



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA – IZTAPALAPA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES EMULSIFICANTES DE
FRACCIONES DE ALMIDÓN GELATINIZADO DE MAÍZ CEROSO,
MAÍZ, ARROZ Y TRIGO NATIVOS EN LA ESTABILIZACIÓN DE
EMULSIONES ACEITE-EN-AGUA**

TESIS QUE PRESENTA:

M.C. DANIEL GÓMEZ LURÍA

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS (INGENIERÍA QUÍMICA)

ASESORES:

DR. EDUARDO JAIME VERNON CARTER

DR. JOSÉ DE JESÚS ÁLVAREZ RAMÍREZ

SINODALES:

PRESIDENTE: **DRA. CONSUELO LOBATO CALLEROS**

SECRETARIO: **DR. JOSÉ DE JESÚS ÁLVAREZ RAMÍREZ**

VOCAL: **DRA. ANGÉLICA ROMÁN GUERRERO**

VOCAL: **DR. ELICEO SOSA HERNÁNDEZ**

Consuelo Lobato Calleros

CIUDAD DE MÉXICO, 4 DE JUNIO DE 2019

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para la realización de los estudios del Doctorado en Ciencias en Ingeniería Química.

Al Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter, por todas sus enseñanzas durante la realización del Doctorado. Sin duda, sus aportaciones, consejos y comentarios en general, fueron muy valiosos para la finalización de este proyecto.

Al Dr. José de Jesús Álvarez Ramírez, por haberme guiado en la experimentación involucrada en este proyecto y apoyado en la escritura del manuscrito.

A mi adorada esposa Elizabeth, por todo su apoyo, cariño, comprensión y amor incondicional. Por compartir conmigo, todos esos momentos felices de la vida, así como estar a mi lado en los momentos de tristeza, apoyándome siempre para seguir adelante. Gracias Chapy por enseñarme a descubrir el amor a los gatos, en especial a "Rocky".

A mis padres Abelina y Daniel, y a todos mis hermanos, por todo el apoyo, cariño y amor incondicional que me han brindado durante toda mi vida. Concluir este proyecto de vida, no sería posible sin el apoyo de todos ellos. Gracias mamá por todas esas veces que interrumpiste tus horas de sueño para que yo no llevara el estómago vacío a la escuela, y siempre preocuparte por mi bienestar. Gracias papá por confiar en mí; siempre tengo presente aquella frase "hijo, no te preocupes, yo veré cómo le hago, pero tú estudiarás", a pesar de la limitación de los recursos; sin duda alguna, sentir tu apoyo fue siempre un impulso para seguir adelante.

A mis compañeros del laboratorio W-107, por todo el aprendizaje y apoyo que recibí de ellos.

A todas aquellas personas que en algún momento de mi vida me han brindado su apoyo, cariño y amistad.

¡Muchas Gracias!

Índice

	Pag.
Índice de figuras.....	6
Índice de tablas.....	8
Nomenclatura.....	9
Resumen.....	10
Introducción.....	11
Planteamiento del problema.....	13
Objetivos.....	13
Objetivo general.....	13
Objetivos particulares.....	13
Justificación.....	14
Hipótesis.....	14
Capítulo 1.....	15
1. Antecedentes.....	15
1.1. Emulsiones.....	15
1.2. Estructura del almidón.....	18
1.2.1. Química de carbohidratos.....	18
1.2.2. Propiedades de la amilosa y amilopectina.....	21
1.2.2.1. Amilosa.....	21
1.2.2.2. Amilopectina.....	22
1.2.3. Gránulos de almidón.....	24

1.2.3.1. Estructura interna del gránulo de almidón.....	24
1.2.3.2. Constituyentes menores del granulo de almidón.....	26
1.3. Complejos de inclusión almidón-lípidos.....	27
1.3.1. Fuerzas motrices para la formación de complejos.....	28
1.3.2. Organización lipídica dentro de la hélice.....	29
Capítulo 2.....	30
2. Materiales y métodos.....	30
2.1. Materiales.....	30
2.2. Preparación de las dispersiones de almidón gelatinizado.....	30
2.3. Contenido de sólidos totales, amilosa aparente y proteína de las fracciones sobrenadantes.....	31
2.4. Tensión interfacial dinámica.....	31
2.5. Preparación de las emulsiones aceite-en-agua.....	32
2.6. Análisis FTIR.....	32
2.7. Microscopía óptica.....	32
2.8. Determinación del tamaño de gota promedio.....	33
2.9. Difracción de Rayos X (DRX).....	33
2.10. Potencial Zeta (potencial- ζ).....	33
2.11. Estabilidad al cremado.....	33
Capítulo 3.....	34
3. Resultados y discusión.....	34
3.1. Contenido de sólidos totales, amilosa aparente y proteína de las fracciones sobrenadantes.....	34

3.2. Cinética de la tensión interfacial.....	35
3.3. Cinética de la presión interfacial.....	39
3.4. Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).....	42
3.5. Tamaño de gota promedio.....	44
3.6. Difracción de Rayos X (DRX).....	47
3.7. Cremado.....	49
Capítulo 4.....	53
4. Conclusiones.....	53
Bibliografía.....	54

Índice de figuras

	Pág.
Figura 1. Estructuras de cadena abierta y anillo de piranosa del azúcar hexosa D-glucosa.	19
Figura 2. Enlaces glicosídicos α -1,4 y α -1,6 del almidón.	20
Figura 3. Estructura de la amilosa y la amilopectina.	23
Figura 4. Modelo de la gelatinización del almidón.	25
Figura 5. Corte transversal de un grano de sorgo tratado con α -amilasa.	26
Figura 6. Una hélice de amilosa simple levógira, formando un complejo con un ligando cuya cabeza polar está ubicada fuera de la hélice, mientras que su cadena alifática está situada en la cavidad de la hélice.	27
Figura 7. (a) Evolución en el tiempo de la tensión interfacial (γ) para la adsorción de las fracciones solubles de almidón (AMC, AMN, AAN y ATN) en la interfase aceite-agua. Constantes de tiempo de relajación (b) rápidas y (c) lentas, y (d) tensión residual, estimada al ajustar un modelo de decaimiento exponencial de segundo orden.	37
Figura 8. (a) Dependencia de la presión interfacial (P_{int}) como una función de la raíz cuadrada del tiempo ($t^{1/2}$). La línea continua representa la pendiente lineal de las curvas donde la adsorción está controlada por la difusión (k_{diff}). (b) Gráfica de $\ln (P_{int,10800} - P_{int,t}) / (P_{int,10800} - P_{int,0})$ versus t . Las líneas continuas representan la primera	41

pendiente correspondiente a la constante de velocidad de primer orden de la penetración ($1/\tau_{pen}$), mientras que la segunda pendiente corresponde a la constante de velocidad de primer orden del reordenamiento estructural ($1/\tau_{rea}$).

- Figura 9.** (a) Espectros FTIR de las emulsiones estabilizadas con las FS_x. 43
(b) Detalle de los espectros de la región 2950-2900 cm⁻¹.
- Figura 10.** Variación del diámetro de gota promedio ($d_{4,3}$) de las emulsiones 44
monitoreadas durante los 28 días de almacenamiento a temperatura ambiente.
- Figura 11.** Imágenes ópticas de las emulsiones 3 días después de su 46
preparación: (a) E_{AMC}, (b) E_{AMN}, (c) E_{AAN} y (d, e, f) E_{ATN}. Las imágenes (a), (b), (c), y (f) se tomaron con un aumento de 100x; (d) y (e) se tomaron con un aumento de 10x y 40x, respectivamente.
- Figura 12.** (a) Espectros DRX de las diferentes FS_x. (b) Patrones de DRX de 48
las emulsiones estabilizadas con las fracciones solubles de almidón de diferentes fuentes botánicas. (c) Cristalinidad relativa del sobrenadante a la emulsión.
- Figura 13.** Cremado en las emulsiones O/W después de (a) 3 horas y (b) 28 49
días de preparación.
- Figura 14.** Transmisión integrada (%) versus tiempo (s) de las emulsiones. 50

Índice de tablas

	Pag.
Tabla 1. Contenido aproximado de amilosa y amilopectina en almidones comunes.	24
Tabla 2. Contenido de sólidos totales (ST), amilosa aparente y proteínas de las FS _x .	35
Tabla 3. Parámetros dinámicos de la adsorción de las fracciones solubles de almidón en la interfase aceite-agua.	40
Tabla 4. Potencial- ζ de las emulsiones.	51

Nomenclatura

AAN	Almidón de arroz nativo
AMC	Almidón de maíz ceroso
AMN	Almidón de maíz nativo
ATN	Almidón de trigo nativo
C_0	Concentración inicial de adsorbente
K	Constante de Boltzmann
τ_s	Constante de tiempo de relajación lenta
τ_f	Constante de tiempo de relajación rápida
$d_{4,3}$	Diámetro de gota promedio ponderado en volumen
DRX	Difracción de Rayos X
D	Difusividad
DAG	Dispersión de almidón gelatinizado
Emulsión O/W	Emulsión aceite-en-agua
E_{AAN}	Emulsión hecha con el sobrenadante de almidón de arroz nativo
E_{AMC}	Emulsión hecha con el sobrenadante de almidón de maíz ceroso
E_{AMN}	Emulsión hecha con el sobrenadante de almidón de maíz nativo
E_{ATN}	Emulsión hecha con el sobrenadante de almidón de trigo nativo
FTIR	Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier
FS_x	Fracción sobrenadante para cada tipo de almidón
A_f y A_s	Parámetros pre-exponenciales
Potencial- ζ	Potencial zeta
P_{int}	Presión interfacial
ST	Sólidos totales
T	Temperatura
γ	Tensión interfacial
γ_{res}	Tensión interfacial residual
t	Tiempo

Resumen

Dispersiones acuosas (5.0 g/100 g de agua) de almidones de diferente origen botánico (x = maíz ceroso (AMC), maíz (AMN), arroz (AAN) y trigo (ATN) nativos) se calentaron (90 °C, 20 min) para gelatinizarlos completamente. Las dispersiones de almidón gelatinizado (DAG_x) se centrifugaron y se utilizó la fracción sobrenadante (FS_x) para la preparación de emulsiones aceite-en-agua (O/W_x) con una fracción másica de la fase dispersa de 0.15. La actividad interfacial de las diferentes FS_x se evaluó mediante mediciones de la tensión interfacial dinámica. Las FS_{AMN}, FS_{AAN} y FS_{ATN} mostraron tasas de decaimiento de la tensión interfacial significativamente más altas y rápidas que FS_{AMC}. Todas las FS_x fueron capaces de formar emulsiones O/W. El diámetro de gota promedio ponderado en volumen ($d_{4,3}$) de las emulsiones frescas fue significativamente diferente, con un rango de ~1.4 a 19 μm . Las emulsiones hechas con FS_{AMN}, FS_{AAN} y FS_{ATN} mostraron un mayor $d_{4,3}$ y velocidades de cremado más rápidas que la hecha con FS_{AMC}. Esta última produjo una emulsión que prácticamente no mostró cambios en $d_{4,3}$ con el tiempo de almacenamiento, y la velocidad de cremado fue la más lenta. La Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), la Difracción de Rayos X (DRX), las mediciones de potencial- ζ , y las constantes de tiempo de relajación de la adsorción interfacial, permitieron postular que la estabilidad de las todas emulsiones estaba relacionada con la formación de complejos de inclusión de moléculas de almidón-lípidos en la interfase aceite-agua, y en términos generales, a mayor concentración de amilosa aparente en la FS_x, mayor el número de complejos de inclusión y mayor la estabilidad de las emulsiones O/W. Este estudio proporciona información acerca de los mecanismos de interacción entre ingredientes de una emulsión alimenticia en la interfase aceite-agua y que eventualmente tienen efecto sobre su estabilidad y propiedades funcionales.

Introducción

Las emulsiones aceite-en-agua (O/W) son estructuras comúnmente utilizadas en las industrias farmacéutica y alimentaria para acarrear y proteger compuestos lipofílicos de condiciones ambientales adversas (pH, oxígeno y luz). Hoy en día, la fabricación de emulsiones O/W es relativamente simple, e involucra la dispersión de un agente emulsionante (v. gr., surfactantes) para evitar la coagulación y la agregación de las gotas de aceite. Los surfactantes sintéticos (v. gr., tweens) se han utilizado tradicionalmente para estabilizar emulsiones O/W. La estructura molecular de estos compuestos está hecha de una cola lipofílica y una cabeza hidrofílica, que se empaquetan de forma compacta en la interface aceite-agua. El efecto es la formación de una capa interfacial que puede desarrollar un término de repulsión electrostática que ralentiza la interacción gota-gota y proporciona una barrera mecánica contra la coalescencia de gotas (Bergenståhl, 1995). Los surfactantes sintéticos son emulsificantes eficientes, producen emulsiones altamente estables con tamaños de gota relativamente pequeños. Sin embargo, el uso de estos compuestos es cada vez más controvertido en las industrias farmacéutica y de alimentos debido a los efectos adversos reportados para la salud humana (Fadeel et al., 2017). En la última década, se han considerado alternativas innovadoras para sustituir el uso de surfactantes sintéticos.

Motivados por la búsqueda de alternativas naturales saludables, de bajo costo y fáciles de usar, los fabricantes de alimentos y los consumidores han prestado atención a los almidones de diferentes orígenes botánicos para estabilizar emulsiones O/W. El almidón es barato, biodegradable y generalmente etiquetado como grado alimenticio. Comúnmente, los gránulos de almidón se modifican por medio de anhídrido octenilsuccínico (OSA) para obtener partículas hidrofóbicas con actividad interfacial (Song et al., 2015; Tesch et al., 2002). El tratamiento térmico también puede aumentar la hidrofobicidad de las partículas de almidón, aumentando la estabilización de las emulsiones O/W (Tabara et al., 2015; Timgren et al., 2013). Por otro lado, las partículas de almidón nativo se usan comúnmente como agente estabilizador en platillos tradicionales y listos para comer que contienen fracciones de lípidos (Skrede, 1989). Una comprensión detallada de los mecanismos implicados en la estabilización de la emulsión podría proporcionar información valiosa para optimizar la preparación de los platillos. En general, la gran cantidad de resultados en la literatura ha demostrado que las

moléculas/partículas de almidón modificadas por métodos adecuados son viables para proporcionar estabilidad a mediano y largo plazo a las emulsiones O/W.

En general, los gránulos de almidón tienen una hidrofobicidad reducida, de modo que se requiere alguna modificación (por ejemplo, hidrólisis ácida, aplicación de OSA o tratamiento térmico) para obtener partículas adecuadas para la estabilización de emulsiones O/W. Kasprzak et al. (2018) exploraron la capacidad de los almidones gelatinizados no modificados químicamente para estabilizar emulsiones de aceite-en-agua, y descubrieron que no todos podían lograrlo. Por otro lado, Vernon-Carter et al. (2015) demostraron que la fracción sobrenadante obtenida de dispersiones de almidón gelatinizado centrifugadas tenía una morfología cristalina similar a una aguja que se aglomeraba en estructuras laminares después del secado. Los resultados sugirieron que tales nanocristales eran de naturaleza hidrofóbica, con la capacidad de mostrar actividad interfacial. Motivado por esto, el presente trabajo exploró la capacidad de la fracción sobrenadante de dispersiones de almidón gelatinizado de diferentes fuentes botánicas para estabilizar emulsiones O/W.

Planteamiento del problema

Actualmente, existe una tendencia mundial por el desarrollo de alimentos saludables. Debido al surgimiento de enfermedades asociadas con la alimentación, hoy en día los consumidores están demandando alimentos que sean funcionales. El desarrollo de estos alimentos muchas veces requiere del uso de sistemas dispersos alimenticios, tales como emulsiones aceite-en-agua. Para estabilizar estas emulsiones tradicionalmente se han usado surfactantes sintéticos (v. gr., tweens). Sin embargo, el uso de estos compuestos en la industria alimentaria es cada vez más controvertido debido a los efectos adversos reportados para la salud humana. Debido a esto, es necesario buscar nuevas alternativas de materiales naturales saludables con propiedades emulsificantes que puedan reemplazar a estos compuestos sintéticos.

Objetivos

Objetivo general

Estudiar las propiedades emulsificantes de las fracciones sobrenadantes de dispersiones de almidones gelatinizados (FS_x) de diferente origen botánico en la estabilización de emulsiones aceite-en-agua.

Objetivos particulares

1. Determinar el contenido de sólidos totales, amilosa aparente y proteína para cada una de las FS_x .
2. Estudiar la adsorción de las moléculas de las FS_x en la interfase aceite-agua mediante la medición de la tensión interfacial dinámica.
3. Evaluar la estabilidad de las emulsiones aceite-en-agua (O/W) a través del seguimiento de la variación del diámetro promedio de gota ponderado en volumen ($d_{4,3}$) en el tiempo, de su sedimentación centrífuga, del potencial zeta (potencial- ζ), y de su morfología por microscopía óptica.
4. Estudiar la formación de los complejos almidón-lípidos mediante el análisis FTIR y DRX.

Justificación

Los surfactantes sintéticos se han utilizado tradicionalmente para estabilizar emulsiones O/W. Sin embargo, el uso de estos compuestos en las industrias farmacéutica y alimentaria es cada vez más controvertido debido a los efectos adversos reportados para la salud humana. Esto ha llevado a la búsqueda de materiales de origen natural de bajo costo, fáciles de usar, saludables y con propiedades emulsificantes que puedan reemplazar el uso de compuestos sintéticos. Motivados por esto, los fabricantes de alimentos y los consumidores han prestado atención a los almidones de diferentes orígenes botánicos para estabilizar emulsiones O/W. El almidón es barato, biodegradable y generalmente etiquetado como grado alimenticio, y su uso en la estabilización de emulsiones se ha incrementado a lo largo de los años. Sin embargo, debido a que el almidón tiene una hidrofobicidad reducida se requiere alguna modificación (por ejemplo, hidrólisis ácida, aplicación de OSA o tratamiento térmico) para obtener partículas adecuadas para la estabilización de emulsiones O/W. Algunos de estos métodos de modificación del gránulo de almidón, además de representar un costo económico, tienen impactos negativos en el medio ambiente debido a la generación de residuos contaminantes.

Hoy en día existen trabajos reportados sobre el uso del almidón gelatinizado completo en la estabilización de emulsiones alimenticias, donde la estabilización se logra principalmente por un aumento en la viscosidad en la fase continua, reduciendo así la movilidad de las gotas y los fenómenos agregativos de las gotas. Sin embargo, no existen reportes donde se hayan usado las fracciones sobrenadantes del almidón gelatinizado para estabilizar emulsiones. Esto ha llevado a proponer el presente trabajo para explorar la capacidad de las fracciones sobrenadantes de dispersiones de almidones gelatinizados de diferentes fuentes botánicas para estabilizar emulsiones O/W. Los conocimientos que se generen serán importantes para dilucidar la capacidad de las cadenas de almidón para proporcionar estabilidad a mediano y largo plazo de mezclas de aceite y agua complejas.

Hipótesis

Las fracciones solubles de almidones gelatinizados de distintos orígenes botánicos son capaces de formar complejos de inclusión almidón-lípidos en la interfase aceite-agua de emulsiones O/W, brindando estabilidad a las gotas de aceite a corto y mediano plazo contra factores agregativos y coalescencia.

Capítulo 1**1. Antecedentes****1.1. Emulsiones**

Una emulsión consiste en dos líquidos inmiscibles (comúnmente aceite y agua), con uno de los líquidos disperso (fase dispersa) en el otro (fase continua) en forma de pequeñas gotas esféricas. Las emulsiones convencionales pueden ser clasificadas de acuerdo con la distribución de las fases oleosa y acuosa. En una emulsión de aceite-en-agua (O/W) las gotas de aceite están dispersas en agua, mientras que en una emulsión agua-en-aceite (W/O) las gotas de agua se encuentran dispersas en aceite. La concentración de gotas en una emulsión se describe en términos de la fracción másica de la fase dispersa (ϕ) (McClements, 1999).

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables debido a que el contacto entre las moléculas de agua y aceite no es favorable energéticamente. Sin embargo, es posible formar emulsiones que sean cinéticamente estables (metaestables) por un periodo de tiempo razonable (unos pocos días, semanas, meses, o años) incorporando sustancias conocidas como emulsificantes y/o agentes espesantes. Los emulsificantes son moléculas superficialmente activas que se adsorben en la superficie de las gotas, que estabilizan las gotas contra fenómenos agregativos (floculación) debido a el surgimiento un potencial de repulsión (eléctrico y/o estérico), o que retardan y evitan su fusión en gotas mayores (coalescencia) debido a la formación de una membrana interfacial viscoelástica resistente contra diversas perturbaciones ambientales. Los agentes emulsificantes más comunes utilizados en la industria alimentaria son las proteínas y polisacáridos de baja viscosidad que contienen una pequeña fracción de proteína unida covalentemente a los azúcares. Los agentes espesantes son ingredientes los cuales son usados para incrementar la viscosidad de la fase continua de las emulsiones, y mejoran la estabilidad de la emulsión retardando el movimiento browniano de las gotas. Los agentes espesantes más comunes utilizados en la industria alimentaria son los polisacáridos de alta viscosidad y carentes de grupos superficialmente activos (McClements, 1999).

Las emulsiones aceite-en-agua (O/W) son estructuras comúnmente utilizadas en las industrias farmacéutica y alimentaria para acarrear y proteger los compuestos lipofílicos de condiciones ambientales adversas (pH, oxígeno y luz). Hoy en día, la fabricación de

emulsiones O/W es relativamente simple, e involucra la dispersión de un agente emulsionante (v. gr., surfactantes) para evitar la coagulación y la agregación de las gotas de aceite. Las micro- y nano-emulsiones pueden ser obtenidas dependiendo de la estructura fisicoquímica de los agentes emulsificantes y de la tasa de corte aplicada para dispersar la fase oleosa. Entre muchas otras, las aplicaciones sobresalientes de las emulsiones O/W incluyen la protección de la curcumina (Wang et al., 2008), β -caroteno (Villalobos-Castillejos et al., 2017), oleorresina de paprika (Pascual-Pineda et al., 2018), vitaminas D y E (Granillo-Guerrero et al., 2017), aceite de sésamo (Fuentes-Ortega et al., 2017) contra los factores ambientales degradantes y la liberación controlada de sabores a base de aceite (Arancibia et al., 2011).

Los surfactantes sintéticos (v. gr., tweens) se han utilizado tradicionalmente para estabilizar emulsiones O/W. La estructura molecular de estos compuestos está hecha de una cola lipofílica y una cabeza hidrofílica, que se empaquetan de forma compacta en la interface aceite-agua. El efecto es la formación de una capa interfacial que puede desarrollar un término de repulsión electrostática que ralentiza la interacción gota-gota y proporciona una barrera mecánica contra la coalescencia de gotas (Bergenståhl, 1995). Los surfactantes sintéticos son emulsificantes eficientes, producen emulsiones altamente estables con tamaños de gota relativamente pequeños. Sin embargo, el uso de estos compuestos es cada vez más controvertido en las industrias farmacéutica y de alimentos debido a los efectos adversos reportados para la salud humana (Fadeel et al., 2017). En la última década, se han considerado alternativas innovadoras para sustituir el uso de surfactantes sintéticos. Por ejemplo, se utilizaron partículas de microgel de proteína de suero para estabilizar emulsiones de grado alimenticio (Destribats et al., 2014). Aquí, las partículas rodean la gota de aceite, formando una barrera eficiente para prevenir la coalescencia y cremado de las gotas. En general, los cristales de grasa y cera, las partículas de proteína y los complejos de proteína-polisacárido se pueden usar para la estabilización de emulsiones por medio de partículas naturales y confiables (Tavernier et al., 2016). Las pectinas metoxiladas se han explorado con resultados que muestran un tamaño de gota pequeño en comparación con, por ejemplo, goma arábiga (Bai et al., 2017; Guerra-Rosas et al., 2016).

Motivados por la búsqueda de alternativas naturales saludables, de bajo costo y fáciles de usar, los fabricantes de alimentos y los consumidores han prestado atención a los

almidones de diferentes orígenes botánicos para estabilizar emulsiones O/W. El almidón es barato, biodegradable y generalmente etiquetado como grado alimenticio. Comúnmente, los gránulos de almidón se modifican por medio de anhídrido octenilsuccínico (OSA) para obtener partículas hidrofóbicas con actividad interfacial (Song et al., 2015; Tesch et al., 2002). Se encontró que el tamaño de las partículas de almidón (Saari et al., 2016) y el grado de sustitución (Bello-Perez et al., 2015) afectan la estabilidad de las emulsiones. El tratamiento térmico también puede aumentar la hidrofobicidad de las partículas de almidón, aumentando la estabilización de las emulsiones O/W (Tabara et al., 2015; Timgren et al., 2013). Los nanocristales obtenidos por hidrólisis con ácido sulfúrico de gránulos de almidón de maíz demostraron ser eficientes en la estabilización de emulsiones a través del mecanismo Pickering (Li et al., 2012). Se han considerado mezclas de almidón/hidrocoloides no almidonáceos son capaces de impartir propiedades funcionales deseadas a aplicaciones orientadas (Mahmood et al., 2017). Por otro lado, las partículas de almidón nativo se usan comúnmente como agente estabilizador en platillos tradicionales y listos para comer que contienen fracciones de lípidos (Skrede, 1989). Una comprensión detallada de los mecanismos implicados en la estabilización de la emulsión podría proporcionar información valiosa para optimizar la preparación de los platillos. En general, la gran cantidad de resultados en la literatura ha demostrado que las moléculas/partículas de almidón modificadas por métodos adecuados son viables para proporcionar estabilidad a mediano y largo plazo a las emulsiones O/W.

En general, los gránulos de almidón tienen una hidrofobicidad reducida, de modo que se requiere alguna modificación (por ejemplo, hidrólisis ácida, aplicación de OSA o tratamiento térmico) para obtener partículas adecuadas para la estabilización de emulsiones O/W. Kasprzak et al. (2018) exploraron la capacidad de los almidones gelatinizados no modificados químicamente para estabilizar las emulsiones de aceite-en-agua, y descubrieron que no todos podían lograrlo. Por otro lado, Vernon-Carter et al. (2015) demostraron que la fracción sobrenadante obtenida de dispersiones de almidón gelatinizado centrifugadas tenía una morfología cristalina similar a una aguja que se aglomeraba en estructuras laminares después del secado. Los resultados sugirieron que tales nanocristales eran de naturaleza hidrofóbica, con la capacidad de mostrar actividad interfacial.

1.2. Estructura del almidón

El almidón es uno de los polisacáridos más importantes y abundantes en la naturaleza, y es un componente importante de muchas plantas alimenticias como el trigo, la cebada, el arroz, el maíz, la papa, el camote y la yuca. El almidón se utiliza en alimentos, cosméticos, papel, textiles y en ciertas industrias, como adhesivo, espesante, estabilizante y gelificante. Es un polisacárido que se encuentra naturalmente como gránulos semi-cristalinos, constituido por dos tipos de moléculas, conocidas como amilosa y amilopectina, en relaciones molares de 15-25% y 85-75%, respectivamente (Tako et al., 2014; Genovese y Rao, 2003). Las características químicas y físicas únicas del almidón lo diferencian de todos los otros carbohidratos.

1.2.1. Química de carbohidratos

Independientemente de la fuente botánica, el almidón es básicamente polímeros del azúcar de seis carbonos D-glucosa, a menudo denominado como el "bloque de construcción" del almidón. La estructura del monosacárido D-glucosa puede representarse en forma de cadena abierta o en forma de anillo (Figura 1). La configuración de anillo se denomina piranosa, es decir, D-glucopiranosa. El anillo de piranosa es el más estable termodinámicamente y es la configuración del azúcar en solución. El grupo aldehído altamente reactivo en el carbono número 1 (C1) en la D-glucosa lo convierte en un azúcar reductor (Thomas y Atwell, 1999).

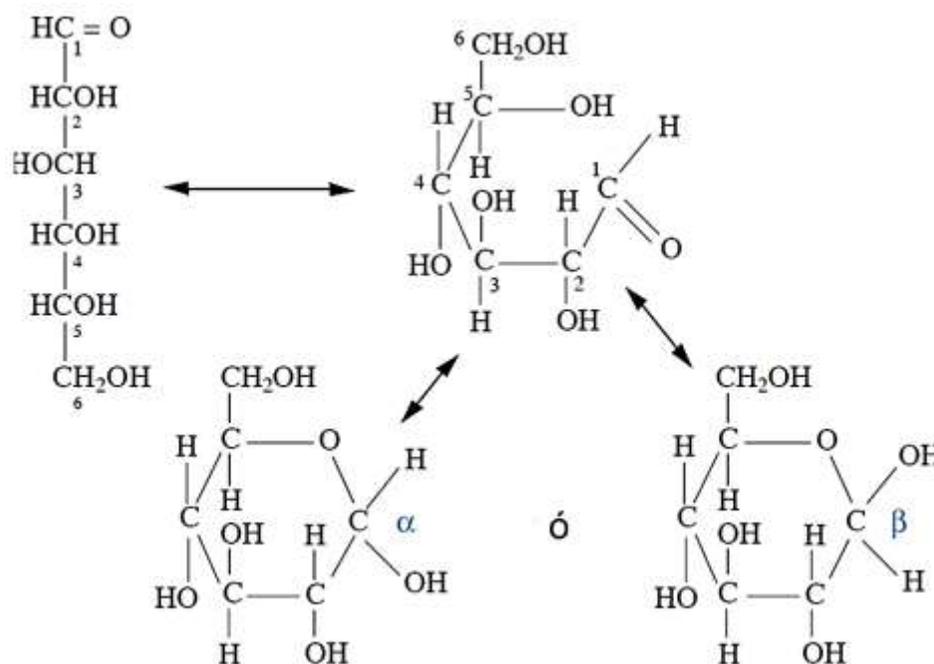


Figura 1. Estructuras de cadena abierta y anillo de piranosa del azúcar hexosa D-glucosa. La forma del anillo se conoce como D-glucopiranososa y puede estar en la configuración α o β [figura adaptada de Thomas y Atwell, 1999]. Los polímeros de almidón contienen solamente enlaces α .

El almidón consiste principalmente en polímeros de D-glucopiranososa unidos entre sí por enlaces glicosídicos α -1,4 y α -1,6 (Figura 2). Al formarse estos enlaces, el carbono número 1 (C1) en una molécula de D-glucopiranososa reacciona con el carbono número 4 (C4) o el carbono número 6 (C6) de una molécula de D-glucopiranososa adyacente. Debido a que el grupo aldehído en un extremo de un polímero de almidón siempre está libre, los polímeros de almidón siempre tienen un extremo reductor. El otro extremo del polímero se llama el extremo no reductor. Dependiendo del número de ramificaciones poliméricas presentes en una molécula de almidón, podría haber un gran número de extremos no reductores. Los enlaces glicosídicos en el almidón están en la configuración alfa (α). La formación de un enlace α está determinada por la orientación del grupo hidroxilo ($-\text{OH}$) en C1 del anillo de piranosa (Figura 1). El enlace α permite que algunos polímeros de almidón formen estructuras helicoidales. Para ilustrar la importancia del enlace α , el almidón a veces se compara con la celulosa, un polímero de glucosa con enlaces β -1,4 entre subunidades. Esta diferencia aparentemente trivial resulta en grandes diferencias

entre los polímeros de almidón y celulosa, especialmente en la configuración estructural, las propiedades fisicoquímicas y la susceptibilidad a ciertas enzimas (Thomas y Atwell, 1999).

Debido a su configuración β , la celulosa forma una estructura laminada en forma de cinta, mientras que los polímeros de almidón suelen ser helicoidales. La configuración α y la geometría helicoidal del almidón contribuyen a sus propiedades únicas y a la digestibilidad de las enzimas. Los polímeros de almidón pueden ser hidrolizados por las enzimas amilasas, a menudo denominadas enzimas que "dividen el almidón". Dado que los enlaces β -1,4 de la celulosa no son susceptibles a las enzimas amilasas, la mayoría de los animales no pueden digerir la celulosa.

La polimerización de la glucosa en el almidón da como resultado dos tipos de polímeros, amilosa y amilopectina. La amilosa es un polímero esencialmente lineal, mientras que la molécula de amilopectina es mucho más grande y está ramificada. Las diferencias estructurales entre estos dos polímeros contribuyen a diferencias significativas en las propiedades y la funcionalidad del almidón (Thomas y Atwell, 1999).

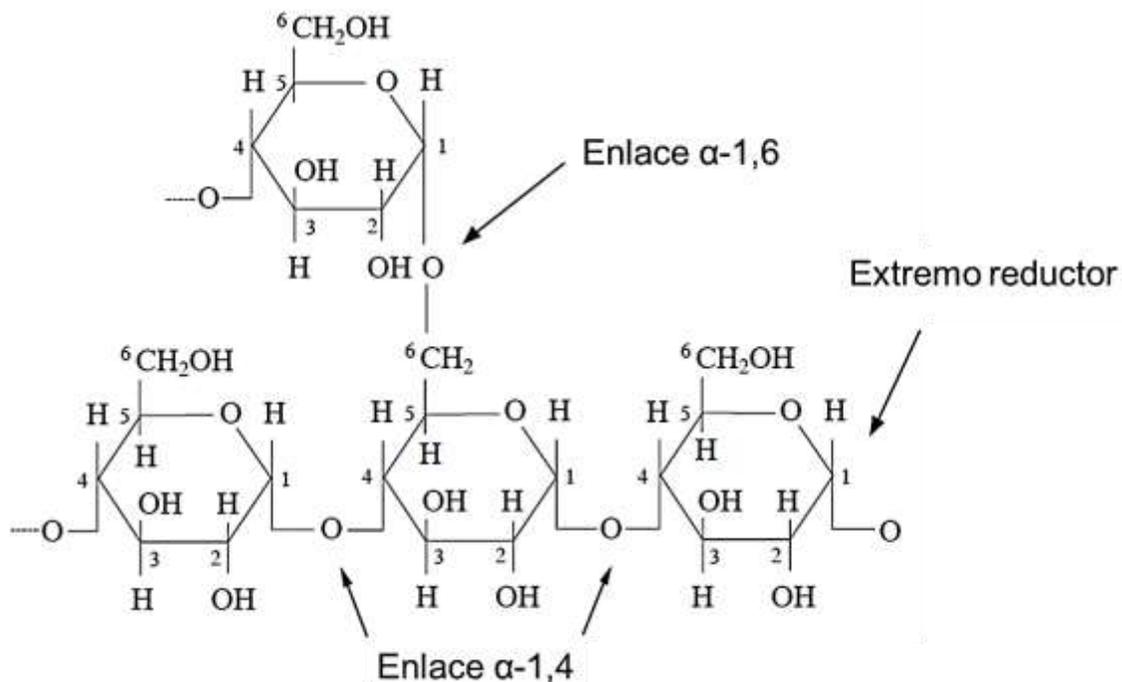


Figura 2. Enlaces glicosídicos α -1,4 y α -1,6 del almidón [figura adaptada de Thomas y Atwell, 1999].

1.2.2. Propiedades de la amilosa y amilopectina

Aunque la amilosa y la amilopectina están compuestas de moléculas de D-glucopiranosas, las diferencias entre estos dos polímeros dan como resultado diferencias importantes en las propiedades funcionales.

1.2.2.1. Amilosa

Se considera que la amilosa es un polímero esencialmente lineal compuesto casi en su totalidad de D-glucopiranosas con enlaces α -1,4. Sin embargo, evidencias sugieren que algunas ramificaciones están presentes en el polímero de amilosa (Curá et al., 1995). El modelo simplificado para la estructura de la amilosa se muestra en la Figura 3. Aunque típicamente se ilustra como una estructura de cadena recta por razones de simplicidad, la amilosa es en realidad helicoidal. El interior de la hélice contiene átomos de hidrógeno y, por lo tanto, es hidrofóbico, lo que permite que la amilosa forme un tipo de complejo de clatrato con ácidos grasos libres, componentes de ácidos grasos de glicéridos, algunos alcoholes y yodo. La complejación con lípidos, particularmente mono y diglicéridos, es una propiedad bien conocida de la hélice de amilosa. La formación y la integridad estructural de los complejos de amilosa-lípidos son funciones de varios factores, incluidos la temperatura, el pH, el tiempo de contacto y/o mezclado entre el polímero de amilosa "anfitrión" y la molécula "huésped", y la estructura del ácido graso o glicérido. El "complejo de inclusión" resultante, como suele llamarse, puede alterar las propiedades del almidón. La complejación de la amilosa con grasas y emulsionantes alimenticios, como los mono y diglicéridos, pueden cambiar las temperaturas de gelatinización del almidón, alterar los perfiles de textura y viscosidad de la pasta resultante, y limitar la retrogradación (Thomas y Atwell, 1999).

Otro atributo bien conocido de la amilosa es su capacidad para formar un gel después de que el gránulo de almidón se haya cocinado, es decir, se haya gelatinizado y se haya hecho pasta. Esta propiedad es evidente en el comportamiento de ciertos almidones que contienen amilosa. El almidón de maíz, el almidón de trigo, el almidón de arroz, y particularmente el almidón de maíz alto en amilosa aislado de las plantas de maíz híbridas, generalmente se consideran almidones gelificantes. La formación de gel es principalmente el resultado de la reasociación (es decir, la retrogradación) de los polímeros de almidón solubilizados después de la cocción y puede ocurrir rápidamente con el polímero lineal de amilosa (Thomas y Atwell, 1999).

1.2.2.2. Amilopectina

La amilopectina, la molécula predominante en la mayoría de los almidones normales, es un polímero ramificado que es mucho más grande que la amilosa (Figura 3). La amilopectina está compuesta por segmentos de glucosa enlazados en α -1,4 conectados por puntos de ramificación enlazados en α -1,6. Se ha estimado que alrededor del 4-6% de los enlaces dentro de una molécula de amilopectina promedio son enlaces α -1,6. Esto puede parecer un pequeño porcentaje, pero da como resultado más de 20,000 ramificaciones en una molécula promedio, aunque las ramificaciones en sí mismas no son grandes. Los estudios sugieren una distribución de tamaño bimodal de las cadenas de polímeros, es decir, cadenas pequeñas y grandes. Las cadenas pequeñas tienen un grado promedio de polimerización (GP) de aproximadamente 15, mientras que el de las cadenas más grandes es aproximadamente 45. Esta configuración única contribuye a la naturaleza cristalina de la amilopectina y una disposición ordenada de moléculas de amilopectina dentro del gránulo de almidón. El comportamiento de las cadenas de ramificación de la amilopectina es similar al de las cadenas de amilosa en que las cadenas completas o, más comúnmente, las porciones de las cadenas pueden ser helicoidales (Thomas y Atwell, 1999).

Debido a la naturaleza altamente ramificada de la amilopectina, sus propiedades difieren de las de la amilosa. Por ejemplo, dado el tamaño de la molécula y su estructura similar a una "planta rodadora", la retrogradación se ralentiza y la formación de gel puede retrasarse o prevenirse. Las pastas de almidones que contienen esencialmente toda la amilopectina (almidones cerosos) se consideran no gelificantes, pero típicamente tienen una textura cohesiva y gomosa (Thomas y Atwell, 1999).

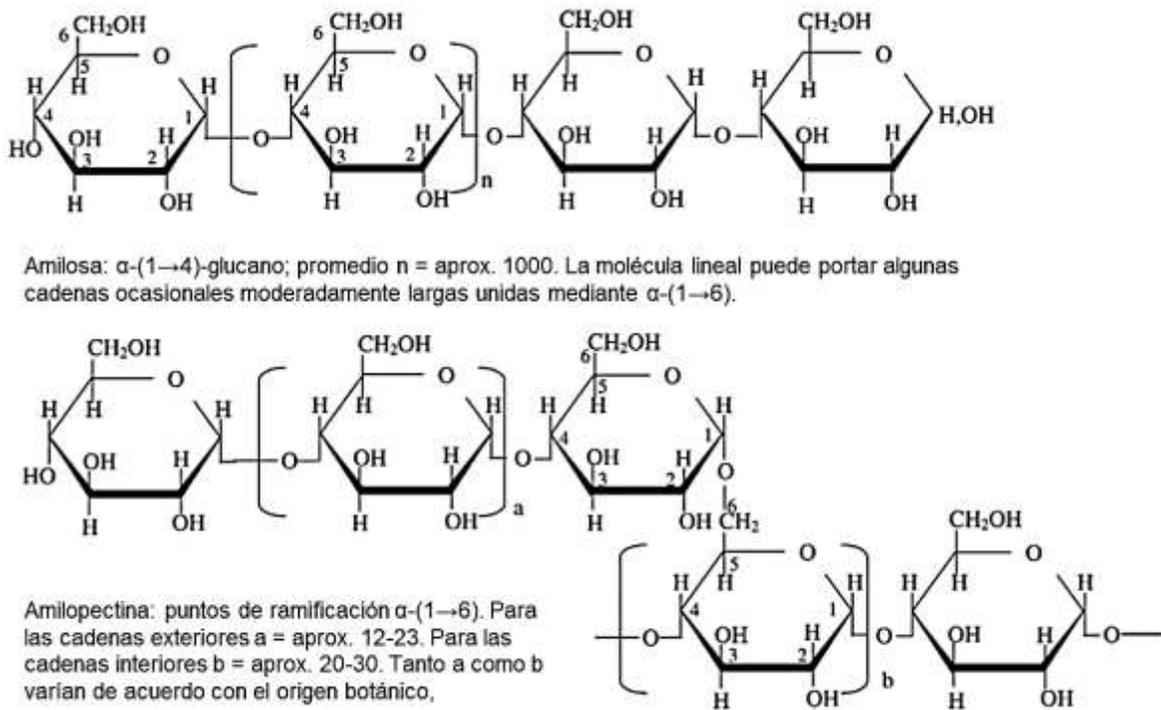


Figura 3. Estructura de la amilosa y la amilopectina [figura adaptada de Tester et al., 2004].

La amilosa de diversas fuentes botánicas tiene un GP de aproximadamente 1,500-6,000. La molécula de amilopectina, mucho más grande, tiene un GP de aproximadamente 300,000-3,000,000 (Zobel, 1988). Sobre la base de estos números y dado un peso molecular (PM) para la anhidroglucosa de 162, el PM de la amilosa puede variar de aproximadamente 243,000 a 972,000. Aunque se ha reportado que la amilosa de almidón de papa tiene un PM de hasta aproximadamente 1,000,000, el PM de la amilosa es generalmente menor a 500,000. El PM de la amilopectina puede oscilar entre aproximadamente 10,000,000 y 500,000,000. Las diferencias en el PM de las fracciones de amilosa y amilopectina están directamente relacionadas con la fuente vegetal, el método de aislamiento del polímero (generalmente se usa un método de precipitación con solvente) y el método de determinación del PM (Thomas y Atwell, 1999).

La relación de amilosa y amilopectina dentro de un tipo dado de almidón es un punto muy importante que considerar con respecto a la funcionalidad del almidón en los alimentos. El contenido y la estructura de amilosa y amilopectina afectan la arquitectura del gránulo de

almidón, los perfiles de gelatinización y pastado, y los atributos de textura. Los contenidos aproximados de amilosa y amilopectina de varios almidones se muestran en la Tabla 1. Mediante el uso de técnicas de reproducción clásicas y de biología molecular sofisticada, ahora es posible obtener almidones de varias fuentes vegetales híbridas que contienen esencialmente pura amilosa, pura amilopectina o varias relaciones intermedias.

Tabla 1. Contenido aproximado de amilosa y amilopectina en almidones comunes.

Tipo de almidón	Contenido de amilosa (%)	Contenido de amilopectina (%)
Maíz	25	75
Maíz ceroso	<1	>99
Tapioca	17	83
Papa	20	80
Maíz de alta amilosa	55-70 (o mayor)	45-30 (o menor)
Trigo	25	75
Arroz	19	81

Tabla tomada de Thomas y Atwell, 1999.

1.2.3. Gránulos de almidón

La amilosa y la amilopectina no existen de forma libre en la naturaleza, sino como componentes de agregados discretos, semicristalinos, llamados gránulos de almidón. El tamaño, la forma y la estructura de estos gránulos varían sustancialmente entre las fuentes botánicas. Los diámetros de los gránulos generalmente varían de menos de 1 μm a más de 100 μm , y las formas pueden ser regulares (por ejemplo, esféricas, ovoides o angulares) o bastante irregulares.

1.2.3.1. Estructura interna del gránulo de almidón

La disposición de amilosa y amilopectina dentro del gránulo de almidón no se entiende completamente. El "empaquetamiento" de estos dos polímeros en el gránulo de almidón nativo no es aleatorio, sino que está muy organizado. Sin embargo, cuando se calientan en presencia de agua, los gránulos de almidón se vuelven mucho menos ordenados. Esta pérdida de orden interno ocurre a diferentes temperaturas para diferentes tipos de

almidón. Dependiendo del almidón, si se calienta en agua indefinidamente, el gránulo nativo se hincha hasta que su estructura eventualmente se desintegra, y la amilosa y la amilopectina se liberan en una suspensión acuosa (Thomas y Atwell, 1999). Este proceso es conocido como *gelatinización* del gránulo de almidón. Los almidones gelatinizados típicamente contienen una mezcla de polímeros solubilizados (principalmente moléculas de amilosa y amilopectina lixiviadas con bajo peso molecular) y estructura granular residual (también denominados (fragmentos de) "fantasmas" de gránulos, constituidos principalmente de amilopectina) (Prentice et al., 1992). En la Figura 4 se muestra un modelo de la gelatinización del almidón. Es un modelo de los eventos moleculares de la gelatinización, la formación, el control y la degradación de los fantasmas de gránulos que coinciden con una curva DSC ajustada hipotéticamente (Atkin et al., 1998).

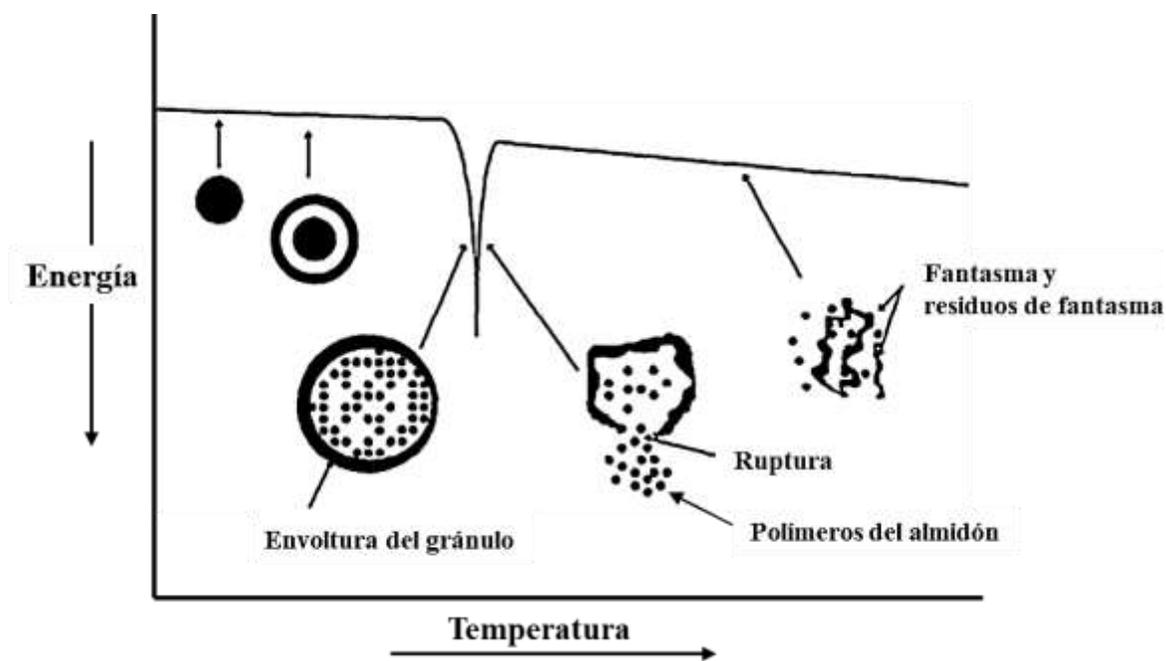


Figura 4. Modelo de la gelatinización del almidón [figura adaptada de Atkin et al., 1998].

Gran parte de lo que se sabe sobre la estructura interna es el resultado de la evaluación microscópica de gránulos parcialmente degradados. En comparación con las áreas cristalinas, las áreas amorfas del gránulo generalmente se degradan más fácilmente con ácido y enzimas, como la α -amilasa. Los gránulos tratados de manera exhaustiva de esta

manera demuestran un patrón anillado análogo a los anillos de crecimiento en una pieza de madera cortada desde un tronco de árbol (Figura 5). Este patrón indica que las áreas cristalinas y amorfas del gránulo se alternan. Se cree que esta configuración resulta de períodos alternos de crecimiento y reposo durante la síntesis del gránulo de almidón (Hoseney, 1994).



Figura 5. Corte transversal de un grano de sorgo tratado con α -amilasa. Observe los anillos concéntricos en los gránulos de almidón rotos. Barra = 10 μm [Imagen tomada de Thomas y Atwell, 1999].

1.2.3.2. Constituyentes menores del gránulo de almidón

Proteínas, lípidos, humedad y cenizas (minerales y sales) también están presentes en los gránulos de almidón en cantidades muy pequeñas (Thomas y Atwell, 1999).

1.3. Complejos de inclusión almidón-lípidos

Como se mencionó anteriormente, el almidón es una mezcla de dos polímeros, la amilosa, que es un polímero de glucosa predominantemente lineal, y la amilopectina, que es un polímero de glucosa ramificado. En presencia de ligandos tales como el yodo y alcoholes lineales, la amilosa sufre un cambio de conformación que resulta en una hélice simple con enrollamiento en sentido antihorario que puede acomplejar el ligando (Figura 6). En su forma no ordenada, los complejos de inclusión de amilosa se conocen como complejos "tipo I". Cuando estos complejos amorfos se organizan en laminillas y dan lugar a la formación de cristalitos, se les denomina complejos de inclusión de amilosa "tipo II" (Putseys et al., 2010).

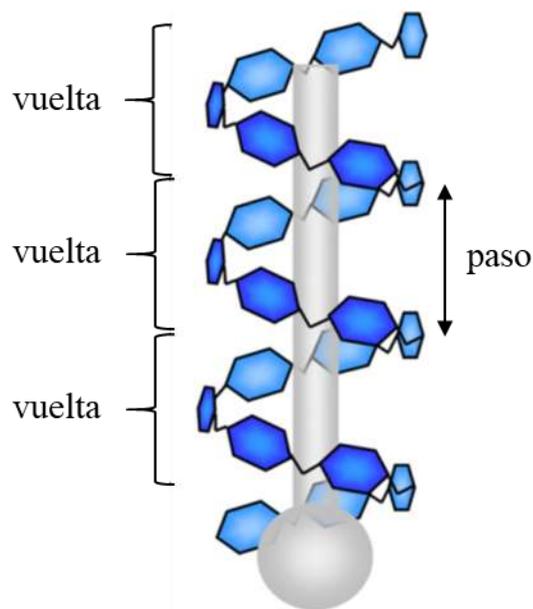


Figura 6. Una hélice de amilosa simple levógira, formando un complejo con un ligando cuya cabeza polar está ubicada fuera de la hélice, mientras que su cadena alifática está situada en la cavidad de la hélice [figura basada en Putseys et al., 2010]. El paso es la distancia entre puntos idénticos en vueltas secuenciales.

Colin y de Claubry descubrieron la interacción del almidón y el yodo en 1814 (Saenger, 1984) y su naturaleza helicoidal fue demostrada por primera vez por Rundle y Baldwin (1943). En esta forma, la amilosa también se conoce como amilosa "V" (Katz, 1937). Katz eligió este nombre porque consideraba que el patrón observado era el de almidón

gelatinizado, o "*Verkleisterter Stärke*" en alemán, abreviado como almidón "V". Sin embargo, se encontró que el patrón resultó de la complejación del almidón gelatinizado con el alcohol usado para deshidratarlo. Sin embargo, el nombre se mantuvo (Zobel, 1988).

El mecanismo por el cual los lípidos interactúan con el almidón es similar al descrito para el yodo y los alcoholes (Mikus et al., 1946). Los complejos de amilosa-lípidos pueden estar presentes de forma natural en el almidón (Evans, 1986; Morrison et al., 1993) o formarse tras la gelatinización del almidón en presencia de lípidos. Sin embargo, si bien la ausencia del patrón de amilosa "V" en los gránulos de almidón nativo implicaría que los complejos de amilosa endógenos carecen de orden cristalino, el predominio de los cristales de almidón nativo puede ocultar la presencia de una contribución de amilosa "V" (Putseys et al., 2010).

Las estructuras de la amilosa "V" son hélices simples con enrollamiento en sentido antihorario con una cavidad interna donde puede residir el ligando acomplejado (Saenger, 1984), como se muestra en la Figura 6. Sin embargo, cada ligando impone sus propias dimensiones de hélice específicas. Por lo tanto, el diámetro y las dimensiones de la hélice están determinados por el agente complejante y la cantidad de agua unida a las unidades de glucosa, según lo propuesto por Valletta et al. (1964).

1.3.1. Fuerzas motrices para la formación de complejos

La presencia de un ligando adecuado induce una conformación helicoidal compacta de la amilosa. Esto da como resultado una hélice con una cavidad hidrofóbica que proporciona sitios de unión con una alta afinidad por el ligando (o parte de él) apolar. Después de esta asociación molecular inicial entre la amilosa y el ligando, y dependiendo de las condiciones de reacción, los complejos obtenidos pueden adquirir un cierto grado de orden, lo que resulta en la formación de cristales (Whittam et al., 1989). Heinemann et al. (2001) propusieron que la fuerza motriz para la creación de estas estructuras complejas es la tendencia de la amilosa a minimizar su interacción con el agua.

La complejación entre la amilosa y un compuesto de inclusión es un proceso reversible. La calorimetría diferencial de barrido (DSC) de los complejos revela una endoterma durante el calentamiento y una exoterma durante el enfriamiento (Biliaderis et al., 1985). La necesidad de calor para disociar el complejo entre la amilosa y su ligando sugiere que

hay ciertas fuerzas que estabilizan la conformación de la hélice. Los enlaces intramoleculares, como las fuerzas de van der Waals y los enlaces de hidrógeno, se producen entre los giros a lo largo de la hélice y estabilizan una hélice de cadena simple (Banks y Greenwood, 1971; Karkalas et al., 1995; Rappenecker y Zugenmaier, 1981; Yamashita y Monobe, 1971). Las fuerzas intermoleculares, por otro lado, estabilizan la interacción entre la amilosa y su ligando. La hélice de amilosa es hidrofílica en el exterior e hidrofóbica en el interior de su cavidad (Immel y Lichtenthaler, 2000), lo que favorece la formación de interacciones hidrofóbicas (Winter y Sarko, 1974). Sin embargo, las fuerzas de van der Waals también se han descrito (Banks y Greenwood, 1971; Immel y Lichtenthaler, 2000). Karkalas et al. (1995) sugieren que las interacciones de van der Waals son posibles solo entre los grupos metileno del lípido y el hidrógeno del carbono cinco en la glucosa.

1.3.2. Organización lipídica dentro de la hélice

Teóricamente se requieren 18-24 unidades de glucosa para la complejación de una molécula lipídica (es decir, ácido graso o monoacilglicerol con 14, 16, 18, átomos de carbono en su cola), organizadas en tres vueltas, cada una con seis u ocho residuos de glucosa por paso (Figura 6). El paso es la distancia entre puntos idénticos en dos vueltas secuenciales. Algunas ramificaciones externas de la amilopectina tienen longitudes de cadena promedio de aproximadamente 15-25 unidades de glucosa (Hizukuri, 1986; Mua y Jackson, 1997; Tester et al., 2004) y, por lo tanto, también pueden participar parcialmente en la formación de complejos (Eliasson, 1994), como observado para almidones libres de amilosa (Kaneda et al., 1996).

En general, se acepta que, para la mayoría de los complejos de amilosa-lípidos, las moléculas lipídicas están ubicadas con su cadena alifática dentro de la cavidad de la hélice, con los grupos terminales metilo enfrentados entre sí. Godet et al. (1993) sugirieron que los grupos carboxilo estaban fuera de la hélice debido a las repulsiones estéricas y electrostáticas. Todos los demás grupos polares de un tamaño superior al de un grupo carboxilo, por lo tanto, probablemente estarán ubicados fuera de la cavidad de la hélice (Snape et al., 1998). Sin embargo, Shogren et al. (2006) describieron el grupo carboxilo de los lípidos como si estuvieran incluidos en el canal central.

Capítulo 2**2. Materiales y métodos**

En este capítulo se presentan los materiales utilizados en la experimentación, así como cada uno de los métodos experimentales que se llevaron a cabo durante la realización del proyecto.

2.1. Materiales

Todas las muestras de almidón utilizadas en este estudio no fueron modificadas químicamente. Almidón de maíz ceroso (AMC, S4251), almidón de maíz nativo (AMN, S4126), almidón de arroz nativo (AAN, S7260) y almidón de trigo nativo (ATN, S5127) se compraron a Sigma-Aldrich Química, S.L. (Toluca, Estado de México, México). Además, aceite de canola (Capullo®, ACH Foods México, S. de R.L. de C.V., Ciudad de México, México) se usó como la fase oleosa en la preparación de emulsiones aceite-en-agua. Todas las pruebas experimentales se realizaron con agua desionizada.

2.2. Preparación de las dispersiones de almidón gelatinizado

Dispersiones acuosas de AMC, AMN, AAN y ATN (5 g/100 g) se agitaron suavemente (250 rpm) a temperatura ambiente por 30 min para su hidratación. Las dispersiones se calentaron en un baño María a 90°C durante 20 min con agitación constante a 250 rpm para permitir la gelatinización completa de los gránulos de almidón. La evaporación de agua se minimizó cubriendo los matraces con varias capas de una película resistente al agua. Las dispersiones de almidón gelatinizado se enfriaron a temperatura ambiente por 1 h, y luego se centrifugaron (Centrífuga HERMLE modelo Z383K, con rotor 220.97 V02, tubos cónicos de 50 mL, HERMLE Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania) a 3863 × g, a 25 °C por 30 min con el fin de obtener dos fracciones de almidón: (i) un precipitado que consiste principalmente de remanentes insolubles ricos en amilopectina (p. ej., “fantasmas”), y (ii) un sobrenadante (FS_x) que consiste principalmente en una fase continua rica en amilosa en el caso de los almidones normales, o en una fase rica en amilopectina en el caso del almidón de maíz ceroso. Las fracciones precipitadas se descartaron, mientras que las fracciones FS_x se usaron como fase continua para preparar las emulsiones de aceite-en-agua (O/W), y donde el subíndice x representa a los almidones de distinto origen botánico: AMC, almidón de maíz ceroso; AMN, almidón de maíz nativo; AAN, almidón de arroz nativo; y ATN, almidón de trigo nativo.

2.3. Contenido de sólidos totales, amilosa aparente y proteína de las fracciones sobrenadantes

Las FS_x se deshidrataron con la ayuda de un liofilizador Labconco FreeZone de 4,5 litros (Labconco Corporation, Kansas City, MO, EE. UU.) operado a -50 ° C y 43 Pa de vacío, y se analizaron para determinar los contenidos de sólidos totales, amilosa aparente y proteína. El contenido de sólidos totales (ST, g/100 g de agua) se obtuvo mediante un balance de masa. Para la estimación del contenido de amilosa aparente, se tomaron muestras de 100 mg, y se transfirieron a un matraz volumétrico de 100 mL. Posteriormente, se agregó 1 mL de etanol para humectar la muestra, y se adicionaron 10 mL de solución de hidróxido de sodio (1 N), y la mezcla se mantuvo en agitación aproximadamente por 1 hora hasta lograr la disolución de la muestra. Después, la disolución se diluyó aforando al volumen con agua desionizada, y luego se pipetearon 2 mL de esta dilución en otro matraz aforado de 100 mL y se agregaron 50 mL de agua desionizada y 100 µL de una solución alcohólica de fenoltaleína (1% p/v). Se añadió gota a gota ácido clorhídrico (0.1 N) hasta neutralizar la solución. Posteriormente, se agregaron 2 mL de solución de yodo (2.0 g de yoduro de potasio y 0.2 g de yodo en 100 mL de agua destilada) a la solución neutralizada y luego se ajustaron a 100 mL en el matraz aforado. Esta solución final se dejó reposar durante 30 minutos para lograr el desarrollo completo del color. El contenido de amilosa aparente se calculó a partir de la relación de las mediciones de 620/510 nm obtenidas con un espectrofotómetro UV-visible (Spectronic Genesys 2, Thermo Electron Corporation, Madison, WI, EE. UU.) (Zhu et al., 2008). Finalmente, el contenido de proteína se analizó con el método 46-13 de la AACC-2000.

2.4. Tensión interfacial dinámica

Se consideró la adsorción interfacial dinámica para evaluar la capacidad de las FS_x para estabilizar las interfaces aceite-agua. Se determinó la disminución de la tensión interfacial (γ) entre el aceite de canola y el agua en función del tiempo (t). Para este fin, se utilizó un medidor de ángulo de contacto óptico (OCA 20, Dataphysics Instruments GmbH, Filderstadt, Alemania). Cada FS_x (x = AMC, AMN, AAN y ATN) se colocó en la jeringa y luego se administró una gota de aproximadamente 35 µL en una cubeta de vidrio que contenía aceite de canola purificado. La forma de la gota se analizó para registrar cambios en la tensión interfacial durante un período de 3 h con una cámara CCD. Todos los experimentos se llevaron a cabo a 25 °C (Trujillo-Ramírez et al., 2018).

2.5. Preparación de las emulsiones aceite-en-agua

Se prepararon emulsiones O/W con las diferentes FS_x usando aceite de canola como fase oleosa. La fracción másica de la fase dispersa en las emulsiones fue de 0.15. Las emulsiones se prepararon incorporando gota a gota el aceite de canola en cada una de las FS_x con la ayuda de un homogeneizador de alto esfuerzo cortante (Ultra-Turrax® T50 basic, IKA® Works, Inc., Wilmington, NC, EE. UU.), operado a 10,000 rpm. (167 Hz) durante 5 minutos para formar una emulsión gruesa. Se usó un baño de hielo para evitar el aumento de la temperatura durante la formación de la emulsión. Finalmente, las emulsiones gruesas se pasaron a través de un homogeneizador de alta presión (NanoDeBEE, B.E.E. International, Inc., Easton, MA, EE. UU.), operado a 1.72×10^8 Pa durante tres ciclos, acoplado a un baño refrigerado (HAAKE K20, Thermo Electron Co., GmbH, Karlsruhe, Alemania) para evitar el aumento de la temperatura durante el proceso de presurización. Las emulsiones resultantes se codificaron como E_x, donde x = tipo de almidón en cada FS_x (AMC, AMN, AAN y ATN) utilizado en su preparación. Las emulsiones se almacenaron a temperatura ambiente antes de los análisis posteriores.

2.6. Análisis FTIR

El espectro de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) de muestras de las emulsiones se obtuvo por medio de un espectrómetro Frontier (PerkinElmer, Inc., Waltham, MA, EE. UU.), equipado con un accesorio de muestreo ATR universal de cristal de diamante/KRS5. Durante las mediciones, la muestra estuvo en contacto con la placa superior del ATR universal de diamante/KRS5. Se usó un espectro de la celda vacía para corregir los efectos de fondo. Para cada muestra, el espectro representó un promedio de 32 escaneos con una resolución de 4 cm^{-1} . Además, los espectros se corrigieron en línea base a $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ dibujando una línea recta debajo de la señal registrada.

2.7. Microscopía óptica

Se usó microscopía óptica para observar la morfología de las emulsiones. Las muestras se colocaron en portaobjetos cóncavos de vidrio (G.S.C. International, Inc., VWR, Radnor, PA, EE. UU.) para evitar el rompimiento de la muestra al colocar el cubreobjetos (Martínez-Velasco et al., 2018). Se utilizó un microscopio Olympus BX45 (Olympus Optical Co., Ltd., Tokio, Japón), y se capturaron imágenes a 100x, 40x y 10x con una cámara Carl Zeiss AxioCamERc 5s (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Göttingen, Alemania).

2.8. Determinación del tamaño de gota promedio

El diámetro promedio de gota ponderado en volumen ($d_{4,3}$) se determinó en emulsiones frescas y después de 3, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento a temperatura ambiente (~ 20 °C) con un analizador de tamaño de partícula por difracción de rayo láser (Mastersizer 2000, Malvern Instruments, Ltd., Malvern, Worcestershire, Reino Unido), utilizando agua desionizada como dispersante. Se utilizó un índice de refracción relativo de 1.103 (relación de los índices de refracción de las fases de aceite y agua) para todas las mediciones.

2.9. Difracción de Rayos X (DRX)

Los patrones de DRX de las FS_x y muestras de las emulsiones se midieron a temperatura ambiente con un difractómetro Siemens D-5000 (Siemens AG, Karlsruhe, Alemania). Se usó radiación de Cu K α ($k = 1.543$) y se operó un monocromador de grafito de haz secundario a 40 kV y 30 mA. Las intensidades se midieron en el rango de 5-50° con un tamaño de paso de 0.03° y un tiempo de medición de 2.0 segundos por punto.

2.10. Potencial zeta (potencial- ζ)

El potencial- ζ de las emulsiones frescas se determinó con un equipo Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Ltd., Malvern, Worcestershire, Reino Unido). Las muestras de emulsiones se diluyeron en agua desionizada (relación de 1:100 v/v) y luego se vaciaron por separado en la celda de prueba y se colocaron en el equipo de medición. El potencial- ζ se calculó con el instrumento utilizando el modelo de Smoluchowski.

2.11. Estabilidad al cremado

Se usó un analizador de dispersión (LUMiSizer, L.U.M. GmbH, Berlín, Alemania) para determinar la velocidad de cremado de las emulsiones. El instrumento emplea la sedimentación centrífuga para acelerar la aparición de fenómenos de inestabilidad como la sedimentación, la floculación o el cremado. Las muestras de emulsiones (0,4 mL) se sometieron a centrifugación a 2198.3 x g durante aproximadamente 127 minutos a 25 °C, y se determinaron 255 mediciones a intervalos de tiempo de 30 segundos. La velocidad de cremado fue estimada por el software del equipo SEPView y se correlacionó con la estabilidad de la emulsión; esto es, cuanto mayor es la velocidad de cremado, menor es la estabilidad de la emulsión.

Capítulo 3**3. Resultados y discusión**

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos en la experimentación, así como la discusión correspondiente de los mismos.

3.1. Contenido de sólidos totales, amilosa aparente y proteína de las fracciones sobrenadantes

El contenido de sólidos totales, amilosa aparente y proteínas de las FS_x utilizadas para la preparación de las emulsiones O/W se presentan en la Tabla 2. AMC mostró el contenido más alto de sólidos totales (2.55 g/100 g de agua), mientras que AAN presentó el contenido más bajo (0.85 g/100 g de agua). La noción de amilosa aparente se refiere a la molécula de amilosa de cadena lineal y las ramificaciones más largas de la molécula de amilopectina de cadena ramificada que forman complejos con yodo (Delwiche et al., 1995). Interesantemente, AMC exhibió el contenido de amilosa aparente más alto, mientras que AAN presentó el valor más bajo. En contraste, AAN exhibió el contenido de proteína más alto. El contenido de sólidos totales está relacionado con la estabilidad de los gránulos de almidón bajo calentamiento con exceso de agua. Debet y Gidley (2007) encontraron que las proteínas desempeñan un papel importante en la integridad de los gránulos de almidón, ya que actúan como agentes entrelazantes de las cadenas de polisacáridos en la superficie de los gránulos. Zhang et al. (2014) encontraron que la eliminación de proteínas de la superficie de los gránulos mediante reacciones enzimáticas interrumpía la integridad de los remanentes insolubles (es decir, los fantasmas), produciendo una gran fracción de cadenas de almidón dispersas. El contenido de proteínas de los gránulos de almidón se correlaciona bien con la cantidad de material lixiviado que se muestra en la Tabla 2. De hecho, los almidones de maíz nativo y ceroso contenían una cantidad relativamente baja de proteínas. Esto llevó a AMC a exhibir una cantidad significativamente mayor de sólidos totales en relación con AMN, AAN y ATN, y entre estos últimos, AMN exhibió el mayor contenido de sólidos. Las cadenas de almidón lixiviadas dispersadas en la fase acuosa son importantes ya que se convierten en los medios para estabilizar las emulsiones.

Tabla 2. Contenido de sólidos totales (ST), amilosa aparente y proteínas de las FS_x.

Almidón	ST (g/100 g agua)	Amilosa aparente (% de ST)	Proteína (% de ST)
AMC	2.55 ± 0.18 ^a	41.32 ± 0.78 ^a	1.19 ± 0.18 ^b
AMN	1.10 ± 0.04 ^b	34.16 ± 0.94 ^b	0.71 ± 0.14 ^c
AAN	0.85 ± 0.05 ^c	21.05 ± 0.75 ^c	3.83 ± 0.15 ^a
ATN	1.00 ± 0.05 ^b	35.04 ± 0.85 ^b	1.24 ± 0.15 ^b

Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores de una misma columna.

3.2. Cinética de la tensión interfacial

La adsorción de moléculas con capacidad tensoactiva en la interfase aceite-agua juega un papel importante en la formación y estabilización de las emulsiones. El proceso de adsorción imprime cambios conformacionales en las moléculas adsorbidas, lo que permite una interacción estrecha con la interfase (Yuan et al., 2013).

La Figura 7a ilustra la dependencia de la tensión interfacial (γ) con el tiempo de adsorción para las cuatro diferentes fracciones de almidón. La tensión interfacial de la interfase aceite-agua, sin la presencia de cadenas de almidón, fue 29.9 ± 0.7 mN/m. La incorporación de las FS_x produjo a una disminución gradual de la tensión interfacial, con un patrón de decaimiento exponencial aparente dependiendo de la fuente botánica. Dicho decaimiento exponencial está vinculado a procesos de relajación atribuidos al empaquetamiento de las moléculas de almidón en la interfase aceite-agua. La tensión interfacial exhibió un decaimiento rápido para tiempos < 500 s y un decaimiento lento para tiempos más altos. Esto sugiere utilizar la siguiente función de relajación de segundo orden para ajustar los datos experimentales:

$$\gamma(t) = \gamma_{res} + A_f \exp\left(-\frac{t}{\tau_f}\right) + A_s \exp\left(-\frac{t}{\tau_s}\right) \quad (1)$$

Donde γ_{res} es la tensión interfacial residual para tiempos muy largos, τ_f y τ_s son las constantes de tiempo de relajación más rápida y más lenta, respectivamente. Además, A_f y A_s son parámetros pre-exponenciales. Se empleó un ajuste numérico de mínimos cuadrados para estimar los parámetros de la ecuación (1) y los resultados se muestran en las Figuras 7b, 7c y 7d. Las fracciones de almidón de AAN y AMN exhibieron los valores, más pequeño (~ 193.8 s) y más alto (~ 292.8 s) de τ_f , respectivamente. Esto significa que AAN ofreció las mejores condiciones para lograr una disminución más rápida, y por lo tanto una estabilización más rápida de emulsiones O/W. Después del rápido proceso de adsorción, la tensión interfacial exhibió una disminución bastante lenta y la constante de tiempo de relajación correspondiente se muestra en la Figura 7c. Así, en el caso del proceso de relajación más lento, AAN también exhibió el valor más pequeño (~ 2724.3 s). En contraste, AMC mostró el valor más alto de τ_s (~ 8723.7 s). Finalmente, el valor más pequeño de la tensión interfacial residual lo presentó AAN (~ 9.3 mN/m), AMC y AMN presentaron el valor más alto (~ 15.4 mN/m). Se observa que la reducción de la tensión interfacial más pequeña mostrada por AAN está vinculada a la baja cantidad de sólidos totales liberados en el proceso de gelatinización (0.85 g/100 g de agua) en comparación con la cantidad liberada por los otros almidones (2.55 g/100 g de agua).

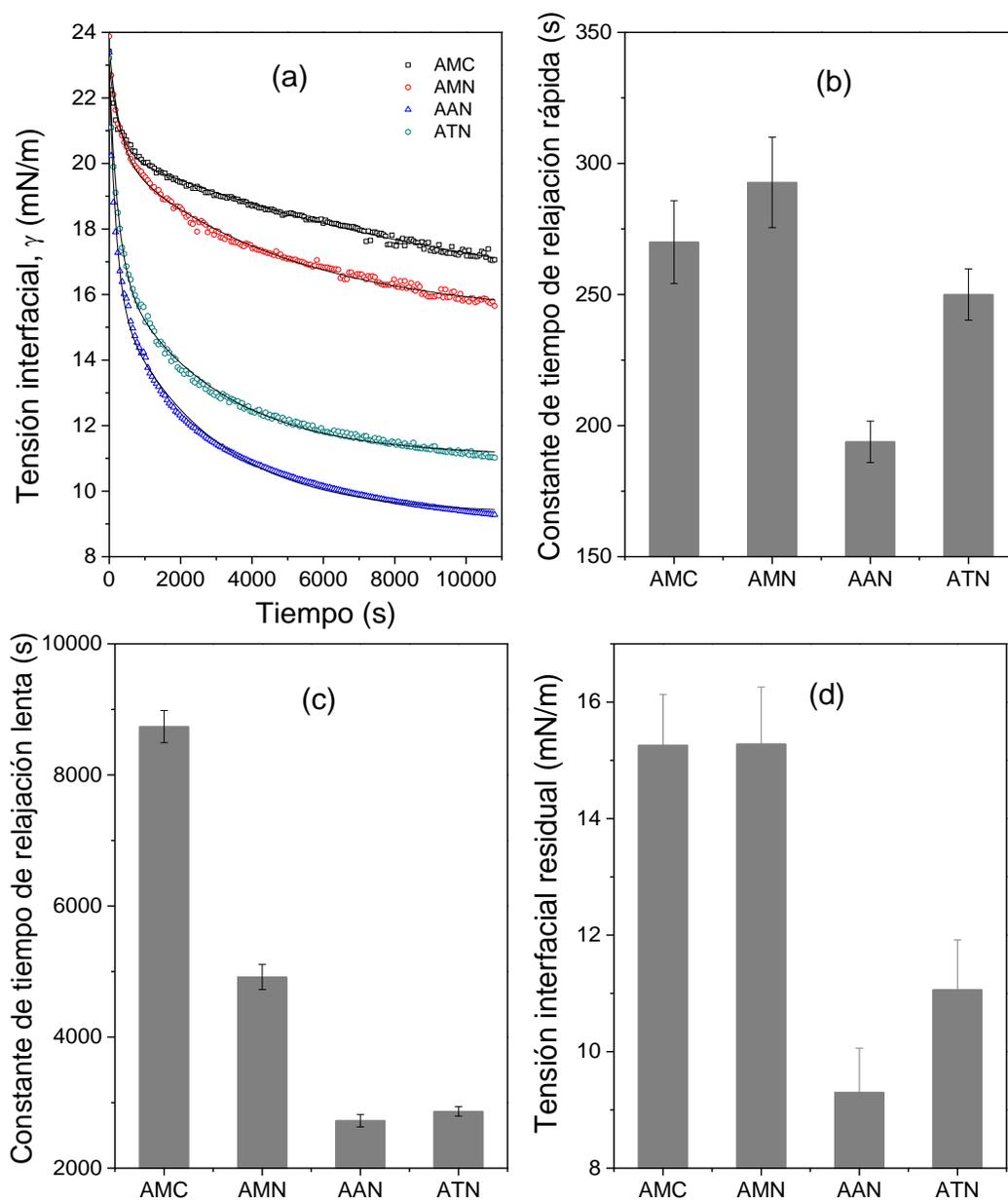


Figura 7. (a) Evolución en el tiempo de la tensión interfacial (γ) para la adsorción de las fracciones solubles de almidón (AMC, AMN, AAN y ATN) en la interfase aceite-agua. Constantes de tiempo de relajación (b) rápidas y (c) lentas, y (d) tensión residual, estimada al ajustar un modelo de decaimiento exponencial de segundo orden.

La naturaleza de la cinética de adsorción en términos de dos procesos de relajación no está del todo clara. Sin embargo, una posible explicación se puede delinear de la siguiente manera. Al calentarse con exceso de agua, los gránulos de almidón se hinchan, lo que agrega inestabilidad a la integridad de los gránulos. Material se libera del gránulo de almidón, dejando solo estructuras insolubles también conocidas como “fantasmas”. Debet y Gidley (2007) encontraron que la formación de fantasmas puede explicarse por la reticulación de las cadenas de polisacáridos dentro de los gránulos hinchados, lo que probablemente involucra hélices dobles formadas por cadenas de polímeros que se vuelven libres para moverse luego de la hinchazón de gránulos inducida por el calor. El material liberado en la fase acuosa continua está compuesto por cadenas de amilosa y amilopectina que se empaquetaron en las geometrías de anillo del gránulo de almidón (Debet y Gidley, 2007).

La amilosa de hélice simple posee una superficie exterior hidrofílica con un canal interno claramente hidrofóbico que contiene una espiral de moléculas de agua. Se ha postulado que, en presencia de moléculas de lípidos o aromas, el agua en el canal hidrofóbico se pierde relativamente fácil para formar complejos de inclusión (Kong et al., 2014; Putseys et al., 2010). Por otro lado, la formación de complejos de inclusión amilopectina-lípido aún es controvertida, aunque se ha argumentado que su formación es posible para las ramificaciones externas (Eliasson, 1994). De esta manera, la actividad interfacial de las fracciones de almidón y los dos parámetros de relajación de la caída de la tensión interfacial podrían explicarse de la siguiente manera. Las cadenas de almidón liberadas durante la gelatinización de los gránulos de almidón migran a la interfase para formar complejos con lípidos, lo que lleva a una reducción relativamente rápida de la tensión interfacial. De acuerdo con los resultados en la Figura 7, la escala de tiempo característico de este proceso es del orden de 200-300 s. La escala de tiempo más lenta (2500-8000 s) podría estar relacionada con el reordenamiento y el empaquetado compacto de los complejos en la interfase, que involucran mecanismos de difusión superficial relativamente lentos.

3.3. Cinética de la presión interfacial

La cinética de adsorción también se caracterizó por los cambios de presión en la superficie (P_{int}) a lo largo del tiempo. A presiones superficiales relativamente bajas, la cinética de la adsorción se puede describir mediante la ecuación de Ward y Tordai (1946):

$$P_{int} = 2C_0KT \left(\frac{Dt}{\pi} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (2)$$

Aquí, C_0 es la concentración inicial de adsorbente, K es la constante de Boltzmann, T es la temperatura y D es la difusividad. La dependencia del tiempo en la ecuación (2) sugiere describir los datos como P_{int} versus $t^{1/2}$, como se hace en la Figura 8a. Si la difusión en la interfase controla el proceso de adsorción durante tiempos relativamente cortos, la gráfica es lineal y la pendiente corresponde con la velocidad de difusión $k_{diff} = 2C_0KT(D/\pi)^{1/2}$. Se observa que la velocidad de difusión es proporcional a la difusividad. La Figura 8a muestra que la linealidad de la gráfica se puede detectar para los primeros 200-300 s, coincidiendo con la escala de tiempo de relajación más rápida de la cinética de la tensión interfacial (Figura 7b). Los sobrenadantes de AAN y AMC exhibieron respectivamente los valores más alto ($0.47 \pm 0.02 \text{ kg}\cdot\text{mol}\cdot\text{s}^{3/2}$) y más pequeño ($0.18 \pm 0.02 \text{ kg}\cdot\text{mol}\cdot\text{s}^{3/2}$) de la tasa de difusión (ver Tabla 3), lo que indica que las moléculas de AMC encontraron una mayor resistencia a su movilidad en la vecindad de la interfase aceite-agua. Después de un rápido período de adsorción inicial ($\sim 200\text{-}300$ s), la velocidad de adsorción se redujo (Figura 7c).

Para corroborar la existencia de un proceso de relajación lento, los datos se analizaron con la siguiente relación empírica:

$$\ln \left(\frac{P_{int,10800} - P_{int,t}}{P_{int,10800} - P_{int,0}} \right) \text{ versus } -t/\tau_i \quad (3)$$

Aquí, $P_{int,t}$ es la presión interfacial en el tiempo t , $P_{int,10800}$ es la presión interfacial para tiempos muy largos (tomado como el tiempo experimental máximo), $P_{int,0}$ es la presión

interfacial inicial, y τ_i es una constante de tiempo. La gráfica correspondiente a la ecuación (3) está dada por la Figura 8b, mostrando un comportamiento lineal por partes. El proceso de relajación más rápido se ha relacionado con el proceso de penetración en las capas adsorbidas en la interfase, mientras que el proceso de relajación más lento se ha relacionado con el reordenamiento del material adsorbido en las capas de adsorción (Trujillo-Ramírez et al., 2018). AMC presentó los valores más altos de las constantes de tiempo de penetración y reordenamiento. Siguiendo el posible escenario de adsorción descrito en la Subsección 3.2, los valores relativamente altos de las constantes de tiempo podrían ser causados por la estructura ramificada de las cadenas de amilopectina, que es más compleja que las cadenas de amilosa lineal. AMC sólo contiene cadenas de amilopectina, ofreciendo una movilidad más restringida en la vecindad y en la superficie de la interfase aceite-agua. Las FS_x contienen cadenas de amilosa y amilopectina lixiviadas durante el proceso de gelatinización. Ambas cadenas de almidón son relativamente poco solubles en agua, por lo que tienden a migrar y acumularse en las interfaces, como lo demuestran las Figuras 7 y 8. De esta manera, la hidrofobicidad es la fuerza impulsora que mueve las cadenas de almidón de las FS_x desde el seno de la dispersión acuosa a la interfase aceite-agua.

Tabla 3. Parámetros dinámicos de la adsorción de las fracciones solubles de almidón en la interfase aceite-agua.

Almidón	k_{diff} (kg·mol·s ^{3/2})	$\tau_{pen} \times 10^{-3}$ (s)	$\tau_{rea} \times 10^{-3}$ (s)
AMC	0.18 ± 0.02 ^c	4.54 ± 0.15 ^a	1.67 ± 0.15 ^a
AMN	0.20 ± 0.01 ^c	4.13 ± 0.22 ^{ab}	1.69 ± 0.12 ^a
AAN	0.47 ± 0.02 ^a	3.01 ± 0.28 ^c	0.28 ± 0.06 ^{bc}
ATN	0.36 ± 0.02 ^b	3.16 ± 0.31 ^c	0.42 ± 0.05 ^b

Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores de una misma columna.

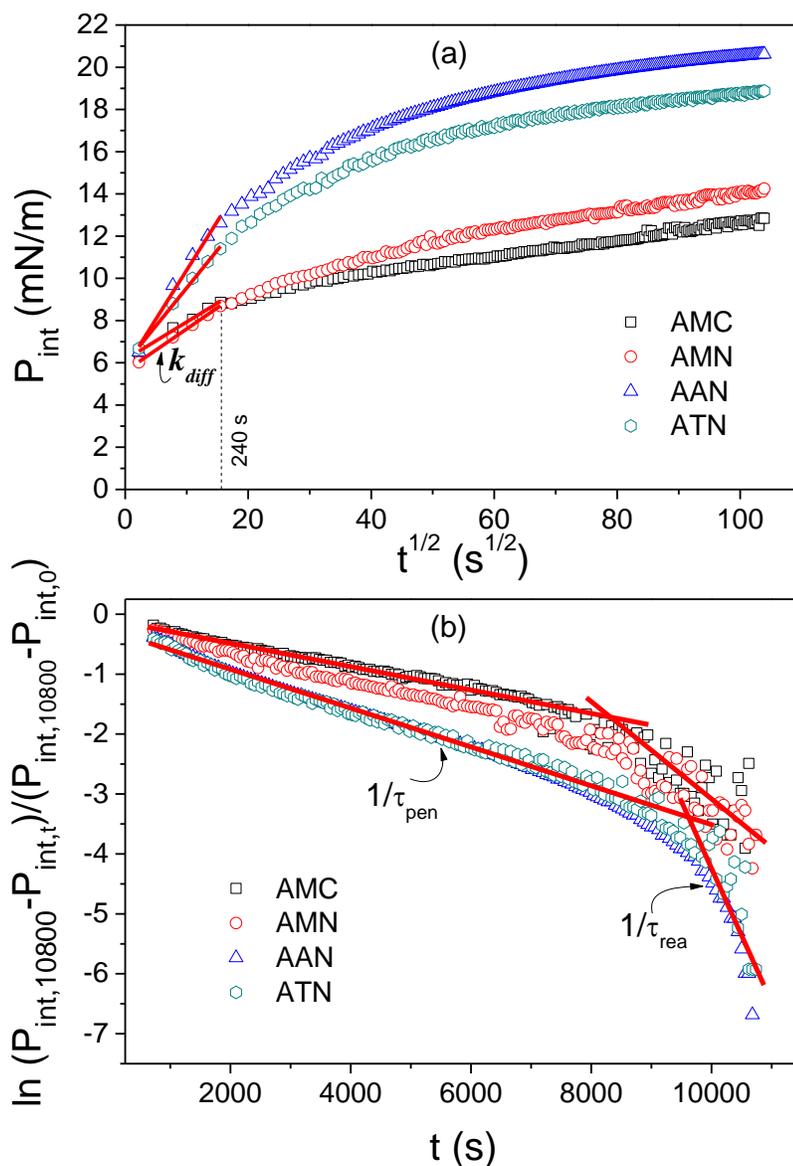


Figura 8. (a) Dependencia de la presión interfacial (P_{int}) como una función de la raíz cuadrada del tiempo ($t^{1/2}$). La línea continua representa la pendiente lineal de las curvas donde la adsorción está controlada por la difusión (k_{diff}). (b) Gráfica de $\ln(P_{int,10800} - P_{int,t}) / (P_{int,10800} - P_{int,0})$ versus t . Las líneas continuas representan la primera pendiente correspondiente a la constante de velocidad de primer orden de la penetración ($1/\tau_{pen}$), mientras que la segunda pendiente corresponde a la constante de velocidad de primer orden del reordenamiento estructural ($1/\tau_{rea}$).

3.4. Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

Los espectros FTIR de emulsiones fabricadas con las diferentes FS_x se muestran en la Figura 9a. La banda ancha que se extiende a $3750-3000\text{ cm}^{-1}$ se ha atribuido al hidroxilo-OH, lo que refleja las vibraciones de las moléculas de agua. La banda a 1155 cm^{-1} se ha atribuido al estiramiento de los enlaces C-O de los ésteres alifáticos o vibraciones de CH_2 . El pico de absorción a 1743 cm^{-1} se ha asignado al estiramiento C=O de los ésteres alifáticos del aceite de canola. Las bandas pequeñas de 2924 y 2855 cm^{-1} están relacionadas con el aceite de canola y también se han vinculado a las vibraciones asimétricas y simétricas de estiramiento C-H de los grupos CH_2 (Zhang et al., 2015). Las bandas a 2924 cm^{-1} y 1743 cm^{-1} también se relacionaron con la formación de complejos almidón-lípido (Chen et al., 2018; Flores-Morales et al., 2012). La intensidad relativa de estos picos fue menor para E_{AMC} (Figura 9b) y ligeramente desplazada hacia la derecha, lo que refleja el hecho de que AMC no contiene cadenas de amilosa. En contraste, la intensidad fue máxima para E_{ATN} y E_{AMN} ya que ATN y AMN contienen una gran fracción de cadenas de amilosa (>25%). De esta manera, los espectros de FTIR en la Figura 9a proporcionan información valiosa sobre la formación de complejos de inclusión de amilosa-lípidos en la interfase aceite-agua. El caso de E_{AMC} es más llamativo desde el punto de vista de FTIR, ya que no se puede atribuir una banda visible a la formación de complejos de amilopectina-lípidos. Sin embargo, Eliasson y Ljunger (1988) encontraron que las ramificaciones externas de la amilopectina ayudan en la formación de un complejo de inclusión helicoidal con las cadenas acílicas de los lípidos.

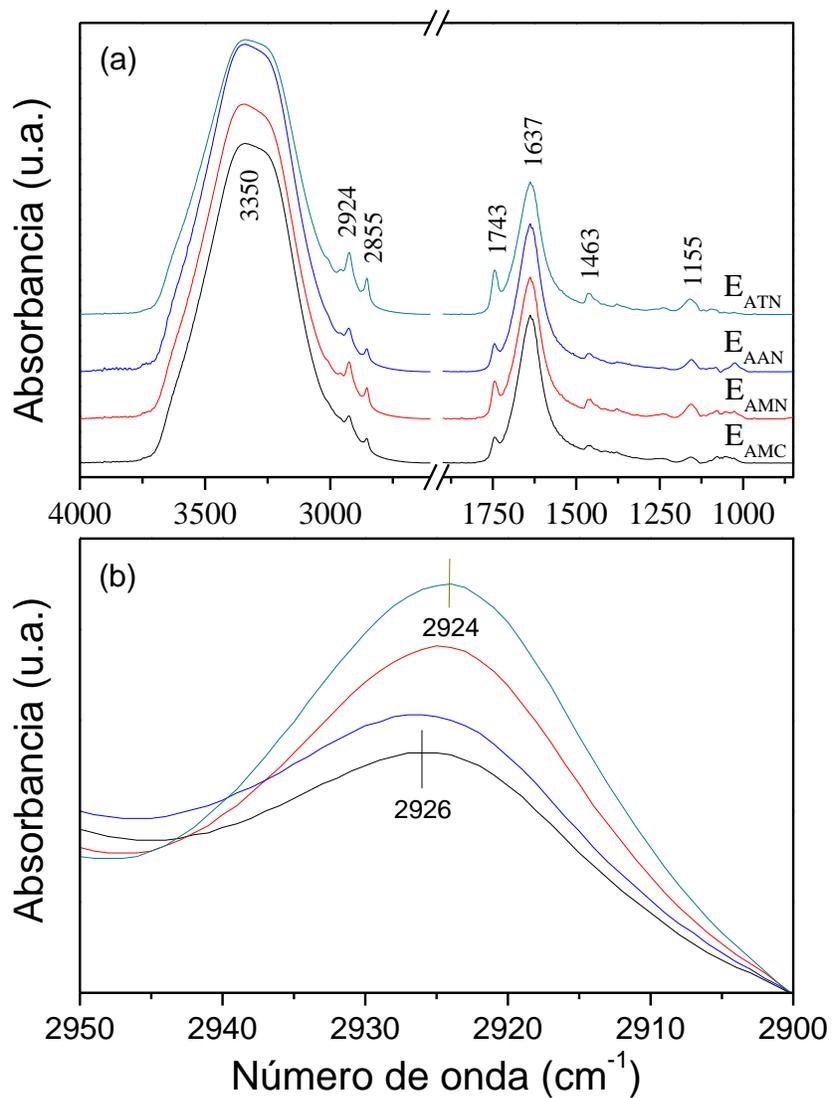


Figura 9. (a) Espectros FTIR de las emulsiones estabilizadas con las FS_x . (b) Detalle de los espectros de la región 2950-2900 cm^{-1} .

3.5. Tamaño de gota promedio

Los resultados descritos anteriormente mostraron que las FS_x presentaron actividad interfacial. La Figura 10 presenta la variación del diámetro $d_{4,3}$ de las emulsiones durante 28 días de almacenamiento. La E_{AMC} exhibió el tamaño de gota promedio inicial más pequeño ($\sim 1.4 \mu\text{m}$); el tamaño de la gota se mantuvo prácticamente sin cambios durante los 28 días de almacenamiento, lo que indica una estabilidad a largo plazo. En contraste, las emulsiones hechas con las FS de los almidones nativos presentaron tamaños de gotas iniciales relativamente más grandes, de $\sim 2.8 \mu\text{m}$ de E_{AMN} , de $\sim 3.4 \mu\text{m}$ para E_{AAN} , y de $\sim 19.0 \mu\text{m}$ para E_{ATN} . Dentro de los 3 días de almacenamiento, estas emulsiones sufrieron un aumento significativo en el tamaño de gota de aproximadamente 10.4, 4.1 y 39.5 μm , respectivamente. Sorprendentemente, las tres emulsiones hechas con las FS de almidón nativo no mostraron cambios significativos en el tamaño de gota entre 3 y 28 días de almacenamiento.

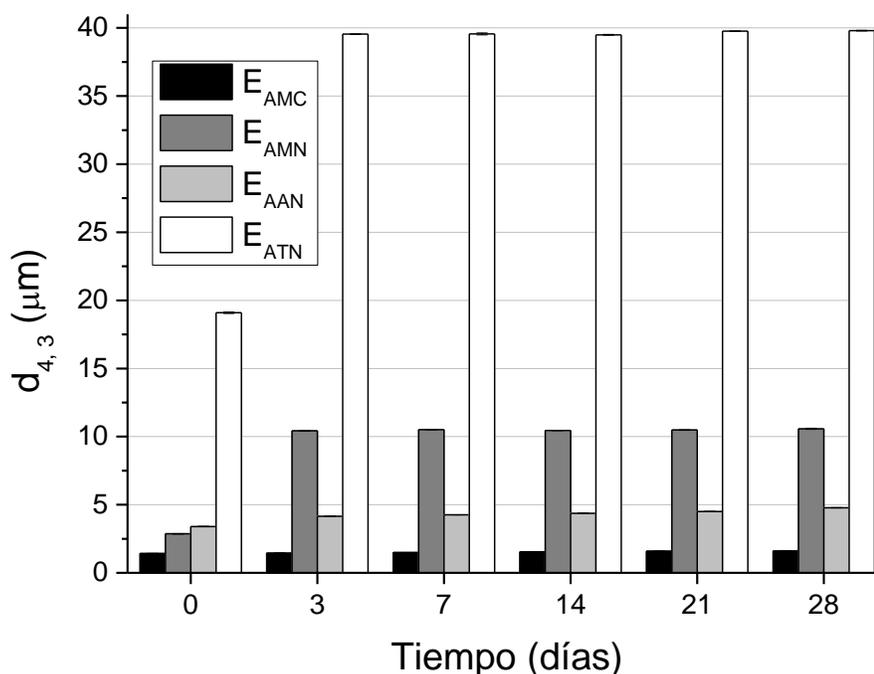


Figura 10. Variación del diámetro de gota promedio ($d_{4,3}$) de las emulsiones monitoreadas durante los 28 días de almacenamiento a temperatura ambiente.

La Figura 11 ilustra la morfología de las emulsiones, confirmando que E_{AMC} presentó las gotas más pequeñas, mientras que E_{ATN} las más grandes. Los resultados en la Figura 7 indican que todas las FS_x mostraron un proceso de adsorción rápido inicial en la interfase aceite-agua dentro de una escala de tiempo de aproximadamente 200-300 s. Este rápido proceso de adsorción dotó a las gotas de las emulsiones de una estabilización a corto plazo contra la coalescencia de gotas incipientes. A medida que el proceso de adsorción continuaba a velocidades más lentas (escala de tiempo de ~2500-8000 s), se produjo un mejor empaquetamiento de las cadenas de almidón en la interfase, lo que proporcionó a la emulsión O/W una estabilidad a largo plazo. Se observa que AMC y AMN exhibieron los valores más altos de la constante de tiempo de relajación más lenta. Estas fracciones de almidón también presentaron estabilidad a largo plazo, como se refleja por el hecho de que el diámetro de gota promedio de las emulsiones fabricadas con dichas FS, permanecieron prácticamente sin cambios después de 3 días de almacenamiento (Figura 10).

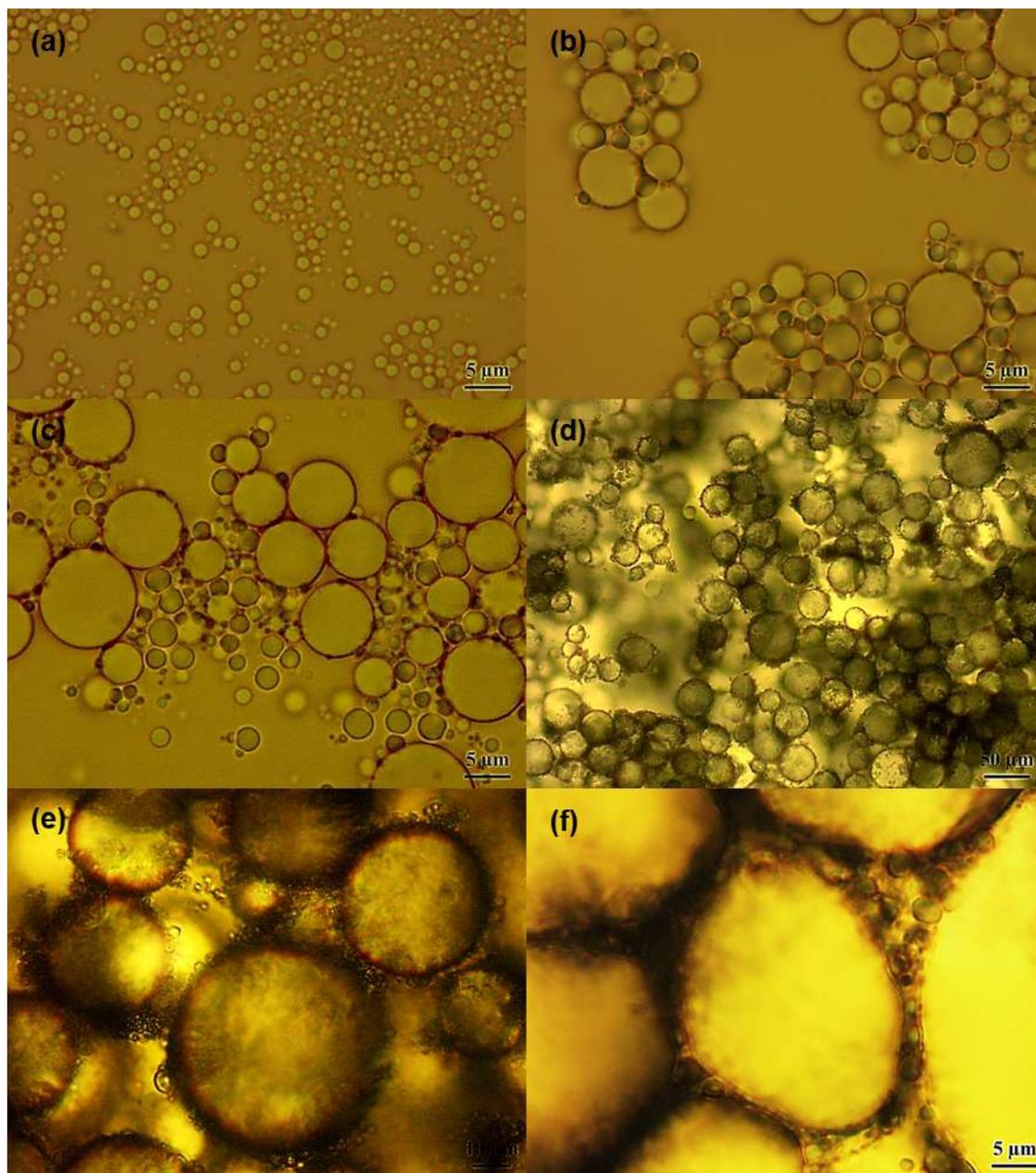


Figura 11. Imágenes ópticas de las emulsiones 3 días después de su preparación: (a) E_{AMC}, (b) E_{AMN}, (c) E_{AAAN} y (d, e, f) E_{ATN}. Las imágenes (a), (b), (c), y (f) se tomaron con un aumento de 100x; (d) y (e) se tomaron con un aumento de 10x y 40x, respectivamente.

3.6. Difracción de Rayos X (DRX)

Los espectros de difracción de rayos X de las diferentes FS_x se muestran en la Figura 12a, los cuales son consistentes con los exhibidos por los materiales amorfos. La cristalinidad relativa estimada no es superior al 2.0%, el cual se encuentra dentro del rango de error de medición. La falta de picos de intensidad discernible es clara, lo cual está en línea con el hecho de que los gránulos de almidón se gelatinizaron y por lo tanto se destruyó la estructura cristalina original.

Por otro lado, los espectros de DRX para las cuatro emulsiones diferentes se muestran en la Figura 12b. Las cuatro emulsiones exhibieron un halo amorfo que se extiende en el rango de 5 - 50°. Sin embargo, la intensidad a 20° mostró un aumento importante en comparación con las fracciones sobrenadante. La banda de intensidad a 20° es distintiva de los patrones tipo-V, asociados a la formación de complejos de almidón-lípidos (Chen et al., 2018; Tang y Copeland, 2007). Sin embargo, el aumento de la intensidad en esta banda podría estar reflejando la recristalización de las cadenas de almidón en la interfase aceite-agua. A su vez, tanto los complejos de almidón-lípidos como las cadenas de almidón recristalizadas actuarían como barreras contra la coalescencia de las gotas de aceite.

La Figura 12c presenta el cambio de cristalinidad relativa del sobrenadante a la emulsión. El cambio de cristalinidad fue más pronunciado para E_{AMC} y E_{AMN} , y más pequeño para E_{ATN} . Esto sugiere que el almidón de maíz ceroso exhibiría una mayor capacidad para estabilizar las emulsiones de aceite-en-agua.

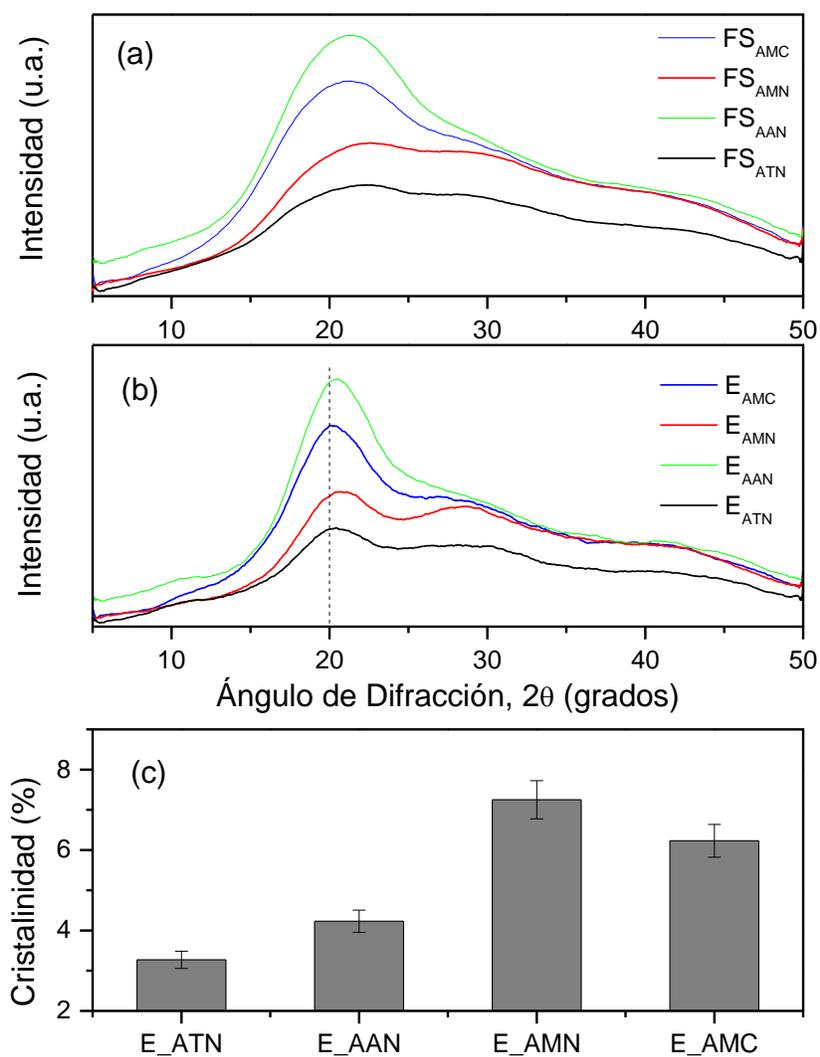


Figura 12. (a) Espectros DRX de las diferentes FS_x. (b) Patrones de DRX de las emulsiones estabilizadas con las fracciones solubles de almidón de diferentes fuentes botánicas. (c) Cristalinidad relativa del sobrenadante a la emulsión.

3.7. Cremado

La Figura 13 ilustra la estabilidad al cremado de las emulsiones preparadas con las diferentes fracciones solubles de almidón. Todas las emulsiones envejecidas por 3 horas mostraron un aspecto homogéneo, sin mostrar separación de fases. Si bien E_{AMC} no mostró una separación de fases visible después de 28 días de almacenamiento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, las emulsiones estabilizadas con las FS de almidones nativos mostraron una separación de fases significativa, que ocurrió en el siguiente orden de mayor a menor: $E_{AAN} > E_{ATN} > E_{AMN}$. El cremado observado, experimentado por las emulsiones estabilizadas con las FS de almidones nativos no se puede atribuir solamente a sus diferencias en el tamaño de las gotas, ya que E_{AAN} tuvo un diámetro $d_{4,3}$ significativamente menor que E_{ATN} durante todo el período de almacenamiento, y un diámetro $d_{4,3}$ más pequeño que E_{AMN} entre 3 y 28 días de almacenamiento. Esto significa que el comportamiento inestable mostrado por las emulsiones no sólo estuvo relacionado con la coalescencia de las gotas y con el aumento de la flotabilidad asociado con el aumento del tamaño de las gotas.

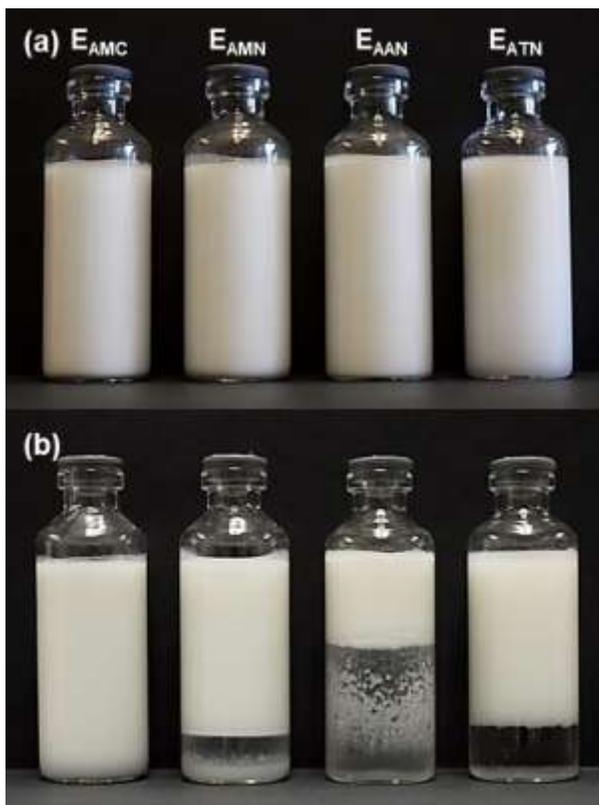


Figura 13. Cremado en las emulsiones O/W después de (a) 3 horas y (b) 28 días de preparación.

La tendencia al cremado se evaluó en condiciones aceleradas y los resultados se muestran en la Figura 14. La transmisión integrada cuantifica la cantidad de luz transmitida a través del seno de la emulsión y se considera como un índice de cremado. Cuanto mayor sea la luz transmitida, mayor será la velocidad de cremado, y menor será la estabilidad de la emulsión. De esta manera, la emulsión E_{AMC} presentó la transmisión integrada más baja, seguida en orden creciente por E_{AMN} , E_{AAN} y E_{ATN} . Estos resultados están de acuerdo con la evaluación visual del cremado observado en la Figura 13.

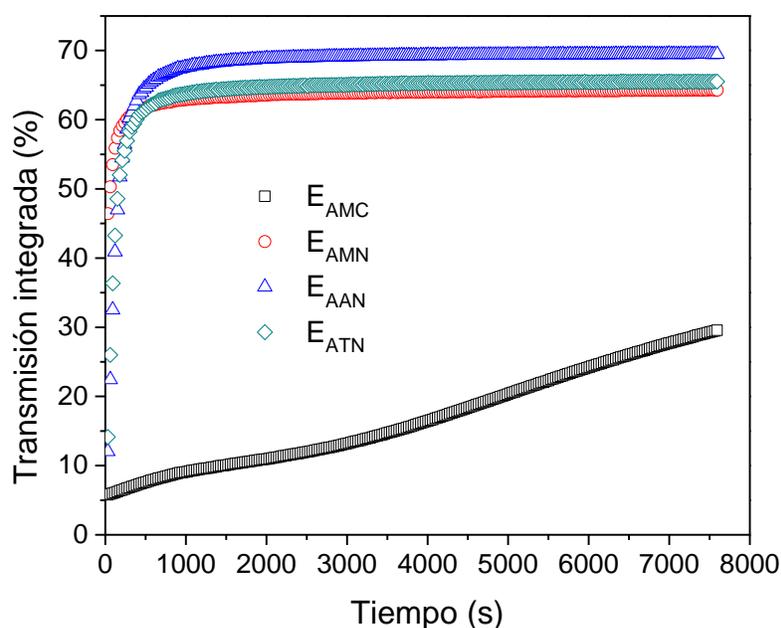


Figura 14. Transmisión integrada (%) versus tiempo (s) de las emulsiones.

Se pueden obtener algunos conocimientos sobre el origen del cremado analizando el potencial- ζ de las emulsiones. La medición del potencial- ζ se basa en la movilidad hidráulica de las gotas en un fluido. La Tabla 4 muestra los valores del potencial- ζ de las emulsiones, y fueron de mayor a menor como sigue: E_{ATN} (-26.2 mV) > E_{AMN} (-18.9 mV) > E_{AMC} (-12.9 mV) > E_{AAN} (-11.4 mV). Los valores de potencial- ζ mayores dificultan la agregación de gotas de emulsión en flóculos y contribuyen a disminuir la velocidad de cremado. En términos prácticos, la formación de flóculos acelera la velocidad de cremado (McClements, 2005). Por lo tanto, la velocidad de cremado se ve afectada por una

interacción compleja entre el tamaño de las gotas de emulsión y la capacidad de las gotas para agregarse en flóculos, que a su vez se ve afectada por el potencial- ζ acarreado por las gotas, que a su vez puede causar cambios en las propiedades de flujo de las emulsiones.

Tabla 4. Potencial- ζ de las emulsiones.

Emulsión	Potencial- ζ (mV)
E_{AMC}	-12.9 ± 0.5 ^c
E_{AMN}	-18.9 ± 0.8 ^b
E_{AAN}	-11.4 ± 0.2 ^c
E_{ATN}	-26.2 ± 0.7 ^a

Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores de la columna.

La Figura 7 mostró que los sobrenadantes de AAN y ATN presentaron los valores más bajos de tensión interfacial. En principio, uno esperaría que estos almidones tuvieran la capacidad de producir emulsiones O/W con mejor estabilidad. Sin embargo, los resultados en la Figura 10 mostraron que la emulsión O/W hecha con ATN presentó el mayor tamaño de gota promedio, y experimentó cierto grado de cremado. Este resultado sugiere que la estabilización de la emulsión no está mediada sólo por la reducción de la tensión interfacial, sino también por otros mecanismos.

Los resultados de DRX en la Figura 12 indicaron que las FS_x sufrieron una recristalización en la interfase aceite-agua. Los complejos de almidón-lípidos y las estructuras de doble hélice podrían estar involucradas en el aumento de la cristalinidad relativa observada en la Figura 12c. Los resultados de DRX sugieren que la formación de una capa de recristalización alrededor de las gotas de aceite es un mecanismo importante que conduce a la estabilización de la emulsión. Es decir, las estructuras cristalinas formadas alrededor de la interfase reducen efectivamente la coalescencia de las gotas y, por lo tanto, la velocidad de cremado. Información adicional de este mecanismo está dada por los sólidos totales (Tabla 2) del material lixiviado, que fue relativamente más alto para AMC y AMN.

Kasprzak et al. (2018) encontraron que el almidón de trigo nativo condujo a resultados de cremado. Sin embargo, debe mencionarse que, a diferencia del presente estudio, las emulsiones estudiadas por estos autores se hicieron con los almidones gelatinizados completos. En tal caso, las gotas de aceite se dispersaron en la fase continua altamente viscosa de los hidrogeles, lo que contribuyó a la reducción de la movilidad de las gotas y de los fenómenos agregativos de las gotas.

Finalmente, los resultados de DRX en la Figura 12 mostraron que las FS_x presentaron valores de cristalinidad bajos del orden del 3-7%. Esto sugiere que las cadenas de almidón se adsorbieron en la interfase aceite-agua en forma enredada proporcionando una barrera física protectora contra la coalescencia. El valor de la cristalinidad relativa no está directamente relacionado con el tamaño medio de las gotas (Figura 10), aunque los tamaños medios más pequeños de las gotas se obtuvieron para AMC y AMN, para los cuales se obtuvieron los niveles más bajos de cremado (Figura 13) y los tamaños de gotas más pequeños (Figura 10).

Capítulo 4**4. Conclusiones**

En este estudio se evaluó la estabilidad de emulsiones aceite-en-agua preparadas con las fracciones solubles (sobrenadante) de dispersiones de almidón gelatinizado de diferente origen botánico. Se obtuvieron emulsiones estables de hasta 28 días para el almidón de maíz ceroso, desprovisto de amilosa, mientras que se obtuvieron emulsiones con estabilidad limitada para almidones nativos que contenían una gran fracción de amilosa. La estabilidad de aproximadamente un mes de las emulsiones aceite-en-agua es suficiente en general para muchos casos, incluida la preparación de productos alimenticios tradicionales, que se consumen comúnmente en los siguientes 2 a 7 días. Se postuló que la estabilización de la interfase aceite-agua se logró mediante la formación de complejos de inclusión de amilosa-lípidos y amilopectina-lípidos unidos a la interfase. La velocidad de cremado de las emulsiones se vio afectada por una interacción compleja entre el tamaño promedio de las gotas, el potencial- ζ y la naturaleza de las capas interfaciales adsorbidas formadas alrededor de las gotas de aceite. El presente estudio proporcionó información sobre la estructura de emulsiones aceite-en-agua modelo formadas por la interacción entre las fracciones de almidón cocido y los lípidos, como un ejemplo de lo que podría ocurrir durante el procesamiento de alimentos.

Bibliografía

- Arancibia, C., Jublot, L., Costell, E., Bayarri, S., 2011. Flavor release and sensory characteristics of O/W emulsions. Influence of composition, microstructure and rheological behavior. *Food Research International* 44, 1632–1641.
- Atkin, N.J., Abeysekera, R.M., Robards, A.W., 1998. The events leading to the formation of ghost remnants from the starch granule surface and the contribution of the granule surface to the gelatinization endotherm. *Carbohydrate Polymers* 36 (2-3), 193-204.
- Bai, L., Huan, S., Li, Z., McClements, D.J., 2017. Comparison of emulsifying properties of food-grade polysaccharides in oil-in-water emulsions: Gum Arabic, beet pectin, and corn fiber gum. *Food Hydrocolloids* 66, 144–153.
- Banks, W., Greenwood, C.T., 1971. Amylose: a non-helical biopolymer in aqueous solution. *Polymer* 12 (2), 141-145.
- Bello-Pérez, L.A., Bello-Flores, C.A., del Carmen Nuñez-Santiago, M., Coronel-Aguilera, C.P., Alvarez-Ramirez, J., 2015. Effect of the degree of substitution of octenyl succinic anhydride-banana starch on emulsion stability. *Carbohydrate Polymers* 132, 17–24.
- Bergenståhl, B., 1995. Emulsions. In: Beckett, S.T. (Ed.), *Physico-chemical aspects of food processing*. Springer, Boston, pp. 49–64.
- Biliaderis, C.G., Page, C.M., Slade, L., Sirett, R.R., 1985. Thermal-behavior of amylose-lipid complexes. *Carbohydrate Polymers* 5 (5), 367-389.
- Chen, L., Tian, Y., Sun, B., Cai, C., Ma, R., Jin, Z., 2018. Measurement and characterization of external oil in the fried waxy maize starch granules using ATR-FTIR and XRD. *Food Chemistry* 242, 131–138.
- Curá, J.A., Jansson, P.E., Krisman, C.R., 1995. Amylose is not strictly linear. *Starch-Stärke* 47 (6), 207-209.
- Debet, M.R., Gidley, M.J., 2007. Why do gelatinized starch granules not dissolve completely? Roles for amylose, protein, and lipid in granule “ghost” integrity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 4752–4760.

- Delwiche, S.R., Bean, M.M., Miller, R.E., Webb, B.D., Williams, P.C., 1995. Apparent amylose content of milled rice by near-infrared reflectance spectrophotometry. *Cereal Chemistry* 72 (2), 182–187.
- Destribats, M., Rouvet, M., Gehin-Delval, C., Schmitt, C., Binks, B.P., 2014. Emulsions stabilised by whey protein microgel particles: Towards food-grade pickering emulsions. *Soft Matter* 10, 6941–6954.
- Eliasson, A.C., 1994. Interactions between starch and lipids studied by DSC. *Thermochimica Acta* 246, 343–356.
- Eliasson, A.C., Ljunger, G., 1988. Interactions between amylopectin and lipid additives during retrogradation in a model system. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 44 (4), 353–361.
- Evans, I.D., 1986. An investigation of starch/surfactant interactions using viscosimetry and Differential Scanning Calorimetry. *Starch-Stärke* 38 (7), 227-235.
- Fadeel, B., Pietroiusti, A., Shvedova, A.A., 2017. Adverse effects of engineered nanomaterials: Exposure, toxicology, and impact on human health. Academic Press, New York.
- Flores-Morales, A., Jiménez-Estrada, M., Mora-Escobedo, R., 2012. Determination of the structural changes by FT-IR, Raman, and CP/MAS ¹³C NMR spectroscopy on retrograded starch of maize tortillas. *Carbohydrate Polymers* 87, 61–68.
- Fuentes-Ortega, T., Martínez-Vargas, S.L., Cortés-Camargo, S., Guadarrama-Lezama, A.Y., Gallardo-Rivera, R., Baeza-Jiménez, R., et al., 2017. Effects of the process variables on the microencapsulation of sesame oil (*Sesamum indica* L.) by spray drying. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 16, 477–490.
- Genovese, D.B., Rao, M.A., 2003. Role of starch granule characteristics (volume fraction, rigidity, and fractal dimension) on rheology of starch dispersions with and without amylose. *Cereal Chemistry* 80 (3), 350-355.
- Godet, M.C., Tran, V., Delage, M.M., Buléon, A., 1993. Molecular modeling of the specific interactions involved in the amylose complexation by fatty acids. *International Journal of Biological Macromolecules* 15 (1), 11-16.

- Granillo-Guerrero, V.G., Villalobos-Espinosa, J.C., Alamilla-Beltrán, L., Téllez-Medina, D.I., Hernández-Sánchez, H., Dorantes-Álvarez, L., et al., 2017. Optimization of the formulation of emulsions prepared with a mixture of vitamins D and E by means of an experimental design simplex centroid and analysis of colocalization of its components. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 16 (3), 861–872.
- Guerra-Rosas, M.I., Morales-Castro, J., Ochoa-Martínez, L.A., Salvia-Trujillo, L., Martín-Belloso, O., 2016. Long-term stability of food-grade nanoemulsions from high methoxyl pectin containing essential oils. *Food Hydrocolloids* 52, 438–446.
- Heinemann, C., Conde-Petit, B., Nuessli, J., Escher, F., 2001. Evidence of starch inclusion complexation with lactones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (3), 1370-1376.
- Hizukuri, S., 1986. Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins, and its significance. *Carbohydrate Research* 147, 342-347.
- Hoseney, R.C., 1994. Principles of cereal science and technology, 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA.
- Immel, S., Lichtenthaler, F.W., 2000. The hydrophobic topographies of amylose and its blue iodine complex. *Starch-Stärke* 52 (1), 1-8.
- Kaneda, Y., Kitahara, K., Suganuma, T., Nagahama, T., 1996. Introduction of fatty acids into low-lipid starches and their Nägeli amyloextrins. *Cereal Chemistry* 73 (2), 244-248.
- Karkalas, J., Ma, S., Morrison, W.R., Pethrick, R.A., 1995. Some factors determining the thermal properties of amylose inclusion complexes with fatty acids. *Carbohydrate Research* 268 (2), 233-247.
- Kasprzak, M.M., Macnaughtan, W., Harding, S., Wilde, P., Wolf, B., 2018. Stabilisation of oil-in-water emulsions with non-chemical modified gelatinised starch. *Food Hydrocolloids* 81, 409–418.
- Katz, J.R., 1937. On the change in X-ray pattern when starch preparations are dried (as a way of characterizing these substances with X-rays). *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas* 56 (8), 766-772.

- Kong, L., Lee, C., Kim, S.H., Ziegler, G.R., 2014. Characterization of starch polymorphic structures using vibrational sum frequency generation spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry B* 118 (7), 1775–1783.
- Li, C., Sun, P., Yang, C., 2012. Emulsion stabilized by starch nanocrystals. *Starch-Stärke* 64 (6), 497–502.
- Mahmood, K., Kamilah, K., Shang, P.L., Sulaiman, S., Ariffin, F., Alias, A.K., 2017. A review: Interaction of starch/non-starch hydrocolloid blending and the recent food applications. *Food Bioscience* 19, 110–120.
- Martínez-Velasco, A., Lobato-Calleros, C., Hernández-Rodríguez, B.E., Román-Guerrero, A., Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E.J., 2018. High intensity ultrasound treatment of faba bean (*Vicia faba* L.) protein: Effect on surface properties, foaming ability and structural changes. *Ultrasonics Sonochemistry* 44, 97–105.
- McClements, D.J., 1999. Food emulsions: principles, practice and techniques. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1-3, 211.
- McClements, D.J., 2005. Food emulsions: Principles, practices and techniques. CRC Press, Boca Raton.
- Mikus, F.F., Hixon, R.M., Rundle, R.E., 1946. The complexes of fatty acids with amylose. *Journal of the American Chemical Society* 68 (6), 1115-1123.
- Morrison, W.R., Tester, R.F., Snape, C.E., Law, R., Gidley, M.J., 1993. Swelling and gelatinization of cereal starches. IV. Some effects of lipid-complexed amylose and free amylose in waxy and normal barley starches. *Cereal Chemistry* 70 (4), 385-391.
- Mua, J.P., Jackson, D.S., 1997. Fine structure of corn amylose and amylopectin fractions with various molecular weights. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (10), 3840-3847.
- Pascual-Pineda, L.A., Bautista-Hernández, S., Pascual-Mathey, L.I., Flores-Andrade, E., Jiménez, M., Beristain, C.I., 2018. Development of paprika oleoresin dispersions for improving the bioaccessibility of carotenoids. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 17 (2), 767–776.

- Prentice, R.D.M., Stark, J.R., Gidley, M.J., 1992. Granule residues and ghosts remaining after heating A-type barley-starch granules in water. *Carbohydrate Research* 227, 121–130.
- Putseys, J.A., Lamberts, L., Delcour, J.A., 2010. Amylose-inclusion complexes: Formation, identity and physico-chemical properties. *Journal of Cereal Science* 51 (3), 238–247.
- Rappenecker, G., Zugenmaier, P., 1981. Detailed refinement of the crystal structure of V_h-amylose. *Carbohydrate Research* 89 (1), 11-19.
- Rundle, R.E., Baldwin, R.R., 1943. The configuration of starch and the starch-iodine complex. I. The dichroism of flow of starch-iodine solutions. *Journal of the American Chemical Society* 65 (4), 554-558.
- Saari, H., Heravifar, K., Rayner, M., Wahlgren, M., Sjöö, M., 2016. Preparation and characterization of starch particles for use in Pickering emulsions. *Cereal Chemistry* 93 (2), 116–124.
- Saenger, W., 1984. The structure of the blue starch-iodine complex. *Naturwissenschaften* 71, 31-36.
- Shogren, R.L., Fanta, G.F., Felker, F.C., 2006. X-ray diffraction study of crystal transformations in spherulitic amylose/lipid complexes from jet-cooked starch. *Carbohydrate Polymers* 64 (3), 444-451.
- Skrede, G., 1989. Comparison of various types of starch when used in meat sausages. *Meat Science* 25 (1), 21–36.
- Snape, C.E., Morrison, W.R., Maroto-Valer, M.M., Karkalas, J., Pethrick, R.A., 1998. Solid state C-13 NMR investigation of lipid ligands in V-amylose inclusion complexes. *Carbohydrate Polymers* 36 (2-3), 225-237.
- Song, X., Pei, Y., Qiao, M., Ma, F., Ren, H., Zhao, Q., 2015. Preparation and characterizations of Pickering emulsions stabilized by hydrophobic starch particles. *Food Hydrocolloids* 45, 256–263.
- Tabara, A., Nakagawa, M., Ushijima, Y., Matsunaga, K., Seguchi, M., 2015. Effects of heat treatment on oil-binding ability of rice flour. *Bioscience Biotechnology & Biochemistry* 79 (10), 1629–1634.

- Tako, M., Tamaki, Y., Teruya, T., Takeda., Y., 2014. The principles of starch gelatinization and retrogradation. *Food and Nutrition Sciences* 5, 280-291.
- Tang, M.C., Copeland, L., 2007. Analysis of complexes between lipids and wheat starch. *Carbohydrate Polymers* 67 (1), 80–85.
- Tavernier, I., Wijaya, W., Van der Meeren, P., Dewettinck, K., Patel, A.R., 2016. Food-grade particles for emulsion stabilization. *Trends in Food Science & Technology* 50, 159–174.
- Tesch, S., Gerhards, C., Schubert, H., 2002. Stabilization of emulsions by OSA starches. *Journal of Food Engineering* 54 (2), 167–174.
- Tester, R.F., Karkalas, J., Qi, X., 2004. Starch-composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science* 39 (2), 151-165.
- Thomas, D.J., Atwell, W.A., 1999. Starches. Eagan Press, St. Paul, Minnesota, USA, 1-11.
- Timgren, A., Rayner, M., Dejmek, P., Marku, D., Sjöo, M., 2013. Emulsion stabilizing capacity of intact starch granules modified by heat treatment or octenyl succinic anhydride. *Food Sciences and Nutrition* 1 (2), 157–171.
- Trujillo-Ramírez, D., Lobato-Calleros, C., Román-Guerrero, A., Hernández-Rodríguez, L., Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E.J., 2018. Complexation with whey protein hydrolysate improves cacao pods husk pectin surface active and emulsifying properties. *Reactive and Functional Polymers* 123, 61–69.
- Valletta, R.M., Germino, F.J., Lang, R.E., Moshy, R.J., 1964. Amylose 'V' complexes: Low molecular weight primary alcohols. *Journal of Polymer Science Part A 2* (3), 1085-1094.
- Vernon-Carter, E.J., Hernandez-Jaimes, C., Meraz, M., Lara, V.H., Lobato-Calleros, C., Alvarez-Ramirez, J., 2015. Physico-chemical characterization and in vitro digestibility of gelatinized corn starch dispersion fractions obtained by centrifugation. *Starch-Stärke* 67 (7–8), 701–708.
- Villalobos-Castillejos, F., Alamilla-Beltrán, L., Leyva-Daniel, D.E., Monroy-Villagrana, A., Jiménez-Guzmán, J., Dorantes-Álvarez, L., Gutiérrez-López, G.F., 2017. Long term stability of microfluidized emulsions used in microencapsulation by spray drying. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 16 (1), 221–228.

- Wang, X., Jiang, Y., Wang, Y.W., Huang, M.T., Ho, C.T., Huang, Q., 2008. Enhancing anti-inflammation activity of curcumin through O/W nanoemulsions. *Food Chemistry* 108 (2), 419–424.
- Ward, A.F.H., Tordai, L., 1946. Time-dependence of boundary tensions of solutions I. The role of diffusion in time-effects. *The Journal of Chemical Physics* 14 (7), 453–461.
- Whittam, M.A., Orford, P.D., Ring, S.G., Clark, S.A., Parker, M.L., Cairns, P., Miles, M.J., 1989. Aqueous dissolution of crystalline and amorphous amylose-alcohol complexes. *International Journal of Biological Macromolecules* 11 (6), 339-344.
- Winter, W.T., Sarko, A., 1974. Crystal and molecular structure of V-anhydrous amylose. *Biopolymers* 13 (7), 1447-1460.
- Yamashita, Y., Monobe, K., 1971. Single crystals of amylose V complexes. III. Crystals with 8_1 helical configuration. *Journal of Polymer Science, Part B* 9 (8), 1471-1481.
- Yuan, F., Xu, D., Qi, X., Zhao, J., Gao, Y., 2013. Impact of high hydrostatic pressure on the emulsifying properties of whey protein isolate-chitosan mixtures. *Food and Bioprocess Technology* 6 (4), 1024–1031.
- Zhang, B., Dhital, S., Flanagan, B.M., Gidley, M.J., 2014. Mechanism for starch granule ghost formation deduced from structural and enzyme digestion properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62, 760–771.
- Zhang, H., Ma, J., Miao, Y., Tuchiya, T., Chen, J.Y., 2015. Analysis of carbonyl value of frying oil by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Oleo Science* 64 (4), 375–380.
- Zhu, T., Jackson, D.S., Wehling, R.L., Geera, B., 2008. Comparison of amylose determination methods and the development of a dual wavelength iodine binding technique. *Cereal Chemistry* 85 (1), 51-58.
- Zobel, H.F., 1988. Molecules to granules: A comprehensive starch review. *Starch-Stärke* 40 (2), 44-50.
- Zobel, H.F., 1988. Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch-Stärke* 40 (1), 1-7.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00076

Matrícula: 2123803085

ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES EMULSIFICANTES DE FRACCIONES DE ALMIDÓN GELATINIZADO DE MAÍZ CEROSO, MAÍZ, ARROZ Y TRIGO NATIVOS EN LA ESTABILIZACIÓN DE EMUSIONES ACEITE-EN-AGUA.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 14:30 horas del día 4 del mes de junio del año 2019 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. CONSUELO SILVIA OLIVIA LOBATO CALLEROS
DR. ELICEO SOSA HERNANDEZ
DRA. ANGELICA ROMAN GUERRERO
DR. JOSE DE JESUS ALVAREZ RAMIREZ

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS (INGENIERIA QUIMICA)

DE: DANIEL GOMEZ LURIA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



DANIEL GOMEZ LURIA
ALUMNO

REVISO

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI

DR. JESUS ALBERTO OCHOA TAPIA

PRESIDENTA

DRA. CONSUELO SILVIA OLIVIA LOBATO
CALLEROS

VOCAL

DR. ELICEO SOSA HERNANDEZ

VOCAL

DRA. ANGELICA ROMAN GUERRERO

SECRETARIO

DR. JOSE DE JESUS ALVAREZ RAMIREZ