducción de un grupo acetilo en la cadena principal de almidón poliméricos también se dice que la modificación por acetilación es la más idónea para alimentos congelados, mientras los almidones hidroxipropilados y pregelatinizados son de mejor aplicación en alimentos a temperatura de refrigeración (Vargas et al., 2016).

1.6 *Brosimum alicastrum* Sw. (Ramón)

1.6.1 Características del árbol

En el estado de Yucatán, el Ramón es un árbol perenne de porte mediano a grande de 12 hasta 20 m de altura y con un diámetro a la altura del pecho de hasta 1 m, es un tronco derecho con contrafuertes grandes, con ramas ascendentes y colgantes, presenta copa piramidal y densa. En árboles jóvenes su corteza externa es lisa y en adultos es áspera, frecuentemente escamosa en piezas grandes y cuadradas, de color gris clara a parda. La corteza interna es de color crema amarillento, fibrosa a granulosa, con abundante exudado lechoso, ligeramente dulce. Sus hojas son alternas simples de color verde oscuro y brillante con un tamaño de (2-7.5 cm de ancho por 4-18 cm de longitud), ápice agudo o notablemente acuminado en las hojas jóvenes, estas producen polen y la madera tiene albura de color crema amarillenta. Se reporta que las hojas tienen un porcentaje mayor al 60% de digestibilidad y contienen hasta el 13% de proteína. Este forraje se utiliza también como alimento para el ganado vacuno, caprino y porcino principalmente. De igual forma se le considera medicinal ya que el látex se usa diluido con agua para el asma y la bronquitis. Otro uso importante en la región es como árbol de sombra y ornato (CONAFOR, 2008).

Este árbol ha dado pie para la creación de una agroindustria que está probando el potencial de la especie, para ser utilizado como alternativa contra el hambre.

En cuanto a forraje, es altamente palatable, y contiene 37% de carbohidratos, 52.74% de fibra dietética, y 2.25% de grasas, con un aporte de 215 Kcal por cada 100 g de forraje. Tiene alto contenido de calcio, hierro, zinc y sodio, así como ácido fólico, vi-taminas B1 y B2 (Ramírez-Sánchez et al., 2017).

En el periodo clásico fue una de las fuentes de alimento más importantes para los mayas. Tradicionalmente, la fruta que da este árbol se recolectaba para consumirla cruda, de igual forma se elaboraban jugos y mermeladas (Pérez et al., 2014). Se destaca la importancia que tendrían para la agroindustria de alimentos las plantaciones de Ramón establecidas en el sureste de México, ya que garantizarían la materia prima para sus operaciones (Santillán et al., 2020).

1.6.2 Semilla de Ramón

La semilla de Ramón mide aproximadamente 1.5 a 2 cm de diámetro. La harina obtenida a partir de semillas de Ramón tiene un 12% de humedad, con una alta proporción de almidón (61%) y un 12.2% de proteína total. El contenido de almidón es similar al de las principales fuentes de almidón que se utilizan para los biocombustibles, incluidos los cereales (60 a 80% de almidón), legumbres (25 a 50% de almidón), tubérculos y raíces (60 a 90% de almidón) y frutas verdes e inmaduras (hasta un 70% de almidón (Olguin-Maciel et al., 2017; Pérez et al., 2014).

La harina elaborada a base de semillas de Ramón cuenta con un alto contenido de fibra, vitaminas B1, B2 y ácido fólico; así como rico en minerales como calcio, hierro, zinc y sodio; un aporte de 318 Kcal por cada 100 g de harina, a pesar de ser una especie de la que se alimentaron los mayas, en México no se le da la debida importancia. Por otra parte, en Centroamérica ya se le da el énfasis necesario y el enfoque en la seguridad alimentaria, es por eso que en la

actualidad se estudia la transformación de la semilla con la finalidad de elaboración de masa para tortillas (Ramírez-Sánchez et al., 2017).

Recientemente, la semilla del árbol de Ramón ha cobrado gran importancia comercial; una de las razones es por ser utilizada como una alternativa para la seguridad alimentaria. Hoy en día el almidón de la semilla de Ramón se ha propuesto como ingrediente alimentario, sus principales usos van desde bebidas fermentadas o calientes como el atole hasta utilizar las semillas tostadas y molidas, para confeccionar pan o tortilla. La semilla de Ramón tiene un considerable contenido de taninos, fibra dietética y almidón, lo que la hace una fuente de ingredientes funcionales y antioxidantes (Domínguez, García, Güemes, Totosaus, & Passaro, 2019).

Actualmente se ha reportado que existe una composición notablemente similar entre sorgo (*Sorghum vulgare*) y la harina de Ramón, especialmente en lo referente a proteína cruda y a extracto libre de nitrógeno. Siendo la harina de semilla de Ramón la de mayor contenido de fibra cruda y cenizas. En cambio en los aminoácidos de la harina de semilla de Ramón su contenido de lisina y de treonina es muy parecido con el de sorgo. Se estima el contenido de triptófano, el cual es un gran limitante en la alimentación animal, en la harina de semilla de Ramón se presenta tres veces superior al del sorgo (Lozano et al., 1978). El uso de este grano y semilla ha proporcionado beneficios en las dietas para cerdos y aves, ya que la similitud en la composición de ambos demostró tener un bajo contenido de energía metabolizable (alta ganancia de peso y eficiencia de conversión sin incrementar el consumo de alimento). Además, se ha reportado que la presencia de almidón resistente, de la harina de semilla de Ramón disminuyó el índice glicémico en mujeres de 25-30 años (Domínguez-Zárate et al., 2019; Ramírez et al., 1978).

En la actualidad la harina que se obtiene a partir de la semilla de Ramón contiene en la mayor proporción de sus nutrientes almidón, lo que indica un gran potencial

como materia prima, un ejemplo ha sido para la producción de bioetanol. Por otra parte, esta semilla es poco utilizada para el consumo humano (Olguin-Maciel et al., 2017).

1.7 Hipótesis

El tratamiento hidrotérmico (HMT) modifica propiedades funcionales del almidón obtenido de la semilla de Ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.), proporcionando un almidón con mejores propiedades en comparación con el almidón nativo, por lo que puede incrementar su potencial aplicación en la industria alimentaria.

1.8 Objetivos

1.8.1 Objetivo general

Obtener un almidón modificado a partir de la harina de semilla de Ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.) mediante tratamiento físico y evaluar sus propiedades funcionales con potencial aplicación como ingrediente alimentario.

1.8.2 Objetivos específicos

- Extraer y aislar almidón de harina de semilla de Ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.) y determinar su rendimiento y composición química.
- Modificar el almidón aislado de Ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.) mediante tratamiento hidrotérmico (HMT).
- Determinar las propiedades funcionales (índice de solubilidad, capacidad de absorción de agua y poder de hinchamiento) de almidón modificado de Ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.).
- Relacionar las propiedades funcionales del almidón modificado con aplicaciones tecnológicas para su uso en la industria alimentaria.

2. Materiales y Métodos

2.1 Obtención de harina de semilla de Ramón

La harina de semilla de *Brosimum alicastrum Sw.* (Ramón) fue adquirida una del Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), Mérida, Yucatán, indicando el proveedor que la semilla fue colectada en el sureste de Quintana Roo, donde hubo mucha lluvia y la cosecha fue muy abundante (cosecha de invierno 2019-2020). Las harinas de maíz (Maseca®) y trigo (Selecta®) fueron adquiridas en centros comerciales de la localidad.

2.1.1 Extracción de almidón

Para extraer el almidón nativo de la harina de semilla de Ramón primero se dejó reposar 500 g de la harina en una dispersión que contenía 5 L de bisulfito de sodio (ACS, Sigma-Aldrich®) durante 12 h. Se ajustó el pH a 10 con NaOH 1 N y se dejó reposar por 30 min a temperatura ambiente. La suspensión se tamizó en una malla No. 100 para separar el residuo grueso del líquido (almidón y proteínas), se lavó y se centrifugó hasta obtener el polisacárido, con el residuo se repitieron los pasos anteriores para poder obtener el máximo rendimiento del almidón de extraído de la harina de semilla de Ramón. Después del aislamiento, el almidón nativo de Ramón fue secado en una estufa (VWR®, mod. 1324) a 60 °C durante 24 h, se molió en una trituradora comercial (Nutribullet®, mod. NB-101B) y fue tamizado a través de una malla No. 100. El polvo resultante se almacenó en bolsas Ziploc®. Posteriormente la suspensión líquida (almidón y proteína) fueron tamizados de nuevo por una malla No. 120 donde se dejó precipitar la fracción líquida durante 30 min y después se retiró el sobrenadante. El líquido restante fue lavado 3 veces por re-suspensión con agua destilada para recuperar el almidón del último lavado, el cual se centrifugó a 3000 rpm por 10 min. Finalmente, después del aislamiento del almidón este fue secado en una estufa (VWR®, mod. 1324) a 60 °C durante 24 h, al terminar se molió con una trituradora comercial (Nutribullet®, mod. NB-101B), se pasó por una malla No.

100 y se almacenó en bolsas Ziploc® (Pérez, Ley, González, & Valdés, 2017). Para los almidones de trigo y maíz se siguió el mismo procedimiento antes descrito.

2.2 Composición proximal del almidón

2.2.1 Determinación de humedad

La determinación de humedad por secado en estufa se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua. Para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles. El principio operacional del método de determinación de humedad utilizando estufa y balanza analítica, incluye la preparación de la muestra, pesado, secado, enfriado y pesado nuevamente de la muestra (Nollet, 1996).

Se pesó el material por triplicado mediante una balanza analítica (OAHUS®, mod. PA163) en una cápsula a peso constante, se realizó de forma cuidadosa para evitar cualquier transferencia externa de humedad. Se tomaron 3 g de la muestra en una cápsula de porcelana, se colocaron en una estufa (VWR®, mod. 1324) a 105 °C por 5 h hasta la totalidad de deshidratación. Se retiró la muestra y se colocó en un desecador (Nalgene®) por 20 min hasta temperatura ambiente. El peso fue registrado, y el porcentaje de humedad se calculó en base a la Ecuación 1 (AOAC, 926.05) (AOAC, 2000).

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_2 - P_1}{m} \times 100$$

Ecuación 1

Donde:

P2 = peso de la capsula con la muestra húmeda, en gramos.

P1 = peso de la capsula con la muestra seca, en gramos.

m = peso de la muestra en gramos.

2.2.2 Determinación de cenizas

En este método toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a una temperatura que fluctúa entre los 550-600 °C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como cenizas (Nollet, 1996).

En una balanza analítica (OAHUS[®], mod. PA163) se pesó por triplicado un crisol a peso constante. Se pesó 1.5 g de la muestra en el crisol y se registró su peso. La muestra se incineró colocando el crisol en una placa de calentamiento (CIMAREC[®], mod. SP131325) hasta no tener emisiones de humo o vapores, el trabajo fue realizado en una campana de extracción (SAFEAIRE[®]). Posteriormente se colocó el crisol en una mufla (Furnace[®], mod. F47925) donde se calcinó a 550 °C por 6 h, hasta la obtención de una coloración blanquecina, después de ser calcinada la muestra se colocó en un desecador (Nalgene[®]) y se dejó enfriar por 20 min, se registró el peso de las cenizas obtenidas (AOAC, 930.22), finalmente se utilizó la Ecuación 2 para calcular el porcentaje de ceniza (AOAC, 2000).

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_2 - P_1}{m} \times 100$$

Ecuación 2

Donde:

P2 = peso del crisol con cenizas, en gramos.

P1 = peso del crisol vacío, en gramos.

m = peso de la muestra en gramos.

2.2.3 Determinación de proteína

El método se basa en la determinación de la cantidad de nitrógeno orgánico contenido de la muestra, comprende dos pasos consecutivos estos son la descomposición de la materia orgánica bajo calentamiento en presencia de ácido sulfúrico concentrado y el registro de la cantidad de amoníaco obtenida de la muestra. Durante el proceso de descomposición ocurre la deshidratación y carbonización de la materia orgánica combinada con la oxidación de carbono a dióxido de carbono. El nitrógeno orgánico es transformado a amoníaco que se retiene en la disolución como sulfato de amonio. La velocidad del proceso puede ser incrementarse adicionando sales que abaten la temperatura de descomposición (sulfato de potasio) o por la adición de oxidantes (peróxido de hidrogeno, tetracloruro, persulfatos o acido crómico) y por la adición de un catalizador (Nollet, 1996).

Para determinar el contenido de proteína se utilizó el método de Kjeldahl donde se pesaron 0.5 g de la muestra por triplicado en un papel encerado sin contenido de nitrógeno, se incluyeron todas las cifras decimales en el registro del peso. La muestra fue envuelta en papel encerado y se colocó en un tubo de digestión, se añadió una mezcla digestora la cual contiene $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (ACS, Merck®) y Na_2SO_4 (ACS, Merck®). Se adicionaron 10 mL de H_2SO_4 (ACS, JT Baker®) concentrado y al final se realizó una homogenización. El tubo se colocó en el digestor, el cual fue cubierto con un embudo. El calentamiento se realizó de forma paulatina por cada 20 min hasta llegar a los 400 °C, este fue realizado hasta alcanzar una coloración verde cristalino. Al tubo de digestión se añadieron 10 MI de H_2O destilada y se colocó en un extremo de un destilador semiautomático (LABCONCO®, Rapidstill II), mientras tanto en un matraz Erlenmeyer se prepararon 6 mL de ácido bórico al 4% con 5 gotas de indicador Shiro-Toshiro, el cual se colocó en el otro extremo del destilador con la punta inmersa en la mezcla. Se adiciono NaOH al 50% hasta la obtención de un color café, indicando la neutralización, se mantuvo por aproximadamente 3 min en ebullición y liberando amoníaco, el cual quedó retenido en la mezcla de ácido bórico hasta el

viraje de la mezcla a una tonalidad verde claro. La muestra se tituló con una solución de ácido clorhídrico HCl (37%, JTBaker®) 0.1N previamente valorada, hasta obtener un color azul grisáceo y posteriormente un color rosa-violeta, al terminar la titulación se registró el volumen utilizado de ácido (AOAC 2001.11). Para determinar el porcentaje de proteína se utilizó la Ecuación 3 (AOAC, 2000).

$$\% \text{ Proteína} = \frac{(V2 - V1) \times N \times 0.01 \times 100}{m} * \text{FEC}$$

Ecuación 3

Donde:

V2 = Volumen en mL de HCl utilizado en la titulación del problema

V1 = Volumen en mL de HCl utilizado en la titulación del blanco

N = Normalidad del HCl que se utilizara

m = Peso de la muestra en gramos

0.014 = Miliequivalentes del nitrógeno

FEC = 6.25

2.2.4 Determinación de grasa

El método de Soxhlet es una extracción semicontinua con disolvente donde una cantidad de disolvente rodea la muestra y se calienta a ebullición, una vez que dentro del Soxhlet el líquido condensado llega a cierto nivel es regresado al matraz de ebullición, la grasa se mide por pérdida de peso de la muestra o por cantidad de muestra removida (UNAM, 2007).

Se utilizó el método de Soxhlet para la determinación de grasa. Para la extracción del material etéreo se utilizó una muestra sin humedad por triplicado. Se peso en un papel filtro 0.5 g de muestra seca y posteriormente fue colocada dentro de un dedal de celulosa para después colocarlo en el equipo extractor (FOSS Soxtec™, mod. 2043). Se añadieron 40 mL de hexano (ACS, Golden Bell^{MR}) en un vaso de

aluminio puesto previamente a peso constante. Los vasos fueron asegurados sobre la placa térmica del equipo. Se obtuvo una condensación del solvente por enfriamiento con agua a corriente. La muestra se sometió a una extracción por reflujo durante 1 h y 30 min. Finalmente, los vasos de aluminio conteniendo la materia grasa se colocaron en la estufa (VWR®, mod. 1324) a 105 °C por 15 min y después de haber eliminado los residuos del solvente y a temperatura ambiente se pesaron los frascos. El porcentaje de grasa obtenida del extracto etéreo se determinó en base a la Ecuación 4 (AOAC, 2000; Martínez, 2020).

$$\% \text{ Grasas} = \frac{P_2 - P_1}{m} \times 100$$

Ecuación 4

Donde:

P2 = peso del matraz con grasa en gramos

P1 = peso del matraz vacío en gramos

m = peso de la muestra en gramos

2.2.5 Carbohidratos totales

Se realizó el método de diferencia para determinar los carbohidratos totales el cual consistió en la determinación individual de proteína, grasa, agua y cenizas para posteriormente ser sumados y restados a 100. La Ecuación 5 se utilizó para el cálculo de carbohidratos totales (AOAC, 2000).

$$\begin{aligned} & \% \text{ Carbohidratos totales} \\ & = 100 - (\text{Proteína} + \text{grasa} + \text{cenizas} + \text{humedad}) \end{aligned}$$

Ecuación 5

2.3 Modificación Hidrotérmica (HMT)

El tratamiento con calor y humedad (HMT) se ha utilizado recientemente para alterar la estructura y las propiedades fisicoquímicas del almidón. Las diversas condiciones de HMT exploradas hasta el momento para los almidones incluyen niveles bajos de humedad que van del 10-30% y con un calentamiento a altas temperaturas de 90-120 °C durante 15 min a 16 h. Este tipo de modificación se utiliza principalmente para inducir un reordenamiento estructural al alterar la estructura cristalina y disociar la estructura de doble hélice en la región amorfa esto sin alterar la estructura granular del almidón (Park et al., 2017).

La HMT se realizó siguiendo el método de Liu et al. (2015) con modificación. El nivel de humedad de las muestras de almidón se elevó al 10%, 20% y 30% añadiendo la cantidad requerida de agua destilada seguido de una mezcla completa del contenido. Las muestras se colocaron en frascos de vidrio que fueron sellados y se metieron a la estufa (VWR[®], mod. 1324) por 3 h a 120 °C las cuales se homogenizaron cada 45 min, después se sacaron las muestras y se dejaron enfriar en un desecador (Nalgene[®]). Luego, de enfriar, las muestras de almidón se pasaron a bolsas Ziploc[®] para su posterior análisis (Marboh & Mahanta, 2021).

2.4 Almidón resistente

El contenido de almidón resistente se determinó con base en el método (AOAC 2002.02). Se pesaron 100 mg de muestra por duplicado en una balanza analítica (OAHUS[®], mod. PA163) directo en tubos de polipropileno con tapa rosca se aseguró que la muestra caiga al fondo. Se añadió 3.5 mL de buffer de maleato (ACS, Sigma-Aldrich[®]), después se taparon los tubos, para homogenizar en un vórtex por 5 s. También se añadió 0.5 mL de una solución de α -amilasa pancreática y amiloglucosidasa PAA/AMG (Megazyme[®], K-RSTAR) a cada tubo, se aseguró que estén bien tapados, después serán incubados a 37 °C con agitación continua (200 strokes x min) por 4 h exactamente, realizando una

agitación en vórtex cada 5 min. Se removieron los tubos uno por uno al igual que el exceso de agua de la superficie con una toalla de papel. Se añadieron 4 mL de etanol 95% v/v (96°, AZ®) a cada tubo, para taparlos y mezclar el contenido en vórtex. Se centrifugó los tubos a 3250 g (4000 rpm) por 10 min en una centrifuga (IEC HN-SII, mod.120), inmediatamente después de centrifugar, se decantaron los tubos cuidadosamente (en ángulo de 45°) asegurándose de que los pellets no se muevan. Se re-suspendieron los pellets en 2 mL de etanol al 50 % v/v (96°, AZ®) se agitó en vórtex. Después se añadieron 6 mL de etanol 50%, para mezclar fuerte por inversión, se aseguró que el agua atrapada en la tapa baje y se removieron las tapas para centrifugar a 3250 g por 10 min. Se decanto nuevamente el sobrenadante y se repitió la suspensión con etanol una vez más.

Medición de almidón resistente: Se agrego un agitador magnético (6 x12 mm) y 2 mL de KOH (ACS, Sigma-Aldrich®) frío a cada tubo con pellets y se disolvió el AR agitando por aproximadamente 20 min en un baño de hielo en placa magnética. Posteriormente se añadieron 8 mL de buffer de acetato 1 M (ACS, Sigma-Aldrich®) pH 3.8 a cada tubo con agitador magnético, inmediatamente se añadieron 0.1 mL de AMG, se mezcló bien y se colocaron los tubos en un baño de agua a 50 °C durante 30 min con agitación intermitente y se mezcló con un vórtex cada 5 min. (En caso de que las muestras tengan más de 10 % de AR: Se transferirá el contenido de los tubos a matraces volumétricos de 100 mL donde se mantendrá el agitador magnético en los tubos mientras se lavan y se transfieren a los matraces). El volumen se ajustó a 100 mL en matraces volumétricos. Se centrifugaron alícuotas de las soluciones a 13 000 rpm por 5 min. Si las muestras contienen menos de 10 % de AR se centrifugan las alícuotas directamente (~ 2 mL) de los tubos, a 13 000 rpm por 5 min (sin diluir). Para estas muestras, el volumen final en el tubo (antes de sacar la alícuota) fue de aproximadamente de 10.3 mL. Las alícuotas se transfirieron de 0.1 mL (por duplicado) de los sobrenadantes de los pasos anteriores a tubos de vidrio, y se añadieron 0.375 mL de GOPOD (Megazyme®, K-RSTAR) para ser incubadas a 50 °C por 20 min en un espectrofotómetro (BIORAD®, mod. QS-408M) donde se

midió la absorbancia de cada tubo a 510 nm (más un blanco de agua). Se prepararon estándares de glucosa por cuadruplicado los cuales se mezclaron con 0.1 mL de D-glucosa (1 mg/mL) y 0.375 mL de GOPOD, estas soluciones fueron incubadas a 50 °C durante 20 min al mismo tiempo que las muestras. El almidón resistente fue calculado con la Ecuación 6 (Megazyme, 2019).

$$AR = Abs \times Fabs \times \frac{\text{Volumen extraccion de muestra}}{\text{Peso de la muestra (mg)}} \times 0.9$$

Ecuación 6

2.5 Propiedades funcionales del almidón

2.5.1 Índice de solubilidad en agua (ISA) y poder de hinchamiento (PH)

Las propiedades del almidón de ISA y PH evidencian las interacciones entre las cadenas de almidón de estructuras cristalinas y amorfas Martins et al., 2021).

Se utilizó una muestra de almidón (W_1 0.5 g) pesada en una balanza analítica (OAHUS[®], mod. PA163) fue dispersada en 20 mL de agua destilada usando un vidrio de reloj y se calentó a, 60, 70, 80 y 90 °C durante 30 min en un baño de agua (LAB-LINE, mod. 18800). La pasta cocida se enfrió a temperatura ambiente y se transfirió a tubos de ensaye, y luego se centrifugó en una centrifuga (IEC HN-SII, mod.120) a 3551 g durante 15 min. Después de la centrifugación, se anotó el peso del residuo húmedo o sedimento (W_2) mientras que el sobrenadante se decantó cuidadosamente en un plato de evaporación pre-pesado (W_3), se secaron en una estufa (VWR[®], mod. 1324) durante la noche a 105 ° C hasta que se alcanzó un peso constante (W_4) y su diferencia fue el peso del sobrenadante seco (W_5). Por último, se calculó el ISA y PH de acuerdo con las Ecuaciones 7 y 8, respectivamente (Marboh & Mahanta, 2021).

$$ISA (\%) = (W_5/W_1) \times 100$$

Ecuación 7

$$PH (g \text{ agua}/g \text{ almidón}) = W_2/(W_1 - W_5)$$

Ecuación 8

2.5.2 Capacidad de absorción de agua (CAA)

Se pesó 1 g (W_1) en una balanza analítica (OAHUS[®], mod. PA163) de almidón de semilla de Ramón en un vaso de precipitado al cual se le añadió 10 mL de agua destilada y se agitó la mezcla durante 30 min a 30 ± 1 °C, luego fue centrifugada en una centrifuga (IEC HN-SII, mod.120) la suspensión a 3551 g durante 15 min y se decantó el sobrenadante. Finalmente se anotó el peso del sedimento mojado por agua (W_2). La cantidad de agua (WAC) unido por el almidón fue determinada por diferencia y luego se expresó en términos de g de agua absorbidos por g de almidón utilizando la Ecuación 9 (Marboh & Mahanta, 2021).

$$CAA (g \text{ agua}/g \text{ almidón}) = (W_2/W_1)$$

Ecuación 9

2.6 Análisis de datos

El análisis de los datos obtenidos se realizó primero con una prueba de Levene para probar la homocedasticidad de estos. Posteriormente se realizó un ANOVA de una vía con comparaciones múltiples Fisher, utilizando el software XLSTAT versión 2020.5.1 (Addionsoft, Francia). El criterio para significancia que se utilizó fue de $p < 0.05$. Los resultados se presentan como valores medios \pm desviación estándar (DE).

3. Resultados y Discusión

3.1 Rendimiento de almidón

Se determinó el rendimiento de los almidones aislados (AHT, AHM, y AHR), los resultados se muestran en el Cuadro I. El almidón que presentó mayor rendimiento fue el almidón extraído de la harina de trigo, seguido del almidón extraído de la harina de semilla de Ramón y finalmente el almidón extraído de la harina de maíz fue el de menor porcentaje.

Cuadro I. Rendimiento de almidón extraído.

Tipo de almidón	Almidón extraído (%)
AHT	60.0
AHM	12.0
AHR	31.2

AHT-almidón de la harina trigo, AHM-almidón de la harina de maíz, AHR-almidón de la harina de semilla de Ramón.

El rendimiento de almidón extraído de la harina de Ramón fue muy similar al almidón obtenido por Mantilla-Roldan (2018) de la semilla de *Persea americana* Mill. var. Hass, siendo este último levemente mayor con 31.76 %. Por otro lado Ortiz (2019) obtuvo un rendimiento de 28.1% en almidón de semilla de mango (*Mangifera indica*) menor al del extraído de la semilla de Ramón, el cual fue mayor al extraído de la harina de maíz. El rendimiento del almidón proveniente de la harina de semilla de Ramón se encuentra por encima del porcentaje mínimo para ser considerado como una fuente para la obtención de almidón (30%) (Villarroel et al., 2018). Cabe mencionar que el rendimiento de estos almidones puede depender de la fuente botánica y de la técnica de extracción utilizada para cada almidón.

3.2 Análisis proximal de almidones

En el Cuadro II se muestran los resultados del análisis de la composición de los almidones estudiados. Los resultados indicaron una diferencia significativa de humedad en los almidones de estudio, mostrando el almidón de Ramón (AHR) un mayor contenido de humedad (8.9 ± 0.2 %) que el almidón de maíz (AHM) (7.1 ± 0.1 %), pero menor que el almidón de trigo (AHT) (9.3 ± 0.1 %). Debido a esta diferencia en humedad el contenido de demás macronutrientes de los almidones se analizó en base seca.

Cuadro II. Composición proximal de los almidones en base seca.

	AHT	AHM	AHR
Cenizas (%)	0.4 ± 0.0^c	0.6 ± 0.0^b	0.9 ± 0.0^a
Proteínas (%)	6.3 ± 0.2^a	3.2 ± 0.1^b	0.2 ± 0.0^c
Grasas (%)	0.20 ± 0.0^c	0.39 ± 0.0^b	0.40 ± 0.0^a
Carbohidratos totales (%)	93.0 ± 0.2^c	95.7 ± 0.1^b	98.5 ± 0.0^a

Valores medios \pm DE. AT-almidón de trigo, AM- almidón de maíz, AR-almidón de Ramón. DE= 0.0 significa que es <0.1 . Letras diferentes indican diferencia significativa a $p < 0.05$.

El AHR se caracterizó por tener el mayor contenido de cenizas seguido por AHM y finalmente AHT ($F(2,6) = 4631.2$, $p < 0.01$). Por el contrario, AHR se caracterizó por el menor contenido de proteína, seguido por AHM, mientras que AHT tuvo el mayor en porcentaje ($F(2,6) = 1546.5$, $p < 0.01$). Todos los almidones mostraron un bajo contenido de grasa, sin embargo, AHR tuvo el mayor contenido, seguido por AHM y finalmente AHT ($F(2,6) = 4285.5$, $p < 0.01$). En carbohidratos totales por su parte nuevamente AHR indicó el mayor contenido, seguido por AHM y finalmente AHT ($F(2,6) = 1226.1$, $p < 0.01$).

La composición proximal de los almidones estudiados fue similar a la que reportó Pérez-Pacheco et al. (2014) en almidones de Ramón y maíz. En humedad las tres muestras presentaron valores menores al 10%, lo cual es óptimo, ya que comercialmente solo se permiten valores menores de 20% en el almidón como

materia prima Wolfgang et al. (1999). El contenido de humedad del almidón obtenido de la semilla de Ramón fue similar al reportado por de Dios-Avila et al. (2022) para el almidón de semilla de aguacate (8.5%). El contenido mineral fue bajo en todas las muestras, no obstante, AHR tuvo el mayor contenido, aún comparado con el reportado por de Dios-Avila et al. (2022) y por Sánchez-Banda (2019) para el almidón de semilla de aguacate (0.07% y 0.45%, respectivamente). Para almidón de maíz Hernández-Medina et al. (2008) reportaron valores de 0.06 % valor similar al obtenido. El mayor porcentaje de cenizas en AHR en comparación a los demás almidones puede deberse al tipo de suelo en el que crece el árbol Ramón. Pietrzyk et al. (2013) concluyeron que número de compuestos minerales incorporados, así como los cambios en los parámetros fisicoquímicos determinados dependían del origen botánico del almidón y del tipo de elemento mineral donado, por lo tanto, al crecer en suelos de tipo someros y pedregosos se tiene mayor susceptibilidad a incrementar el contenido de minerales en las semillas de Ramón.

En contenido de proteínas AHR (0.2%) presentó un valor ligeramente mayor a lo presentado por Pérez-Pacheco et al. (2014) en almidón de Ramón (0.12%), y muy similar en almidón de maíz (0.10%) Hernández-Medina et al. (2008). De igual forma Granados et al. (2022) observaron bajos contenidos de proteína cruda en almidón de yuca (0.06%). Sin embargo, en el almidón de sagú se observa un mayor porcentaje de proteína (0.65%), por lo que es importante señalar que el bajo contenido de proteínas contribuye a obtener una alta pureza de almidón, el porcentaje de proteínas que se obtuvo en AHR se puede considerar óptimo para la producción de jarabes con alto contenido de glucosa ya que el porcentaje de proteínas establecido por la FDA para el almidón de maíz es de 0.4% (Hernández-Medina et al., 2008). Estos residuos remanentes presentes en el almidón aislado pueden deberse a diferentes interacciones binarias o ternarias que favorecen su unión con el almidón. Las proteínas, principalmente en forma de aminoácidos y enzimas, son el componente

predominante en la matriz alimentaria, aparte del almidón y la grasa, además de su función nutrimental, las proteínas actúan como la estructura y soporte principal en una matriz alimentaria y, por lo tanto, también actúan como una barrera física para que se lleve a cabo la hidrólisis del almidón durante la digestión. Se ha reportado que existe una correlación entre la reducción de la respuesta insulinémica y glucémica al aumentar el contenido de proteínas en los cultivos ricos en almidón debido a una posible interacción almidón-proteína. Entre los diferentes tipos de proteínas, la albúmina, las gluteninas y las globulinas ayudan a unir los cuerpos proteicos en una matriz que envuelve los gránulos de almidón, que actúan como una barrera para la digestión del almidón. La existencia de una barrera proteica que rodea el gránulo de almidón se validó utilizando la enzima pronasa que disocia la matriz proteica y da como resultado un aumento considerable de la digestibilidad del almidón *in vitro*. Diversos estudios han reportado que la presencia de gluten tiene un impacto en el ritmo de la digestión del almidón, lo que resulta en una respuesta glucémica reducida. El gluten desarrolla una red viscoelástica y gruesa que atrapa los gránulos de almidón, así como como una estructura compacta y estable que evita que los gránulos de almidón se expandan y se filtren durante la cocción, lo que reduce la accesibilidad de las enzimas y genera una liberación lenta de glucosa (Cai et al., 2021).

También se ha descubierto que las formulaciones de alimentos enriquecidos con proteínas afectan el índice glucémico (IG) y, por lo tanto, ayudan a desarrollar alimentos aptos para diabéticos (Krishnan et al. (2022). Existen distintas interacciones donde las proteínas junto con la amilosa y lípidos pueden auto ensamblarse formando complejos ternarios, produciendo una estructura con mayor cristalinidad que complejos binarios (almidón-lípidos) (Cai et al., 2021).

El almidón es el principal carbohidrato que genera azúcar en la sangre en los alimentos. El aumento de los contenidos de almidón resistente AR y almidón de digestión lenta y la reducción de la tasa de digestión del almidón contribuyen a reducir el índice glucémico de los alimentos y los riesgos de enfermedades

relacionadas con la dieta, como la diabetes, la obesidad y las enfermedades cardiovasculares (Zhen et al., 2022).

Las interacciones del almidón con los lípidos y las proteínas normalmente restringen la digestión del almidón. Las cadenas de amilosa pueden interactuar hidrofólicamente con los lípidos (como los ácidos grasos y los monoacil lípidos) para formar hélices únicas levóginas con seis a ocho unidades de glucosa por vuelta. La formación de complejos helicoidales de almidón y lípidos individuales mejora la resistencia o las características de digestión lenta del almidón sometido a digestión enzimática (Zhen et al., 2022).

La presencia de proteínas (p. ej., proteínas de arroz, suero y soya) puede suprimir la digestión del almidón al aumentar el contenido de AR y reducir la tasa de digestión. La formación de complejos de almidón-proteína-lípidos ha sido revelada y está relacionada con las interacciones moleculares entre componentes como las fuerzas electrostáticas, de enlaces de hidrógeno e hidrofóbicas. Los complejos ternarios pueden desempeñar un papel en la restricción de la digestión del almidón (Zhang et al., 2021).

En contenido de grasas AHR presentó 0.4%, valor que está ligeramente por abajo del reportado por Pérez-Pacheco et al. (2014) (0.47%) en almidón de la misma fuente. El contenido de grasa para AHM (0.39%) fue menor a lo que reportó Pérez-Pacheco et al. (2014) para almidón de maíz (0.49%) y similar a lo reportado por Hernández-Medina et al. (2008), para el mismo almidón (0.35%). La presencia de lípidos puede deberse a las interacciones que puedan existir de complejos almidón-lípido las cuales se ven influenciadas por interacciones no covalentes (puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals, etc.). Se ha demostrado que la amilosa es el principal componente de interacción con moléculas de lípidos. La estructura lipídica es un factor clave que afecta la formación de complejos almidón-lípido-proteína. Los ácidos grasos con una longitud de cadena más corta y un menor grado de insaturación favorecen la

formación de complejos entre el almidón y los lípidos por beta-lactoglobulina (β LG). El efecto de la longitud de la cadena y el grado de insaturación de los ácidos grasos en la formación y el orden estructural de los complejos ternarios es menor que el de los complejos binarios. Recientemente se ha demostrado que el tipo de lípidos (endógenos y exógenos) tiene un efecto en el incremento de los complejos de almidón-lípidos que enriquece el contenido de almidón resistente (AR) en el arroz, ya que la digestibilidad del almidón se ve comprometida por los lípidos, reduciendo el poder de hinchamiento de los gránulos y por tanto se reduce el contacto con las enzimas amilolíticas, además de alterar la estructura molecular del tipo A al patrón resistente tipo V. La larga cola hidrofóbica de lípidos que ingresa a la estructura de amilosa permite que el almidón forme un complejo estable, lo que dificulta el ataque enzimático al almidón (Krishnan et al., 2022).

En el caso de los carbohidratos totales, estos son el principal constituyente, AHR (98.5%) obtuvo el mayor porcentaje por encima de AHT y AHM (93.0 y 95.7%, respectivamente). El contenido de carbohidratos totales de AHR es muy similar al de almidones como yuca, sagú, maíz y camote (98.4, 98.7, 98.9 y 98.9%, respectivamente) (Hernández-Medina et al., 2008).

Los carbohidratos totales corresponden a la suma entre los carbohidratos disponibles (azúcares, almidones) y la fibra dietética. Hay dos tipos de fibra dietética la fibra soluble que es responsable de acciones sobre el metabolismo lipídico, hidrocarbonado y en parte su potencial anticarcinogénico y la fibra insoluble que produce un aumento de la masa fecal acelerando el tránsito intestinal por lo cual se emplea en el tratamiento y prevención de la constipación crónica. Por otra parte, también contribuye a disminuir la concentración y el tiempo de contacto de potenciales carcinogénicos con la mucosa del colon (Escudero & Gonzalez, 2006). En la alimentación humana, la semilla de Ramón ha demostrado ser un alimento alto en fibra dietética (13%) en comparación con el trigo 9.6%. La semilla de Ramón contiene 71.2% de extracto libre de nitrógeno

(azúcares, almidones), considerándose como semilla fuente de almidón (Mex-Álvarez et al., 2016; Sarmiento-Franco et al., 2022).

3.3 Almidón resistente (AR)

Se determinó el contenido de almidón resistente en los almidones nativos y modificados. En los almidones nativos AHR mostró un contenido significativamente mayor de AR ($t_{vd}=-18.2$, $p<0.01$) en comparación con AHT, mismo caso para AHM ($t_{vd}=-20.2$, $p<0.01$) lo cual se muestra en la Figura 6. Se observó que el AHR nativo contiene 14.5 y 6.4 más veces AR, que AHM y AHT, respectivamente.

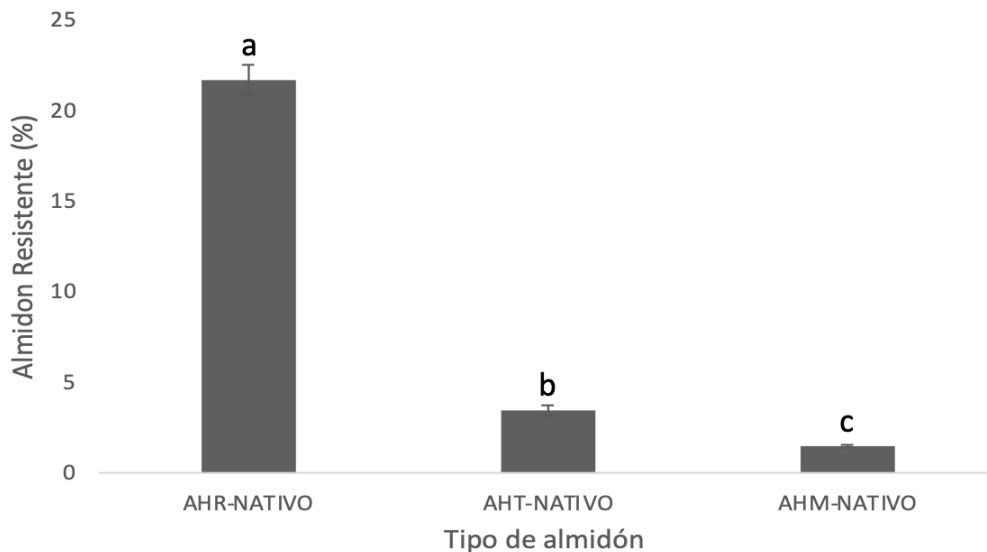


Figura 6. Contenido de almidón resistente en almidones nativos. Valores medios \pm DE. AHR- almidón de harina de semilla de Ramón, AHT- almidón de harina de trigo, AHM- almidón de harina de maíz.

Por otra parte, se observó el efecto de la modificación física por HMT en la fracción de AR en los diferentes almidones tratados. Nuevamente esta fracción fue mayor en el AHR en comparación con AHT y AHM, además, el incremento de humedad en el tratamiento de modificación se relacionó directamente con el incremento de la fracción de AR (Figura 7). El AHR modificado con 30% de humedad fue el que mostró la mayor fracción de AR (33.3 %), seguido del

tratamiento modificado con 20% de humedad (25.0 %) y finalmente el modificado 10% humedad (22.6 %). En este sentido, el tratamiento HMT favoreció el incremento de la fracción de AR en los almidones de estudio al modificar la estructura del almidón reordenando las cadenas tanto de amilosa y amilopectina formando una estructura más compacta que restringe la entrada de moléculas de agua, por lo tanto, se limita la difusión de agua hacia dentro del gránulo limitando a su vez la gelatinización, evitando el completo hinchamiento de los gránulos, y disminuyendo la susceptibilidad del almidón a la hidrólisis enzimática (Birt et al., 2013)

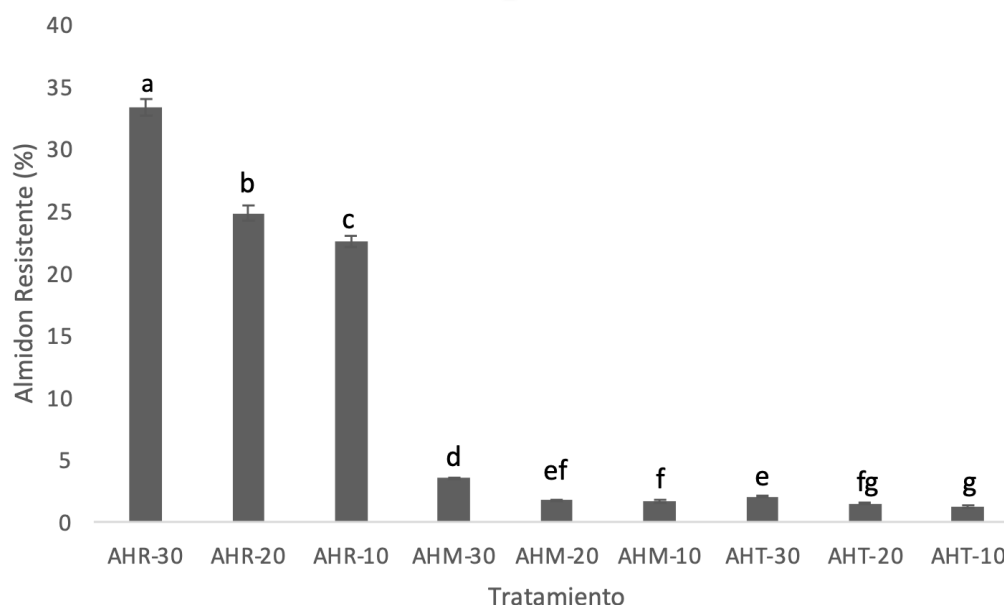


Figura 7. Contenido de almidón resistente en almidones modificados. Valores expresados en medias \pm DE. AHR- almidón de harina de semilla de Ramón, 10- HMT 10% de humedad, 20- HMT- 20% de humedad, 30 – HMT 30% de humedad. Letras diferentes indican diferencia significativa a $p < 0.05$.

Un análisis particular del AHR indicó que la fracción de AR se incrementó con el tratamiento HMT con respecto al AHR nativo ($F(3,28)=554.004$, $p < 0.01$) en 4.1% para el AHR modificado a 10% de humedad, 14.3% para el AHR modificado a 20 % de humedad y 53.5 % para el AHR modificado a 30 % humedad,

encontrándose diferencias significativas entre todos los tratamientos y el AHR nativo (Figura 8).

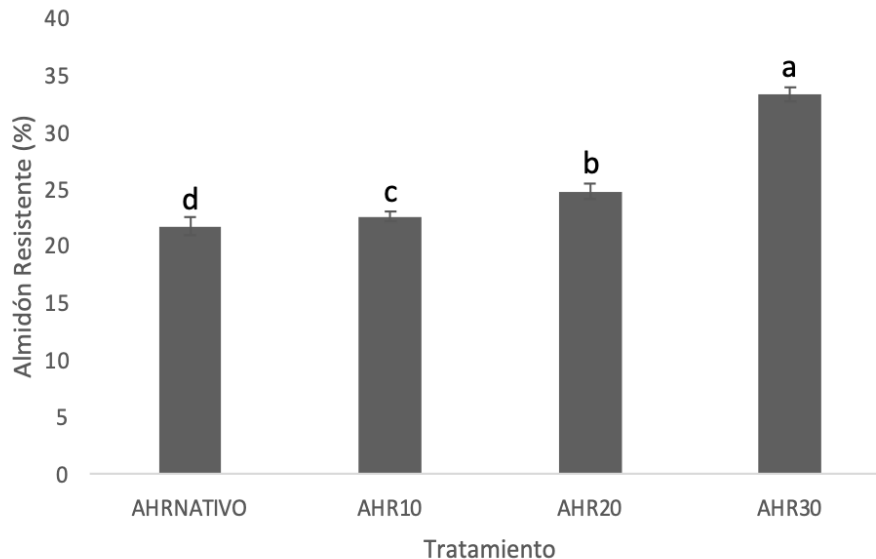


Figura 8. Contenido de almidón resistente en almidón de harina de semilla de Ramón nativo y modificado por HMT a diferentes contenidos de humedad. Valores medios \pm DE. AHR- almidón de harina de semilla de Ramón, AHR10- 10% de humedad, AHR20- 20% de humedad, AHR30 - 30% de humedad. Letras diferentes indican diferencia significativa a $p < 0.05$.

El contenido de almidón resistente que muestra el AHR nativo (21.7 %) está dentro del contenido de AR reportado en almidones no convencionales como la harina de plátano verde (16-24 %) Pacheco-Delahaye & Testa. (2005) y similar al de algunas leguminosas como el frijol negro y lentejas (17.7 y 25.4 %, respectivamente) o cereales como la cebada (25.2 %) y mayor que el de granos como el trigo y arroz (13.6 y 14.1 %) Wanikar & Kotwal. (2021). El almidón nativo de Ramón (AHR) es una importante fuente de almidón resistente, no obstante, después de la modificación por HMT 30% humedad, su contenido se incrementó significativamente (22.6 a 33.3 %), lo cual es similar a almidones modificados como el almidón de papa (24.1 a 30.6%) después de realizar una modificación HMT en condiciones distintas de humedad de 10, 15 y 20 % a una temperatura de 121°C (Luga & Mironeasa, 2019).

Por otro lado, el almidón de maíz, al cual también se le realizó una modificación HMT presentó un incremento de AR (2.1 a 4.2%), mientras que para el almidón de trigo fue de (4.8 a 8.4%) siendo los dos porcentajes menores en comparación a AHR (Luga & Mironeasa, 2019). Existen distintos factores que pueden influir en los diferentes contenidos de AR, tal es el caso del origen botánico, las interacciones con otros componentes del almidón, la estructura de los gránulos de almidón, la presencia de otros componentes o antinutrientes como lo son, el ácido fítico, la linamarina, el procesamiento y las condiciones de almacenamiento (Miranda-Villa et al., 2013).

El almidón resistente (AR) es un tipo de fibra que puede clasificarse como intrínseca a las plantas ricas en almidón o aislada para funcionar como ingrediente (Patterson et al., 2020). Es importante señalar que el almidón resistente (AR) es la fracción de almidón que escapa de la digestión en el intestino delgado y es fermentado en el colon. Químicamente, AR puede ser definido como la fracción de almidón no digerido después de 120 min con enzimas amilolíticas (Wanikar & Kotwal, 2021). Como hidrato de carbono, el AR es un tipo de fibra soluble que además de actuar como un ingrediente capaz de otorgar características tecnológicas a los alimentos, se ha asociado a beneficios fisiológicos sobre la salud (Villarroel et al., 2018).

Es importante mencionar que la función botánica del almidón es proporcionar a las plantas una reserva estable de glucosa para el metabolismo. La digestibilidad del almidón es un parámetro importante para cumplir esta función. Las reservas de glucosa deben almacenarse en una estructura fácilmente disponible para la planta, pero capaz de sobrevivir durante largos periodos de tiempo en órganos de almacenamiento como semillas o tubérculos. La estructura del almidón es compleja y muy variable; sin embargo, el aspecto estructural que más influye en la digestibilidad es el grado y tipo de cristalinidad del gránulo. El almidón de cadenas largas y lineales tiende más a formar estructuras cristalinas que el

almidón de cadenas cortas y muy ramificadas. Dado que el componente amilosa del almidón está menos ramificado que la amilopectina, el almidón con alto contenido en amilosa tiende a ser más resistente a la digestión que el almidón con bajo contenido en amilosa (Birt et al., 2013).

El contenido de AR de los alimentos puede verse alterado por diversos factores, como la variedad botánica del almidón, el método de preparación o cocción, la temperatura y duración del almacenamiento y la temperatura de servicio en el alimento preparado. Por ejemplo, una mayor proporción de amilosa y amilopectina en el gránulo de almidón puede compactarse en determinadas condiciones y volverse resistente a la hidrólisis. Las concentraciones de AR también pueden verse influidas por el medio ambiente, la selección natural y las mutaciones (Patterson et al., 2020).

La variación en el contenido de AR dentro de cada categoría de alimentos puede estar influenciada por varios factores. Alguno de estos factores puede ser las técnicas de cultivo debido a que pueden aumentar la proporción de amilosa y amilopectina del gránulo de almidón, según bases de datos, los granos con alto contenido de amilosa tienen 10 veces más AR. Por otro lado, la papa y el arroz blanco cocidos con alto contenido de amilosa tienen 4 veces más cantidad de AR que las variedades con bajo contenido de amilosa (Patterson et al., 2020).

Un gran número de almidones con AR se utilizan en la industria alimentaria como aditivo alimentario. En el mercado también se pueden encontrar muchos productos básicos conteniendo AR. Las propiedades funcionales y los beneficios fisiológicos que proporcionan los distintos almidones resistentes, como la baja retención de agua facilitan su propio procesamiento y control. Las fuentes naturales, el sabor insípido, el color blanquecino, la buena estabilidad de la viscosidad y las propiedades reológicas, así como la baja capacidad de retención de agua del AR, garantizan el cumplimiento de los requisitos funcionales de la

industria de las bebidas. El AR, que actúa como modificador de la textura, se añade a una gran variedad de alimentos horneados, lo que confiere al pan rallado unas propiedades favorables de fragilidad y blandura (Jiang et al., 2020).

El aumento del contenido de AR después de la modificación por HMT que se observa en la Figura 7, el cual podría estar relacionado con los cambios en la estructura del almidón. El calor y el bajo contenido de humedad del tratamiento provocan el reordenamiento de las cadenas de amilopectina transformando la estructura cristalina de tipo B a tipo A. La estructura cristalina de tipo A es más compacta que la estructura cristalina de tipo B, la cual tiene un empaquetamiento abierto con menor densidad de hélices entrecruzadas en cada unidad de cristal hexagonal. El tratamiento HMT podría causar la reordenación de hélices dobles en la unidad de cristal de tipo B, causando eventualmente el entrecruzamiento de las hélices las cuales combinadas con moléculas de agua intra-helicoidales pueden experimentar una transición a cristales de tipo A (Tan et al., 2017).

La modificación del almidón por HMT da como resultado interacciones entre amilosa-amilopectina, amilosa-amilosa y amilosa-lípidos, lo que limita el movimiento de las cadenas de almidón en la región amorfa. En otras palabras, el HMT facilita el entrelazamiento de amilosa y amilopectina (a través de enlaces intra/intermoleculares). En consecuencia, los almidones modificados por este tratamiento físico tienen una mayor demanda de temperatura para alcanzar el hinchamiento, lo que a su vez desestabiliza la parte cristalina del almidón, provocando un aumento de las temperaturas de transición de fase (gelatinización). Durante el fenómeno de gelatinización, se ejerce presión sobre la región cristalina. Indirectamente, las temperaturas de fusión de los cristalitos de almidón están gobernadas por la región amorfa que los rodea (Schafransk et al., 2021)

El AR tiene beneficios potenciales para la salud similares a la fibra dietética. El contenido de almidón resistente en los alimentos tiene una importancia considerable porque influye positivamente en el funcionamiento del tracto digestivo, la microbiota intestinal, el índice glucémico, mantiene el nivel de colesterol en la sangre y ayuda en el control de la diabetes. Estas cualidades del AR están atrayendo la atención de la industria alimentaria, así mismo se intenta comprender las formas de modular su contenido de acuerdo a la necesidad de personas que padezcan enfermedades como obesidad y diabetes (Wanikar & Kotwal, 2021).

El AR puede considerarse un prebiótico ya que promueve el crecimiento de bacterias probióticas, ya que este es fermentable en el colon por la microbiota intestinal. Esencialmente, AR estimula la actividad de las bacterias benéficas, como los lactobacilos, las bifidobacterias y los estafilococos, y confieren beneficios a la salud del huésped. Como resultado de la fermentación de AR, se generan ácidos grasos de cadena corta (SCFA) como butirato, acetato, y propionato, algunos gases como el metano, el hidrógeno y el dióxido de carbono y ácidos orgánicos. Varios estudios han indicado los beneficios del almidón resistente, ya que producen SCFA, especialmente la producción de butirato. El butirato es el principal sustrato energético de los colonocitos y estudios *in vitro* han demostrado que el butirato inhibe la transformación maligna de las células al detener una de las fases del ciclo celular (G1), entonces una mayor producción de butirato se asocia con una menor incidencia de cáncer de colon (Wanikar & Kotwal, 2021). Además, las bacterias que pueden digerir el AR generan energía, lo que les proporciona una ventaja para su crecimiento en el intestino y una disminución del pH, lo que otorga una protección al medio contra el ataque de microorganismos patógenos. Algunas bacterias colónicas pueden utilizar subproductos de la fermentación del AR para aumentar su abundancia mediante alimentación cruzada metabólica (Birt et al., 2013).

Por otra parte, el AR tiene un aporte energético inferior al almidón digerible, el cual se ha calculado en aproximadamente 8 kJ/g (2 kcal/g), mientras que el valor energético del almidón completamente digerible es de 15 kJ/g (4.2 kcal/g). Los alimentos ricos en AR proporcionan menos calorías junto con una respuesta de glucosa más baja en comparación con los carbohidratos digeribles a base de glucosa. Mediante el consumo de AR, la acumulación de grasa corporal total y regional se reduce con un menor volumen de adipocitos, por lo que puede ser una buena alternativa para hacer reemplazo o sustitución de este ingrediente en alimentos hipercalóricos, y/o cuyo almidón es altamente digerible, proporcionando alimentos con menor índice glucémico y por tanto más saludables para el consumidor (Raigond et al., 2014).

En la industria alimentaria, el AR otorga ciertas propiedades funcionales al alimento al utilizarse como agente espesante y sustituto de grasa en quesos de imitación, también repercute en la hinchazón, la viscosidad, la consistencia del gel y la baja capacidad de retención de agua del AR, lo que lo convierte en un ingrediente funcional que brinda un buen manejo en el procesamiento, crocantez, expansión y textura mejorada de los productos alimenticios. El AR se puede encontrar en con mayor recurrencia en variedades de productos alimenticios como productos de panadería, pastas y pudines, yogur, queso, helados, etc (Wanikar & Kotwal, 2021).

3.4 Propiedades funcionales de almidones

3.4.1 Solubilidad

Se realizaron pruebas de solubilidad para poder conocer la capacidad de hidratación y la magnitud de las interacciones entre las cadenas de almidón dentro de la región amorfa y cristalina de los gránulos de almidón. Los resultados indicaron que la temperatura y el exceso de agua incrementan la solubilidad de los almidones tanto en forma nativa como modificada (Figura 9). En forma nativa se observó que AHR tuvo la mayor solubilidad a 80 °C (16.0 ± 0.3 %) en

comparación con AHM (13.7 ± 0.3 %) y AHT (8.2 ± 0.2 %) ($F(2,6)=637.687$, $p < 0.01$), no obstante estos dos últimos mostraron mayor solubilidad a 90 °C, siendo mayor para AHT (22.2 ± 0.1 %) que AHM (15.9 ± 0.4 %) y donde AHR presentó una disminución significativa (4.9 ± 0.8 %) ($F(2,6)=833.382$, $p < 0.01$).

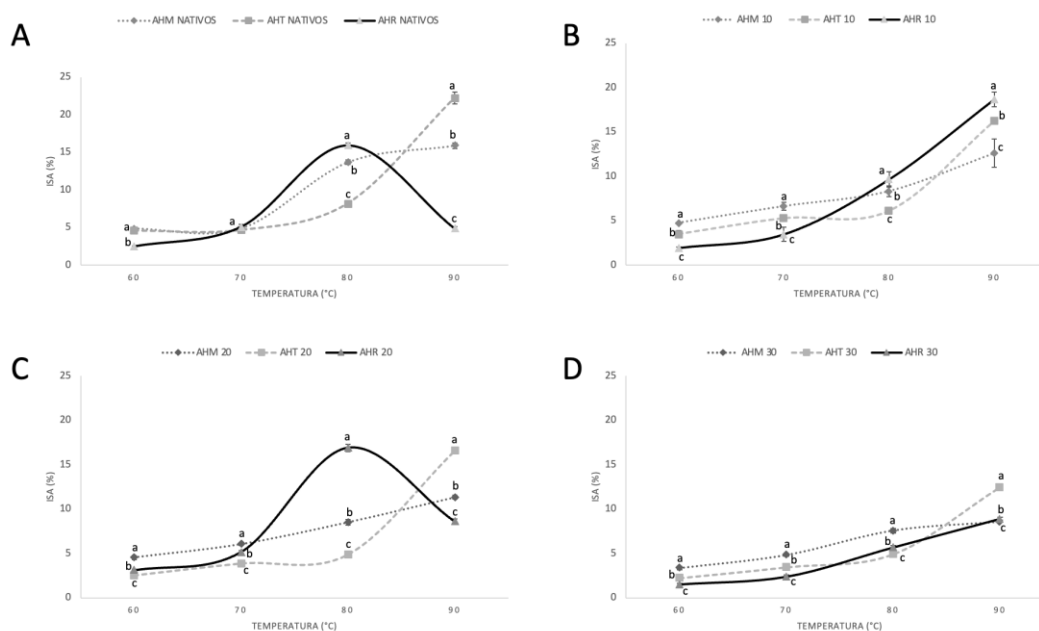


Figura 9. Índice de solubilidad de almidones nativos y modificados por HMT a diferentes temperaturas. Valores medios \pm DE. A-almidones nativos, B-HMT 10%, C-HMT 20% y D-HMT 30%. AHT- almidón de harina de trigo, AHM- almidón de harina de maíz, AHR- almidón de harina de semilla de Ramón. Letras diferentes indican diferencia significativa a $p < 0.05$.

La modificación física del almidón favoreció particularmente al AHR, reduciendo la solubilidad a 80 °C e incrementando a 90 °C, específicamente en el tratamiento a 10 % de humedad (18.7 ± 0.8 %), donde AHR mostró mayor solubilidad que AHT (16.3 ± 0.1 %) y AHM (12.6 ± 1.6 %) ($F(2,6)=25.710$, $p < 0.01$) en el mismo tratamiento. El tratamiento HMT a 30% de humedad a pesar de que mejoró el comportamiento de AHR al incrementar la solubilidad conforme el incremento de temperatura, se observó una reducción de hasta el 9.8 % en la solubilidad del almidón, lo cual también se presentó en AHM (4.0%) y AHT (3.8%) ($F(2,6)=598.233$, $p < 0.01$) en comparación con el tratamiento 10% de humedad.

La solubilidad que presentó AHR en su forma nativa fue diferente a lo reportado por Pérez-Pacheco et al., (2014) quienes no encontraron solubilidad a 60 °C y posteriormente reportaron un comportamiento directamente proporcional entre temperatura y solubilidad del almidón de semilla de Ramón. En el presente estudio el almidón nativo consistentemente presentó su máxima solubilidad en 80 °C, diferente al patrón presentado por AHT y AHM. Un estudio encontró que el almidón de camote congo (*Dioscorea bulbifera* L.) presentó un comportamiento similar al AHR de este estudio, y mostrando su mayor solubilidad a 85°C, aunque su solubilidad a 95 °C no pudo ser determinada debido a la formación de un gel (Meaño et al., 2014).

Por otra parte, en la modificación AHR modificado por HMT presentó un ISA similar a almidones de semilla de Ramón modificados químicamente por oxidación con hipoclorito de sodio (17.9-25.3 %) a 90 °C (Pérez-Pacheco et al., 2017). El almidón sufre cambios estructurales debido a los tratamientos por HMT interviniendo en las ramificaciones de la amilopectina, las cuales facilitan la difusión del agua a los espacios intermoleculares, aumentando la solubilidad del almidón, siendo la amilopectina la de mayor proporción de disolución. (Hwang & Kokini, 1992). El aumento de la solubilidad también podría atribuirse al cambio de la interacción amilosa-lípido en los gránulos dañados producidos por el HMT, lo que resulta en un aumento de la lixiviación de la amilosa (Liu et al., 2017).

Cuanto más tiempo o mayor contenido de humedad posee el HMT, menor es el poder de hinchamiento y la solubilidad. Una posible razón de la disminución de estos dos índices es que la matriz amilosa/amilopectina dentro de los gránulos se desorganiza. Cuando se someten a condiciones de calor-humedad, las interacciones internas entre las cadenas moleculares pueden reforzarse, dificultando así la hidratación de los grupos hidroxilo libres (Wang et al., 2021). Las agrupaciones de cadenas laterales podrían empaquetarse de forma más

compacta durante la modificación hidrotérmica, lo que contribuye al establecimiento de una arquitectura cristalina rígida que impide la percolación del agua en los gránulos de almidón. Además, el complejo amilosa-lípido inducido por HMT puede obstruir el hinchamiento del almidón, disminuyendo así la lixiviación y solubilidad de la amilosa (Piecyk et al., 2018). HMT provoca una estructura de tipo A siendo esta más compacta al contar con otra doble hélice y tan solo ocho moléculas de agua en el canal central lo que provoca una menor solubilidad (Pineda-Cruz, 2019).

La modificación almidones por HMT ha mostrado ventajas para su aplicación en alimentos. Por ejemplo, el almidón de camote y sagú ha sido adecuado para producir fideos, los cuales mostraron mayor dureza y flexibilidad (Mathobo et al., 2021). También se ha reportado que el almidón de makal y sagú después de ser modificados, podrían ser usados en productos que requieran altas temperaturas, tales como los productos enlatados, alimentos para bebés, etc (Hernández-Medina et al., 2008). Se ha reportado la mejora en el potencial para hornear y producir pasteles con almidón de trigo modificado, lo cual puede deberse a cambios en las propiedades funcionales del almidón (ISA y PH) (Hoover, 2010). De igual manera, Mahajan et al. (2021) demostraron que el ISA y PH de almidón de mijo es ideal para usarse como espesantes en salsas y natillas, entre otros.

3.4.2 Capacidad de absorción de agua

La capacidad de absorción de agua indica el grado de asociación existente (enlace intragranular) entre los polímeros del almidón: amilosa/amilopectina. En AHR esta propiedad fue significativamente mayor a 80 °C en su forma nativa (20.2 ± 0.2 g agua/g almidón) $F(2,6)=238.5$, $p<0.01$) y hubo una disminución significativa de esta propiedad a los 90 °C (11.1 ± 0.6 g agua/g almidón)

($F(2,6)=163.159$, $p<0.01$) y en comparación a AHT y AHM (17.5 ± 0.5 y 14.1 ± 0.1 g agua/g almidón, respectivamente) (Figura 10A).

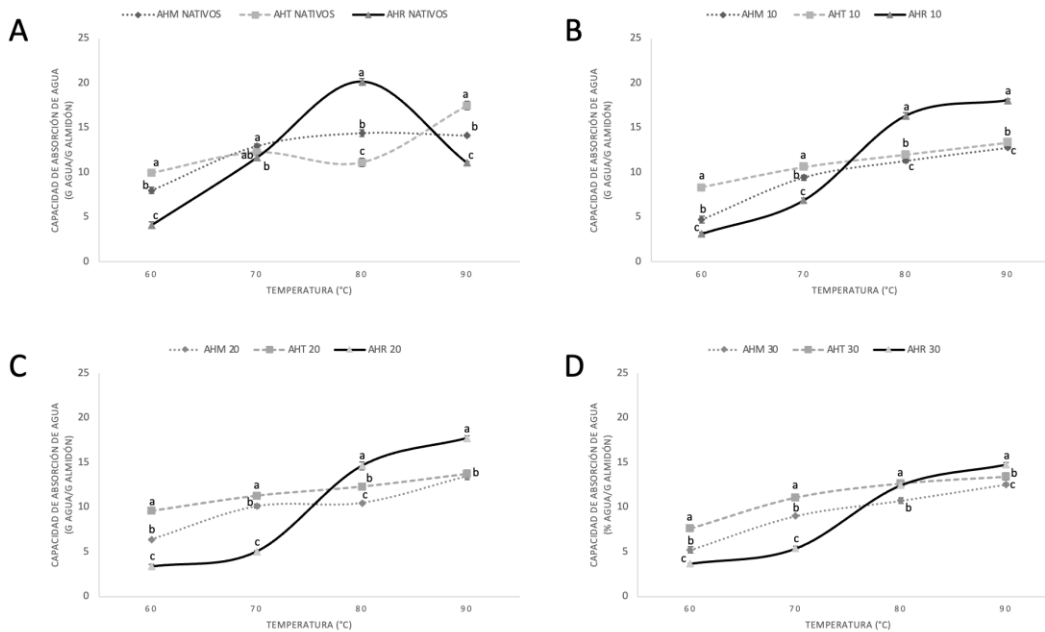


Figura 10. Capacidad de absorción de agua de almidones nativos y modificados por HMT a diferentes temperaturas. Valores medios \pm DE. A-nativos, B-HMT 10%, C-HMT 20% y D-HMT 30%. AHT- almidón de harina de trigo, AHM- almidón de harina de maíz, AHR- almidón de harina de Ramón. Letras diferentes indican diferencia significativa a $p<0.05$.

Por otra parte, a partir de la modificación física de los almidones mediante tratamiento por HMT, se observó que la CAA aumentó conforme el incremento de temperatura (Figura 10B-D). En el tratamiento con 10% de humedad, AHR 10 tuvo el mayor incremento de la CAA a 90 °C, superando a AHT 10 y AHM 10 (13.3 ± 0.1 y 12.8 ± 0.1 g agua/g almidón, respectivamente) ($F(2,6)=1338.424$, $p<0.01$) (Figura 9B) y aún en los tratamientos con 20% y 30% de humedad (Figura 9C y D). En estos tratamientos, a pesar de que AHR fue mayor a AHT y AHM, comienza a reducir su CAA conforme se incrementa la humedad del tratamiento por HMT (AHR 20: 17.7 ± 0.3 g agua/g almidón y AHR 30: 14.8 ± 0.3 g agua/g almidón).

El comportamiento de la CAA del almidón nativo AHR de este estudio fue diferente al reportado por Pérez-Pacheco et al., (2014), quien mostró un comportamiento lineal ascendente de la CAA con relación al incremento de temperatura, indicando una absorción de agua a 80 °C menor (≈ 11 g agua/g almidón) que a 90°C (≈ 13 g agua/g almidón) mientras que para el almidón de maíz reportó valores menores de absorción de agua a 80 y 90 °C (≈ 7 y 9 g agua/g almidón, respectivamente).

El tratamiento de humedad por calor mejora la capacidad de absorción de agua de los almidones. Existen productos como por ejemplo las salsas espesadas con almidón de jícama africana (*S. stenocarpa*) que se benefician con esta propiedad debido a que se mejora la formación y fuerza del gel, lo cual es deseable en este tipo productos alimenticios. Este resultado podría atribuirse a la mejora de la tendencia hidrofílica de las moléculas de almidón debido a la ruptura de los puentes de hidrógeno entre las regiones amorfa y cristalina y a la expansión de la región amorfa que sucede durante el HMT (Adebowale et al., 2009). Resultados similares fueron reportados por Adebowale et al. (2009) para el almidón de frijol de ñame africano y Lorenz & Kulp. (1982) en cereales y dos almidones de tubérculos.

En otro estudio se obtuvo una mayor dureza de fideos de almidón de sagú, aumentó la elasticidad, la masticabilidad y la resiliencia. Los fideos más firmes son deseables porque no se rompen fácilmente durante la ebullición. Se encontró que el aumento de la dureza de los fideos después del tratamiento del almidón por HMT estaba correlacionado con el aumento de la capacidad de unión de agua y amilosa (Purwani et al., 2006). Lo mismo sucedió para fideos hechos de almidón de camote modificado por HMT, en comparación con el almidón nativo, debido a que la CAA contribuyó a una mayor firmeza (Collado et al., 2001). Por otro lado, Miyazaki & Morita, (2005) reportaron que el almidón de harina de maíz

modificado por HMT, al tener una mayor absorción de agua, formaba una masa elástica, dando como resultado una mejor calidad del pan.

3.4.3 Poder de hinchamiento del gránulo de almidón

El poder de hinchamiento se relaciona con la capacidad de absorción de agua de cada almidón. Los almidones nativos son insolubles en agua por debajo de su temperatura de gelatinización. Cuando estos gránulos son calentados progresivamente en agua a temperaturas más altas, se alcanza un punto donde el almidón comienza a hincharse irreversiblemente (Prieto-Méndez et al., 2009). El comportamiento del poder de hinchamiento (PH) de los gránulos de almidón de AHR muestra un comportamiento similar al observado en ISA y CAA. Los valores de esta propiedad se presentan en la Figura 10. Como se puede observar en su forma nativa (Figura 11A), el AHR presentó su mayor PH (23.8 ± 0.8 g agua/g almidón) a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ siendo superior que AHT y AHM (12.1 ± 0.5 y 16.8 ± 0.3 g agua/g almidón, respectivamente) ($F(2,6)=338.136$, $p<0.01$), mientras que a 90°C se observa nuevamente una reducción significativa de AHR (11.6 ± 0.6 g agua/g almidón) siendo menor que AHT ($t_{vd}=29.7$, $p<0.01$) Después de la modificación por HMT, AHR mostró su mayor incremento en PH con el tratamiento HMT 10% humedad (22.2 ± 0.2 g agua/g almidón) a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ en comparación a AHT y AHM ($F(2,6)=1895.118$, $p<0.01$) (Figura 11B) y aún en los tratamientos con 20% ($F(2,6)=76.0$, $p<0.01$) y 30% ($F(2,6)=47.7$, $p<0.01$) de humedad (Figura 11C y D). De la misma forma se observa una ligera reducción del PH de los almidones conforme se incrementa la humedad durante el tratamiento de modificación.

El AHR nativo mostró nuevamente un comportamiento diferente al reportado por Pérez-Pacheco et al. (2014), quienes refieren un comportamiento lineal conforme aumenta la temperatura, reportando un PH menor a 80°C (≈ 12 g agua/g almidón) y mayor a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ (≈ 17 g agua/g almidón), además de mostrar un menor PH del almidón en relación con el obtenido en este estudio a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

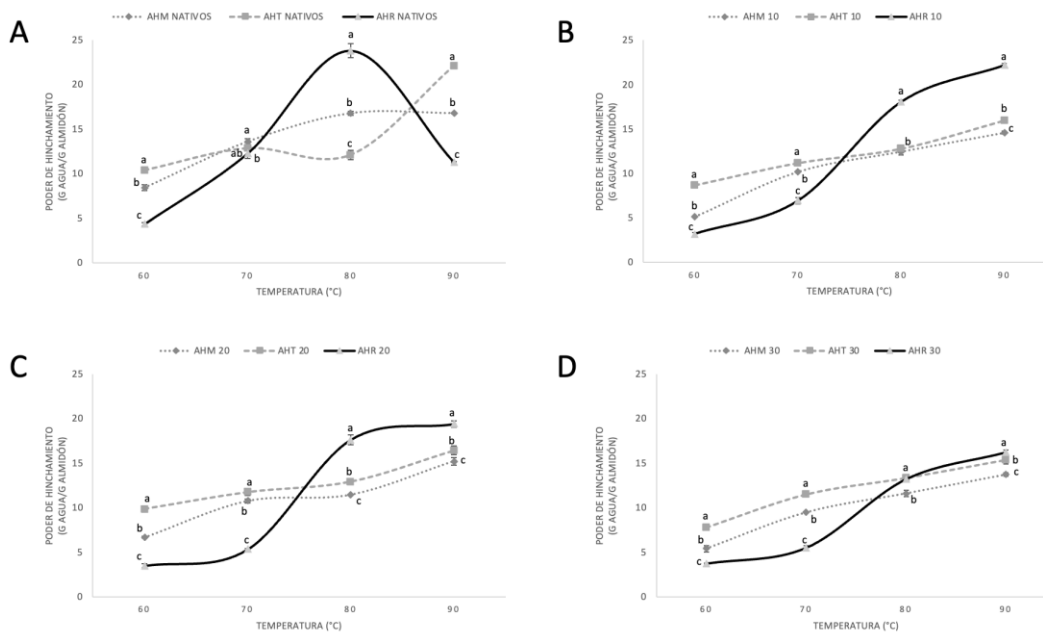


Figura 11. Poder de hinchamiento de almidones nativos y modificados por HMT a diferentes temperaturas. Valores medios \pm DE. A-nativos, B-HMT 10%, C-HMT 20% y D-HMT 30%. AHT- almidón de harina de trigo, AHM- almidón de harina de maíz, AHR- almidón de harina de Ramón. Letras diferentes indican diferencia significativa a $p < 0.05$.

El almidón nativo al tener menor porcentaje de humedad tiene un aumento máximo a 80°C en su poder de hinchamiento, pero conforme aumento la temperatura este disminuye, esto se produce debido al comportamiento de la matriz amilosa/amilopectina al sufrir una desorganización dentro de los gránulos. Cuando se someten a condiciones de temperaturas altas, las interacciones internas entre las cadenas moleculares pueden sufrir un reforzamiento, siendo un obstáculo para la hidratación de los grupos hidroxilo libres (Schafrausk et al., 2021).

El tratamiento al 10% de humedad tuvo un incremento constante conforme aumentaba la temperatura siendo 90°C donde obtuvo su mayor poder de hinchamiento, HMT pudo provocar que la estructura del almidón se transformara en una estructura de tipo B la cual está constituida por 6 dobles hélices

empacadas en modo hexagonal antiparalelo de un canal con 36 moléculas de agua que pueden influir en el aumento del poder de hinchamiento (Pineda-Cruz, 2019).

La modificación HMT con mayores humedades de 20 y 30% puede provocar una mayor interacción de enlaces intra/intermoleculares del almidón, haciendo que se formen más grupos ordenados de cadenas laterales de amilopectina de doble hélice, lo que explica el aumento de la cristalinidad del almidón. Este aumento de la cristalinidad del almidón es probablemente la responsable de la reducción del poder de hinchamiento debido a que los gránulos cristalinos limitan el hinchamiento del almidón. Una reducción similar del poder de hinchamiento se observó en almidones de trigo, avena, lentejas y patata acondicionados con humedad por calor (Adebowale & Lawal, 2002).

Después de la modificación se puede observar que se tiene un aumento de las tres propiedades de estudio (ISA, CAA y PH) conforme aumenta la temperatura en AHR siendo el tratamiento con 10% de humedad el que favoreció más a dichas propiedades en comparación a los tratamientos de 20 y 30% de humedad. Se ha propuesto que cuando los gránulos de almidón son sometidos a mayores contenidos de agua y temperaturas altas, alcanzan el punto donde pierden su orden estructural, pasando de un almidón tipo B a un almidón de tipo A, el cual tiene mayor densidad de ramificaciones, que promueven la formación de dobles hélices y provocan un almidón más compacto que limita el paso de las moléculas de agua, y por tanto reduce estas propiedades (G. Zhang et al., 2006). Este comportamiento en las propiedades funcionales fue reportado en almidón de frutipán modificado por HMT a humedades de 30-35% (Tan et al., 2017). Por otra parte, Wang et al. (2022) reportaron en almidón nativo de semilla de aguacate, un mayor poder de hinchamiento a 85 °C y 95 °C. Lo mismo ocurre para el almidón de ñame congo modificado, donde Meaño et al. (2014) obtuvieron

valores de poder de hinchamiento 38.0 ± 3.11 g agua/g almidón a $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 49.05 ± 2.10 g agua/g almidón a $95\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Al procesar ciertos productos alimenticios como pescados, salsas o mermeladas se necesitan altas temperaturas de procesamiento para que los mismos tengan una buena conservación y una vida útil más larga por lo cual un incremento del poder de hinchamiento del almidón a temperaturas altas favorece estas condiciones (Hernández-Medina et al., 2008). También Hoover, (2010) demostró que la mejora en el potencial para hornear y hacer pasteles del almidón de papa puede deberse al aumento del poder de hinchamiento a temperaturas altas. Haz clic o pulse aquí para escribir texto. La industria del almidón está en constante expansión, y los procesos de modificación aumentan su versatilidad, adaptándolo a diferentes propósitos en las industrias alimentarias. Tal es el caso en almidones con mayor poder de hinchamiento los cuales pueden ser usados en alimentos que requieren mayor retención de agua, como los productos cárnicos, embutidos, jaleas, entre otros (Miranda-Villa et al., 2013).

3.5 Conclusiones

- Se obtuvo un rendimiento de 31.2% de almidón de semilla de Ramón, el cual se caracterizó por un mayor contenido de carbohidratos totales y cenizas y un bajo contenido de proteína comparado con almidones de trigo y maíz.

- El almidón nativo de semilla de Ramón mostró el mayor contenido de almidón resistente comparado con el de trigo y maíz, el cual además se incrementó con el tratamiento de modificación por HMT, conforme se aumentó el contenido de humedad,

- La modificación del almidón de harina de semilla de Ramón mediante HMT mostró un impacto positivo en las propiedades funcionales del almidón (índice de solubilidad, capacidad de absorción de agua y poder de hinchamiento), siendo la modificación con 10% de humedad a 90 °C la de mayor incremento.

En general, la semilla de Ramón es una fuente de almidón con una fracción importante de almidón resistente (AR). La modificación de este almidón mediante un método físico como HMT, incrementó el contenido de AR y mejoró sus propiedades funcionales (ISA, CAA y PH), lo cual es de interés para ser considerado un ingrediente funcional en la elaboración de alimentos estables y más saludables para el consumidor debido a su potencial como prebiótico.

3.6 Recomendaciones

A. Realizar la modificación de almidón de harina de semilla de Ramón por HMT en combinación con otros métodos físicos y evaluar su impacto en las propiedades funcionales del mismo.

B. Evaluar el impacto de la modificación sobre las propiedades térmicas y de pasting del almidón nativo y modificado de semilla de Ramón,

3.7 Difusión de resultados

Los resultados obtenidos en este trabajo fueron presentados en el 5^o Congreso Internacional de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos que tuvo sede en la ciudad de Guadalajara, Jalisco, México, del 8 al 10 de junio de 2022. Se presentaron en modalidad virtual adecuado a un formato de póster.

En el marco del 5^o Congreso Internacional de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos, el comité organizador otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a:

Quiñones Corral LA, Rubio Delgado JM, Landero Ortega CJ, Magallanes Cruz PA, Martínez Ruiz NR

Por su valiosa participación en la presentación virtual de póster científico con el trabajo titulado "Modificación y caracterización de almidón proveniente de semilla de Ramón (*Brosimum alicastrum Sw.*)"

8-10 de junio de 2022; Guadalajara, Jalisco, México

Gustavo A. González Aguilar

Aarón F. González Córdoba

Janet A. Gutiérrez Uribe

Daniel A. Jacobo Velázquez

Luis A. Mojica Contreras

Adrián Hernández Mendoza

LITERATURA CITADA

- Abbas, K. (2010). Modified starches and their usages in selected food products: A review study. *Journal of Agricultural Science*, 2(2), 477–483.
- Adebowale, K., Henle, T., Schwarzenbolz, U., & Doert, T. (2009). Modification and properties of African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa* Hochst. Ex A. Rich.) Harms starch I: Heat moisture treatments and annealing. *Food Hydrocolloids*, 23, 1947–1957.
- Adebowale, K. O., & Lawal, O. S. (2002). Effect of annealing and heat moisture conditioning on the physicochemical characteristics of Bambarra groundnut (*Voandzeia subterranea*) starch. *Molecular Nutrition*, 46(5), 311–316.
- AOAC. (1999). *Official methods of analysis of AOAC international* (16a ed., Vol. 1). Association of Official Analytical Chemists.
- Araujo de Vizcarrondo, C., Rincón, A., & Padilla, F. (2004). Caracterización del almidón nativo de *Dioscorea bulbifera* L. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(0), 241–245.
- Bello-Pérez, L., Contreras-Ramos, S., Romero-Manilla, R., Solorza-Fería, J., & Jiménez-Aparicio, A. (2002a). Propiedades químicas y funcionales del almidón modificado de plátano *Musa paradisiaca* L. (Var. Macho). *Agrociencia*, 36, 169–180.
- Bello-Pérez, L., Contreras-Ramos, S., Romero-Manilla, R., Solorza-Fería, J., & Jiménez-Aparicio, A. (2002b). Propiedades químicas y funcionales del almidón modificado de plátano *Musa paradisiaca* L. (Var. Macho). *Agrociencia*, 36, 169–180.
- Bello-Pérez, L., Flores-Silva, P., Agama-Acevedo, E., & Tovar, J. (2020). Starch digestibility: past, present, and future. *J Sci Food Agric*, 100(14), 5009–5016. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8955>
- Bharti, I., Singh, S., & Saxena, D. C. (2019). Exploring the influence of heat moisture treatment on physicochemical, pasting, structural and morphological properties of mango kernel starches from Indian cultivars. *LWT*, 110, 197–206. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.082>

- Birt, D., Boylston, T., Hendrich, S., Jane, J., Hollis, J., Li, L., McClelland, J., Moore, S., Phillips, G., Rowling, M., Schalinske, K., Scott, M., & Whitley, E. (2013). Resistant Starch: Promise for Improving Human Health. *Adv Nutr*, 4(6), 587–601.
- Buléon, A., Colona, P., & Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 23(2), 85–112. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(98\)00040-3](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(98)00040-3)
- Cai, J., Chao, C., Niu, B., Copeland, L., Yu, J., Wang, S., & Wang, S. (2021). New insight into the interactions among starch, lipid and protein in model systems with different starches. *Food Hydrocolloids*, 112. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106323>
- Collado, L., Mabesa, L., Oates, C., & Corke, H. (2001). Bihon-Type Noodles from Heat-Moisture-Treated Sweet Potato Starch. *Journal of Food Science*, 66(4), 604–609.
- CONAFOR. (2008). *RAMON (Brosimum alicastrum Swartz.) Protocolo para su colecta, beneficio y almacenaje*. [http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/19/1301RAMON%20\(Brosimum%20alicastrum%20Swartz.\)%20Yucatán.pdf](http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/19/1301RAMON%20(Brosimum%20alicastrum%20Swartz.)%20Yucatán.pdf)
- Delgado, Y. (2018). *Aplicaciones de almidones nativos y modificados en la industria láctea y cárnica* [Universidad Nacional Agraria La Molina].
- Domínguez, P., García, I., Güemes-Vera, N., Totosaus, A., & Pássaro, C. (2019). Textura, color y aceptación sensorial de tortillas y pan producidos con harina de ramón (*Brosimum alicastrum*) para incrementar la fibra dietética total. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 20(3), 699–719. <https://doi.org/https://doi.org/10.21930/rcta.vol20num3art:1590>
- Domínguez-Zárate, P., Maillard-Berdeja, K., & Totosaus, A. (2019). Propiedades tecno-funcionales del aislado proteico y de harina de semilla de ramón (*Brosimum alicastrum*). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4.

- Dong, J., Huang, L., Chen, W., Zhu, Y., Dun, B., & Shen, R. (2021). Effect of Heat-Moisture Treatments on Digestibility and Physicochemical Property of Whole Quinoa Flour. *Foods*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/foods10123042>
- Escudero, E., & Gonzalez, P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 21, 61–72.
- Flores, S. (2004). Obtención de almidón con tamaño de partícula reducido mediante pulverizado mezclado con alta energía. [Instituto Politécnico Nacional].
- Granados, C., Guzman, L., Acevedo, D., Diaz, M., & Herrera, A. (2022). Propiedades funcionales del almidon de sagu (Maranta arundinacea). *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 12(2), 90–96.
- Han, L., Cao, S., Yu, Y., Xu, X., Cao, X., & Chen, W. (2021). Modification in physicochemical, structural and digestive properties of pea starch during heat-moisture process assisted by pre- and post-treatment of ultrasound. *Food Chemistry*, 360. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129929>
- Hernández-Medina, M., Torruco-Uco, J., Chel-Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Food Science and Technology*, 28(3), 718–726.
- Hernández-Medina, M., Torruco-Uco, J., Chel-Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(3), 718–726.
- Hoover, R. (2010). The impact of heat-moisture treatment on molecular structures and properties of starches isolated from different botanical sources. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(9), 835–847.
- Hwang, J., & Kokini, J. (1992). Contribution of the side branches to rheological properties of pectins. *Carbohydrate polymers*, 19(1), 41–50.

- Luga, M., & Mironeasa, S. (2019). A review of the hydrothermal treatments impact on starch based systems properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 3890–3915.
- Jiang, F., Du, C., Jiang, W., Wang, L., & Du, S. kui. (2020). The preparation, formation, fermentability, and applications of resistant starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 1155–1161. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.124>
- Krishnan, V., Awana, M., Mondal, D., Verma, P., Singh, A., & Praveen, S. (2022). *Binary Interactions and Starch Bioavailability: Critical in Limiting Glycemic Response*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101833>
- Leyva, R., Palma, R., Rodriguez, H., Lopez, C., & Vargas, T. (2019). Modificación enzimática del almidón de maíz y su efecto en la viabilidad de la vitamina C. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, 5(9), 7–9. <https://doi.org/https://doi.org/10.29057/icap.v5i9.3786>
- Liu, C., Hong, J., & Zheng, X. (2017). Effect of heat-moisture treatment on morphological, structural and functional characteristics of ball-milled wheat starches. *Starch/Staerke*, 69(5–6). <https://doi.org/10.1002/star.201500141>
- Liu, C., Song, M., Liu, L., Hong, J., Guan, E., Bian, K., & Zheng, X. (2020). Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of ball mill damaged starches from different botanical sources. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, 403–410. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.043>
- Liu, H., Guo, X., Li, W., Wang, X., Iv, M., Peng, Q., & Wang, M. (2015). Changes in physicochemical properties and in vitro digestibility of common buckwheat starch by heat-moisture treatment and annealing. *Carbohydrate polymers*, 132, 237–244. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.071>
- Lorenz, K., & Kulp, K. (1982). Cereal-and root starch modification by heat-moisture treatment 1. physico-chemical properties. *Starch*, 34(2), 50–54.

- Lozano, O., Shimada, A., & Avila, E. (1978). Valor alimenticio de la semilla del Ramón (*Brosimum Alicastrum*) para el pollo y el cerdo. . *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 34, 100–104.
- Luisillo, M. (2014). *Efecto del grado de retrogradación del almidón, en el contenido de fibra dietética, en masa y tortilla de maíz blanco nixtamalizado*. UNAM.
- Macêdo-Viana, E., Leite-Oliveira, N., Souza-Ribeiro, J., Ferreira-Almeida, M., Eloi-Souza, C., Vilela-Resende, J., Soares-Santos, L., & Martins-Veloso, C. (2022). Development of starch-based bioplastics of green plantain banana (*Musa paradisiaca* L.) modified with heat-moisture treatment (HMT). *Food Packaging and Shelf Life*, 31(10076). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100776>
- Magallanes-Cruz, P., Flores-Silva, P., & Bello-Perez, L. (2017). Starch structure influences its digestibility: A review. *Journal of Food Science*, 82(9), 2016–2023. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1750-3841.13809>
- Mahajan, P., Bera, M., Panesar, P., & Chauhan, A. (2021). Millet starch: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 180, 61–79.
- Mantilla-Roldan, J. (2018). *Extracción y caracterización de almidón de las semillas de Persea americana Mill. (Palta). Var. Fuerte, Hass y Criolla* [Universidad Nacional de Trujillo].
- Marboh, V., & Mahanta, C. (2021). Physicochemical and rheological properties and in vitro digestibility of heat moisture treated and annealed starch of sohphlang (*Flemingia vestita*) tuber. *International journal of biological macromolecules*, 168, 486–495. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.065>
- Martínez, E. (2020). *Elaboración de pan artesanal de maíz adicionado con harina de semilla de Brosimum alicastrum Sw* [Universidad Autónoma de Ciudad Juárez].
- Martins, L., Mello, S., Guerra, A., & Zavareze, A. da R. (2021). Physical modification of starch by heat-moisture treatment and annealing and their

- applications: A review. *Carbohydrate polymers*, 274, 1–15.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118665>
- Mathobo, V., Silungwe, H., Ramashia, S., & Anyasi, T. (2021). Effects of heat-moisture treatment on the thermal, functional properties and composition of cereal, legume and tuber starches-a review. *J Food Sci Technol.*, 52(2), 412–426.
- Meaño, N., Ciarfella, A., & Dorta, A. (2014). Evaluación de las propiedades químicas y funcionales del almidón nativo de ñame congo (*Dioscorea bulbifera* L.). *Saber*, 26(2), 182–188.
- Medina, J., & Salas, C. (2008). Caracterización morfológica del granulo de almidón nativo: Apariencia, forma, tamaño y su distribución. *Revista de Ingeniería*, 27, 56–62.
- Megazyme. (2019). *Resistant starch assay procedure (rapid format) (K-RAPRS)*.
https://www.megazyme.com/documents/Assay_Protocol/K-RAPRS_DATA.pdf
- Mex-Álvarez, R., Garma-Quen, P., Bolívar-Fernández, N., & Guillén-Morales, M. (2016). Análisis Proximal y Fitoquímico de Cinco Variedades de Maíz del Estado de Campeche (México). *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 12(2), 74–80.
- Miñón, D. (2015). *Características físicas y químicas del almidón nativo y nanoestructurado de maíz azul y sus propiedades biológicas en diabetes inducida en ratas Wistar*. [Universidad Veracruzana].
- Miranda-Villa, P. P., Marrugo-Ligardo, Y. A., & Montero-Castillo, P. M. (2013). Caracterización Funcional del Almidón de Frijol Zaragoza (*Phaseolus Lunatus* L.) y Cuantificación de su Almidón Resistente Functional Characterization of Bean Zaragoza Starch (*Phaseolus Lunatus* L.) and Quantification of the Resistant Starch. 30, 17–32.
- Miyazaki, M., & Morita, N. (2005). Effect of heat-moisture treated maize starch on the properties of dough and bread. *Food Research International*, 38(4), 369–376.

- Montano- Aragón, A. (2013). *Modificación física del almidón de maíz a escala nanométrica para su uso en la Industria Alimentaria* [Maestría]. Universidad Veracruzana.
- Nollet, L. (1996). *Handbook of food analysis* (2nd ed., Vol. 2). Marcel Dekker. <https://doi.org/10.1177/108201329700300107>
- Ochoa-Martínez, L. A., Luna Solís, H. A., & Bermúdez Quiñones, G. (2021). Almidón de camote: Modificaciones enzimáticas, físicas y químicas. *Tecnociencia Chihuahua*, 15(3), 221–233. <https://doi.org/10.54167/tecnociencia.v15i3.854>
- Olawoye, B., Fagbohun, O.-F., Olabisi-Popoolaa, O., Olasunkami-Gbadamosi, S., & Taiwo-Akanbi, C. (2022). Understanding how different modification processes affect the physiochemical, functional, thermal, morphological structures and digestibility of cardaba banana starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 201, 158–172. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.134>
- Olguin-Maciél, E., Larqué-Saavedra, A., Pérez-Brito, D., Barahona-Pérez, L., Alzate-Gaviria, L., Toledano-Thompson, T., Lappe-Oliveras, P., Huchin-Poot, E., & Tapia-Tussell, R. (2017). *Brosimum alicastrum* as a novel starch source for sioethanol production. *energies*, 10(10), 1574.
- Ortiz, M. (2019). *Evaluación de un bioplástico de almidón de semillas de mango (mangifera indica) con aplicación potencial en envases* [Universidad El Bosque].
- Pacheco-Delahaye, E., & Testa, G. (2005). Nutritional, physical and sensorial evaluation of wheat and green planta in breads. *Interciencia*, 30(5), 300–304.
- Park, E., Jin-Gyeong, M., Kim, J., Lee, D., Kim, S., Dong-Joo, K., & Jong-Yea, K. (2017). Effect of dual modification of HMT and crosslinking on physicochemical properties and digestibility of waxy maize starch. *Food hydrocolloids*, 75, 33–40. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.017>

- Patterson, M. A., Maiya, M., & Stewart, M. L. (2020). Resistant starch content in foods commonly consumed in the United States. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, *120*(2), 230–244. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2019.10.019>
- Pech-Cohuo, S. C., Hernandez-Colula, J., Gonzalez-Canche, N. G., Salgado-Transito, I., Uribe-Calderon, J., Cervantes-Uc, J. M., Cuevas-Bernardino, J. C., Ayora-Talavera, T., & Pacheco, N. (2021). Starch from Ramon seed (*Brosimum alicastrum*) obtained by two extraction methods. *MRS Advances*, *6*(38), 875–880. <https://doi.org/10.1557/s43580-021-00134-w>
- Peñaranda-Contreras, O., Perilla-Perilla, J., & Algecira-Enciso, N. (2008). Revisión de la modificación química del almidón con ácidos orgánicos. *Ingeniería e Investigación*, *28*(3), 47–52.
- Pérez, E., Moo-Huchin, V. M., Estrada, R. J., Ortiz, A., May, L. H., Ríos, C. R., & Betancur, D. (2014). Isolation and characterization of starch obtained from *Brosimum alicastrum* Swartz Seeds. *Carbohydrate polymers*, *101*, 920–927. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.012>
- Pérez, O., Ley, N., González, E., & Valdés, C. (2017). Modificación hidrotérmica del almidón de yuca para su empleo como estabilizador de helados. *Afinidad*, 275–281.
- Perez, S., & Bertoft, E. (2010). The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. *Starch*, *62*, 389–420. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/star.201000013>
- Pérez-Pacheco, E., Estrada-León, R., Duch, E., Bello-Pérez, L., Betancur-Ancona, D., & Moo-Huchin, V. (2016). Partial characterization of starch obtained from Ramon (*Brosimum alicastrum* Swartz), oxidized under different conditions. *Starch - Stärke*, *69*.
- Piecyk, M., Druzynska, B., Oltarzewska, A., Wolosiak, R., Worobiej, E., & Ostrowska-Ligęza, E. (2018). Effect of hydrothermal modifications on properties and digestibility of grass pea starch. *International Journal of*

- Pietrzyk, S., Fortuna, T., Krolikowska, K., Rogozińska, E., Łabanowska, M., & Kurdziel, M. (2013). Effect of mineral elements on physicochemical properties of oxidised starches and generation of free radicals. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 343–351. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.04.077>
- Pineda-Cruz, D. (2019). *Efecto de la temperatura y humedad sobre la estructura del almidón retrogradado* [Maestría]. [Instituto Politécnico Nacional].
- Prieto-Méndez, J., Rubio, C., Román, A., Méndez, M., González, C., & Prieto, F. (2009). Degradación física del almidón de cebada (*Hordeum sativum* Jess). Correlación entre la gelatinización y el tamaño de gránulos. *Multiciencias*, 9(2), 115–125.
- Purwani, E., Widaningrum, Thahir, R., & Muslich. (2006). Effect of heat moisture treatment of sago starch on its noodle quality. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 7(1), 8–14.
- Raigond, P., Ezekiel, R., & Raigond, B. (2014). Resistant starch in food. *Science of food and agriculture*, 95(10), 1968–1978.
- Ramírez, J., Oscar, L., Avila, E., & Armando, S. (1978). Valor energético de la semilla del Ramón (*Brosimum Alicastrum*) en dietas para aves. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 35, 43–47.
- Ramírez-Sánchez, S., Ibáñez-Vázquez, D., Gutiérrez-Peña, M., Ortega-Fuentes, M. S., García-Ponce, L. L., & Larqué-Saavedra, A. (2017). El Ramón (*Brosimum Alicastrum swartz*) una alternativa para la seguridad alimentaria en México. *Agroproductividad*, 10(1), 80–83.
- Ramos, M. de L., Romero, C., & Baustista, S. (2018). Almidón modificado: Propiedades y usos como recubrimientos comestibles para la conservación de frutas y hortalizas frescas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 19(1).
- Rojas-del Muro, M., Pérez, C. A., Ramos, O. J., de la Rosa-Millan, J., & Chávez, C. E. (2017). Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de almidón de

- frijol modificado hidrotérmicamente. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2, 77–83.
- Sanchez-Banda, L. (2019). *Propiedades químicas, morfológicas y funcionales de almidón de semillas de palta (Persea americana Mill.) CV fuerte* [Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial].
- Santillán, A., González, C., Bautista, J., Huicab, Z., Escaobar, J., & Larqué, A. (2020). Brosimum alicastrum Swartz como alternativa para la reconversión productiva de áreas agrosilvopastoriles en Campeche. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 11(61), 51–69. <https://doi.org/https://doi.org/10.29298/rmcf.v11i61.722>
- Sarmiento-Franco, L., Montfort-Grajales, S., & Sandoval-Castro, C. (2022). *La semilla del árbol Ramón (Brosimum alicastrum Swartz): alternativa alimentaria energética para animales de producción y seres humanos*.
- Schafransk, K., Ito, V., & Lacerda, L. (2021). Impacts and potential applications: A review of the modification of starches by heat-moisture treatment (HMT). *Food Hydrocolloids*, 117(106690). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106690>
- Seghezzo, M., & Molfese, E. (2006). *Calidad en trigo pan* (INTA).
- Svihus, B., & Kolderup, A. (2016). Digestion and metabolic fates of starch, and its relation to major nutrition-related health problems: A review. *Starch*, 68, 302–313. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/star.201500295>
- Tan, X., Li, X., Chen, L., Xie, F., Li, L., & Huang, J. (2017). Effect of heat-moisture treatment on multi-scale structures and physicochemical properties of breadfruit starch. *Carbohydrate Polymers*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.029>
- Tupa, M. V. (2019). *Modificación organocatalítica de almidón para la obtención sostenible de derivados de alto valor agregado*. https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/81107/CONICET_Digital_Nro.c9f6a8d7-e72b-43a7-8fe9-aa27a87b20c7_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

- UNAM. (2007). *Fundamentos y técnicas de análisis de alimentos*. http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/FUNDAMENTOSYTECNICASDEANALISISDEALIMENTOS_12286.pdf
- Uzizerimana, F., Dang, K., Yang, Q., Hossain, M. S., Gao, S., Bahati, P., Mugiraneza, N. G., Yang, P., & Feng, B. (2021). Physicochemical properties and in vitro digestibility of tartary buckwheat starch modified by heat moisture treatment: A comparative study. *NFS Journal*, 25, 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2021.09.001>
- Vargas, G., Martínez, P., & Velezmoro, C. (2016). Propiedades funcionales de almidón de papa (*Solanum tuberosum*) y su modificación química por acetilación. *Scientia Agropecuaria*, 7, 223–230.
- Villarroel, P., Gómez, C., Vera, C., & Torres, J. (2018). Almidón resistente: Características tecnológicas e intereses fisiológicos. *Revista chilena de nutrición*, 45(3), 271–278. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182018000400271>
- Wang, J., Li, Y., Jin, Z., & Cheng, Y. (2022). Physicochemical, Morphological, and Functional Properties of Starches Isolated from Avocado Seeds, a Potential Source for Resistant Starch. *Biomolecules*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/biom12081121>
- Wang, Q., Li, L., & Zheng, X. (2021). Recent advances in heat-moisture modified cereal starch: Structure, functionality and its applications in starchy food systems. *Food Chemistry*, 344. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128700>
- Wanikar, R., & Kotwal, S. (2021). Resistant Starch: A Promising Functional Food Ingredient. En M. Ochubiojo (Ed.), *Starch - Evolution and Recent Advances* (IntechOpen).
- Wolfgang, B., Detmold, W., & Hans-Peter, G. (1999). Potato starch technology. *Starch*, 51, 235–242.
- Zahedi, Y., Ghanbazadeh, B., & Sedaghat, N. (2010). Physical properties of edible emulsified films based on pistachio globulin protein and fatty acids.

- Journal of Food Engineering*, 100(1), 102–108.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.03.033>
- Zhang, B., Qiao, D., Zhao, S., Lin, Q., Wang, J., & Xie, F. (2021). Starch-based food matrices containing protein: Recent understanding of morphology, structure, and properties. *Trends in Food Science and Technology*, 114, 212–231. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.033>
- Zhang, G., Venkatachalam, M., & Hamaker, B. (2006). Structural Basis for the Slow Digestion Property of Native Cereal Starches. *Biomacromolecules*, 7, 3259–3266.
- Zhen, Y., Wang, K., Wang, J., Qiao, D., Zhao, S., Lin, Q., & Zhang, B. (2022). Increasing the pH value during thermal processing suppresses the starch digestion of the resulting starch-protein-lipid complexes. *Carbohydrate Polymers*, 278.
- Zhou, Y., Cui, L., You, X., Jiang, Z., Qu, W., Liu, P., Ma, D., & Cui, Y. (2021). Effects of repeated and continuous dry heat treatments on the physicochemical and structural properties of quinoa starch. *Food Hydrocolloids*, 113, 1–11.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106532>