

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

ESCUELA DE POSGRADO

DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA BIOLÓGICAS



**“OBTENCIÓN DE ALMIDONES MODIFICADOS, A PARTIR DE
PAPAS NATIVAS, Y SU APLICACIÓN PARA LA
MICROENCAPSULACIÓN DE UN EXTRACTO VEGETAL”**

Presentada por:

MIRTHA PATRICIA MARTÍNEZ TAPIA

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR
DOCTORIS PHILOSOPHIAE EN CIENCIAS E INGENIERÍA
BIOLÓGICAS**

Lima – Perú

2024

OBTENCIÓN DE ALMIDONES MODIFICADOS, A PARTIR DE PAPAS NATIVAS, Y SU APLICACIÓN PARA LA MICROENCAPSULACIÓN DE UN EXTRACTO VEGETAL

ORIGINALITY REPORT

17%

SIMILARITY INDEX

16%

INTERNET SOURCES

8%

PUBLICATIONS

5%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	hdl.handle.net Internet Source	2%
2	orcid.org Internet Source	1%
3	riunet.upv.es Internet Source	1%
4	tesis.ipn.mx Internet Source	1%
5	Rolando Quintana, Jae-Won Choi, Karina Puebla, Ryan Wicker. "Effects of build orientation on tensile strength for stereolithography-manufactured ASTM D-638 type I specimens", The International Journal of Advanced Manufacturing Technology, 2009 Publication	1%
6	www.zaragoza.unam.mx Internet Source	1%

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

ESCUELA DE POSGRADO

DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA BIOLÓGICAS

**“OBTENCIÓN DE ALMIDONES MODIFICADOS, A PARTIR DE
PAPAS NATIVAS, Y SU APLICACIÓN PARA LA
MICROENCAPSULACIÓN DE UN EXTRACTO VEGETAL”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR
DOCTORIS PHILOSOPHIAE**

Presentada por:

MIRTHA PATRICIA MARTÍNEZ TAPIA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Ritva Repo de Carrasco
PRESIDENTE

Dra. Carmen Velezmoro Sánchez
ASESORA

Dra. Doris Zúñiga Dávila
CO-ASESORA

Ph.D. Gretty Villena Chávez
MIEMBRO

Dra. Ana Aguilar Galvez
MIEMBRO

Dr. Albert Ibarz Ribas
MIEMBRO EXTERNO

DEDICATORIA

*A mis hijos,
Felipe y Lourdes*

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Carmen Velezmoro Sánchez por su invaluable apoyo, sus consejos, su confianza y su paciencia durante el desarrollo de esta investigación, y por ser un referente en mi formación como docente y en mi vida personal.

A la Dra. Doris Zúñiga Dávila y al Dr. Luis Arturo Bello Pérez por el apoyo recibido durante la ejecución de esta investigación. Al Dr. Bello por su orientación durante mi estancia doctoral realizada en el Laboratorio de Carbohidratos del Centro de Productos Bióticos (CEPROBI) del Instituto Politécnico Nacional (IPN) en Yauhtepec, Morelos (México). Así como a todo el equipo técnico que forma parte de su laboratorio.

Al Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT) mediante el Convenio N° 139-2015-FONDECYT, por el financiamiento de la parte experimental de esta investigación.

A los miembros del jurado, Ritva Repo Ph.D., Gretty Villena Ph.D. y Dra. Ana Aguilar por los comentarios, las observaciones y las sugerencias que ayudaron a mejorar esta investigación.

Al Dr. Albert Ibarz Ribas, un gran maestro, por aceptar ser parte del jurado evaluador y por los comentarios, las observaciones y las sugerencias que ayudaron a mejorar la presentación del presente documento.

A la Dra. Galdys Ocharan por su apoyo en el análisis estructural del almidón citrato y de las micropartículas realizado por microscopía electrónica de barrido (MEB).

A la *Mg. Sc.* Fiorela Peña Carrasco, mi estudiante, mi tesista de pregrado y maestría, mi asistente de laboratorio, por su invaluable y constante apoyo durante el desarrollo de esta investigación.

A todos mis afectos y amigos un agradecimiento muy especial, porque me alentaron y me apoyaron de diferentes maneras para cumplir este objetivo, y sobre todo porque me acompañaron en los momentos más difíciles de mi vida.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. PAPAS NATIVAS.....	4
2.1.1. Papas nativas no amargas.....	5
2.1.2. Papas nativas amargas.....	5
2.2. ALMIDÓN DE PAPA.....	5
2.3. MODIFICACIÓN DE ALMIDONES.....	9
2.3.1. Almidones esterificados con anhídrido octenil succínico (OSA).....	9
2.3.2. Aplicación de la tecnología de ultrasonido en la esterificación de almidones con OSA.....	10
2.3.3. Almidones esterificados con ácido cítrico.....	10
2.4. MICROENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS.....	12
2.4.1. Materiales de pared utilizados para el secado por atomización.....	13
2.5. RESIDUOS VEGETALES COMO FUENTE DE COMPUESTOS BIOACTIVOS.....	13
2.5.1. Semilla de palta.....	14
2.6. METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA (MSR).....	15
2.6.1. Diseño de experimentos.....	17
2.6.2. Diseño Factorial (DF).....	17
2.6.3. Selección del mejor modelo de regresión en MSR.....	19
2.6.4. Función de deseabilidad.....	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN.....	21
3.2. MUESTRA.....	21
3.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS.....	22
3.3.1. Equipos.....	22
3.3.2. Materiales.....	23
3.3.3. Reactivos.....	23
3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	25

3.4.1. Almidones nativos y modificados.....	25
a. Humedad.....	25
b. Almidón total (Pureza).....	25
c. Microscopía óptica y de luz polarizada.....	25
d. Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	25
e. Distribución de tamaño de los gránulos de los almidones.....	25
f. Distribución de tamaño de cadenas de amilopectina.....	25
g. Determinación del peso molecular.....	25
h. Cristalinidad.....	27
i. Espectroscopía en la región del infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR).....	27
j. Propiedades de formación de pasta.....	28
k. Contenido de amilosa aparente.....	28
l. Determinación del grado de sustitución (GS) del almidón esterificado con OSA.....	28
m. Parámetros de color.....	29
n. Propiedades térmicas.....	29
o. Propiedades reológicas.....	30
p. Determinación del grado de sustitución (GS) del almidón citrato.....	32
q. Solubilidad.....	33
3.4.2. Extracto de semilla de palta.....	33
a. Contenido de fenólicos totales.....	33
b. Capacidad antioxidante.....	33
c. Color del extracto.....	33
d. pH.....	34
3.4.3. Selección del almidón esterificado para la microencapsulación del ESPC por microscopía óptica.....	34
3.4.4. Caracterización de las micropartículas.....	34
a. Humedad.....	34
b. Actividad de agua.....	34
c. Eficiencia de encapsulación.....	34
d. Parámetros de color.....	35
e. Morfología de las micropartículas.....	35
f. Higroscopicidad.....	35
g. Distribución de tamaño de partícula.....	35

3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	35
3.5.1. Caracterización de los almidones nativos.....	36
3.5.2. Modificación de los almidones y su caracterización.....	37
a. Modificación con OSA y pretratamiento con ultrasonido.....	37
b. Esterificación con ácido cítrico.....	38
3.5.3. Microencapsulación del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC) empleando almidón seleccionado.....	40
a. Obtención del extracto de semilla de palta (ESP).....	40
b. Selección del almidón modificado como material de pared.....	40
c. Microencapsulación del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC).....	40
d. Caracterización de las micropartículas.....	41
3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	41
3.6.1. Almidones modificados con OSA.....	41
3.6.2. Optimización del proceso de modificación del almidón con ácido cítrico.....	41
3.6.3. Microencapsulación del extracto de semilla de palta concentrado.....	43
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
4.1. Caracterización estructural, funcional, y morfológica de los almidones nativos.....	44
4.1.1. Contenido de almidón total.....	44
4.1.2. Microscopía electrónica de barrido, óptica y de luz polarizada.....	44
4.1.3. Distribución de tamaño de partícula.....	46
4.1.4. Distribución de tamaño de cadenas de amilopectina.....	47
4.1.5. Peso molecular.....	49
4.1.6. Cristalinidad.....	51
4.1.7. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).....	52
4.1.8. Propiedades de formación de pasta.....	54
4.2. Caracterización estructural, funcional, y morfológica de los almidones modificados...57	57
4.2.1. Almidones esterificados con anhídrido octenil succínico (OSA).....	57
a. Contenido de amilosa aparente, grado de sustitución (GS), eficiencia de reacción (ER) y parámetros de color.....	57
b. Microscopía electrónica de barrido (MEB) y de luz polarizada (MLP).....	59
c. Distribución de tamaño de partícula.....	62
d. Cristalinidad.....	64
e. Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR).....	65
f. Propiedades térmicas.....	68

g. Propiedades de formación de pasta.....	69
h. Comportamiento al flujo.....	71
i. Propiedades viscoelásticas.....	73
4.2.2. Esterificación del almidón Loc'ka con ácido cítrico.....	78
a. Optimización de los parámetros del proceso de esterificación.....	78
4.2.3. Caracterización del almidón citrato óptimo (LKC).....	83
a. Contenido de amilosa aparente, grado de sustitución (GS) y parámetros de color.....	83
b. Microscopía electrónica de barrido (MEB) y de luz polarizada (MLP).....	85
c. Distribución de tamaño de partícula.....	86
d. Cristalinidad.....	87
e. Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR).....	88
f. Propiedades térmicas.....	91
g. Propiedades de formación de pasta.....	92
h. Propiedades reológicas.....	93
i. Peso molecular.....	97
4.2.4. Caracterización del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC).....	98
4.2.5. Microencapsulación del ESPC por atomización.....	100
a. Selección del almidón esterificado para la microencapsulación del ESPC.....	100
b. Micropartículas de ESPC formadas con el almidón seleccionado (LKC).....	101
V. CONCLUSIONES.....	110
VI. RECOMENDACIONES.....	112
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	113
VIII. ANEXOS.....	134

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Características de los almidones nativos obtenidos de cultivares de papas nativas de Ilave (Puno).....	21
Cuadro 2: Diseño factorial con variables reales y codificadas para la optimización de los parámetros de obtención del almidón citrato.....	42
Cuadro 3: Materiales de pared empleados para microencapsulación del extracto concentrado de semilla de palta concentrado (ESPC).....	43
Cuadro 4: Contenido de almidón total en los almidones nativos.....	44
Cuadro 5: Parámetros de distribución del tamaño de partículas de los almidones nativos....	47
Cuadro 6: Longitud de cadenas de amilopectina de los almidones nativos.....	49
Cuadro 7: Masa molar y radio de giro de los almidones nativos.....	50
Cuadro 8: Relación de intensidad y rangos de corto alcance molecular de los almidones nativos.....	54
Cuadro 9: Propiedades de formación de pasta de los almidones nativos	55
Cuadro 10: Contenido de amilosa aparente, grado de sustitución y eficiencia de reacción de los almidones OSA y US-OSA.....	57
Cuadro 11: Parámetros de color de los almidones OSA y US-OSA.....	59
Cuadro 12: Parámetros de distribución de tamaño de partícula de los almidones OSA y US-OSA.....	63
Cuadro 13: Relación de intensidad y rangos de corto alcance molecular de los almidones OSA y US-OSA.....	68
Cuadro 14: Temperaturas de gelatinización y entalpías de los almidones OSA y US-OSA	69
Cuadro 15: Propiedades de formación de pasta de los almidones OSA y US-OSA.....	70
Cuadro 16: Parámetros del modelo de Ley de Potencia y de Herschel-Bulkley que describen el comportamiento al flujo de los geles de almidones OSA y US-OSA.....	72
Cuadro 17: Módulo G' , módulo G'' , $\tan \delta$ y η^* a 1 Hz para los geles de almidones OSA y US-OSA.....	77
Cuadro 18: Parámetros de la Ley de Potencia para los módulos G' y G'' de los geles de almidones OSA y US-OSA.....	78

Cuadro 19: Matriz de diseño experimental factorial con variables reales y resultados experimentales.....	79
Cuadro 20: Análisis de varianza y los coeficientes de regresión de los modelos cuadráticos para la viscosidad y la solubilidad del almidón citrato.....	80
Cuadro 21: Comparación entre los valores experimentales y predichos por la función de deseabilidad.....	81
Cuadro 22: Contenido de amilosa, grado de sustitución y parámetros de color del almidón citrato óptimo (LKC).....	84
Cuadro 23: Temperaturas y entalpía de gelatinización del almidón citrato óptimo (LKC)...	91
Cuadro 24: Propiedades de formación de pasta del almidón citrato óptimo (LKC).....	93
Cuadro 25: Parámetros de los modelos de Ley de Newton y Ley de la Potencia que describen el comportamiento al flujo del almidón citrato óptimo (LKC).....	94
Cuadro 26: Módulo G' , módulo G'' , $\tan \delta$ y η^* a 1 Hz para el almidón citrato óptimo (LKC).....	97
Cuadro 27: Masa molar y radio de giro del almidón citrato óptimo (LKC).....	98
Cuadro 28: Características del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC).....	99
Cuadro 29: Parámetros del modelo de Ley de Newton y Ley de la Potencia que describen el comportamiento al flujo de las dispersiones para la microencapsulación.....	102
Cuadro 30: Eficiencia de encapsulación, rendimiento del proceso, actividad de agua, contenido de humedad, higroscopicidad, parámetros de tamaño y de color para las micropartículas estabilizadas con maltodextrina (MD), maltodextrina-almidón citrato (MD-LKC) y almidón citrato óptimo (LKC).....	103

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representación de las estructuras moleculares de (a) amilosa (principalmente con enlace α -(1,4)) y (b) amilopectina (que contiene un enlace α -(1,6) significativo).....	6
Figura 2: Representación gráfica de la estructura del almidón: desde gránulos hasta unidades de glucósido: las dobles hélices y los segmentos ramificados de amilopectina (líneas negras), las hélices individuales de amilosa (líneas verdes) y las dobles hélices en cristales polimórficos A o B (círculos).....	7
Figura 3: Proceso de esterificación del almidón con ácido cítrico.....	11
Figura 4: Procedimiento de análisis en la metodología de superficie de respuesta.....	16
Figura 5: Superficies de respuesta: a) descrita por un modelo de primer orden; b), c) y d) descritas por modelos de segundo orden.....	18
Figura 6: Esquema experimental de la investigación.....	36
Figura 7: Diagrama de flujo para la esterificación de almidones nativos con OSA y pretratamiento con ultrasonido.....	37
Figura 8: Diagrama de flujo para la esterificación de almidón con ácido cítrico.....	39
Figura 9: Diagrama de flujo para la microencapsulación del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC).....	41
Figura 10: Micrografías de los almidones nativos: <i>Imilla blanca</i> (A, D, G), <i>Imilla negra</i> (B, E, H) y <i>Loc'ka</i> (C, F, I), según lo observado por MEB (A, B, C), microscopía óptica (D, E, F) y MLP (G, H, I).....	45
Figura 11: Distribución de tamaño de partícula de los almidones nativos.....	46
Figura 12: Distribución de tamaño de cadenas de amilopectina de almidones nativos: <i>Imilla blanca</i> (IB), <i>Imilla negra</i> (IN) y <i>Loc'ka</i> (LK).....	48
Figura 13: Patrones de difracción de los almidones nativos.....	52
Figura 14: Espectros FT-IR de los almidones nativos: <i>Imilla blanca</i> (IB), <i>Imilla negra</i> (IN) y <i>Loc'ka</i> (LK).....	53
Figura 15: Ejemplo de señal FT-IR deconvolucionada en la región de la huella dactilar del almidón IB.....	54
Figura 16: Perfil de formación de pasta de los almidones nativos.....	55

Figura 17: Micrografías de MEB (columna A) y MLP (columna B) de los almidones OSA y US-OSA.....	60
Figura 18: Distribución del tamaño de partícula de los almidones OSA (línea continua) y US-OSA (línea discontinua): (a) IB, (b) IN y (c) LK.....	63
Figura 19: Patrones de difracción y cristalinidad relativa (C) de los almidones OSA (línea continua) y US-OSA (línea discontinua): (a) IB, (b) IN y (c) LK.....	65
Figura 20: Espectroscopía infrarroja (FT-IR) de los almidones modificados OSA (línea continua) y US-OSA (línea discontinua): (a) IB, (b) IN y (c) LK.....	66
Figura 21: Ejemplo de señal FT-IR deconvolucionada en la región de la huella dactilar de los almidones IB-OSA (línea verde claro) e IB-US-OSA (línea verde oscuro).....	67
Figura 22: Perfil de formación de pasta de los almidones OSA y US-OSA.....	70
Figura 23: Propiedades de comportamiento al flujo en estado estacionario de los geles de almidón modificados ajustados a los modelos de la Ley de la Potencia (LP) (línea continua) y de Herschel Bulkley (HB) (línea discontinua): (a) ■- IB-OSA, □- IB-US-OSA, (b) •- IN-OSA, ○- IN-US-OSA, (c) ▲- LK-OSA, △- LK-US-OSA.....	73
Figura 24: Barrido de amplitud de los geles de almidón modificados OSA y US-OSA....	74
Figura 25: (a) Módulo G' como función de la frecuencia, (b) Módulo G'' como función de la frecuencia, (c) $\tan \delta$ como función de la frecuencia, (d) η^* como función de la frecuencia medidos a 25 °C para los geles de almidón modificados: ■- IB-OSA, □- IB-US-OSA, •- IN-OSA, ○- IN-US-OSA, ▲- LK-OSA, △- LK-US-OSA.....	75
Figura 26: Superficie de respuesta para la viscosidad (a) y la solubilidad (b) en función al tiempo de reacción y concentración de ácido cítrico en la optimización de la obtención del almidón citrato.....	81
Figura 27: Representación de la superficie de respuesta estimada para la función de deseabilidad de las respuestas viscosidad y solubilidad, en función al tiempo de reacción y concentración de ácido cítrico, para la optimización de la obtención del almidón citrato óptimo (LKC).....	82
Figura 28: Ploteo de residuos versus respuesta predicha para la viscosidad (a) y solubilidad (b) del almidón citrato óptimo (LKC).....	83
Figura 29: Micrografías de MEB (columna A) y MLP (columna B) del almidón citrato óptimo (LKC).....	86
Figura 30: Distribución de tamaño de partícula del almidón citrato óptimo (LKC) y de su contraparte nativa (LK).....	87

Figura 31: Difractogramas del almidón citrato óptimo (LKC) y de su contraparte nativa (LK).....	88
Figura 32: Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier del almidón citrato óptimo (LKC) y de su contraparte nativa (LK).....	89
Figura 33: Deconvolución del espectro FT-IR del almidón citrato óptimo (LKC).....	90
Figura 34: Pico endotérmico del almidón citrato óptimo (LKC) y de su contraparte nativa (Peña 2017).....	92
Figura 35: Perfil de formación de pasta del almidón nativo (LK) (A) y del almidón citrato óptimo (LKC) (B).....	93
Figura 36: Comportamiento al flujo del almidón citrato óptimo ajustado a la Ley de Newton (LN-LKC) y Ley de la Potencia (LP-LKC) en comparación con su contraparte nativa (LK).....	94
Figura 37: Barrido de amplitud (A), barrido de frecuencia (B), $\tan \delta$ (C) y η^* (D) para el almidón citrato óptimo (LKC) y de su contraparte nativa (LK) (Peña 2017).....	96
Figura 38: Micrografías de las micropartículas de ESPC formadas con los almidones esterificados: A) MD, B) LKC, C) IB-OSA, D) IN-OSA, E) LK-OSA, F) IB-US-OSA, G) IN-US-OSA, H) LK-US-OSA.....	100
Figura 39: Comportamiento al flujo de las dispersiones para la microencapsulación.....	102
Figura 40: Morfología de las micropartículas obtenidas observadas bajo MEB.....	106
Figura 41: Distribución de tamaño de las micropartículas de ESPC obtenidas por atomización.....	107
Figura 42: Micropartículas de ESPC formadas por atomización con los diferentes materiales de pared.....	109

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Análisis de varianza y prueba LSD para el contenido de almidón total de los almidones nativos.....	134
Anexo 2: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de distribución de tamaño de gránulo de los almidones nativos.....	134
Anexo 3: Análisis de varianza y prueba LSD para la distribución de tamaño de cadenas de amilopectina de los almidones nativos.....	136
Anexo 4: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros R_1 y R_2 de la espectroscopía infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR).....	137
Anexo 5: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de formación de pasta de los almidones nativos.....	138
Anexo 6: Análisis de varianza y prueba LSD para el contenido de amilosa aparente de los almidones OSA y US-OSA.....	140
Anexo 7: Análisis de varianza y prueba LSD para el grado de sustitución (GS) de los almidones OSA y US-OSA.....	141
Anexo 8: Análisis de varianza y prueba LSD para la eficiencia de reacción (ER) de los almidones OSA y US-OSA.....	142
Anexo 9: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de color de los almidones OSA y US-OSA.....	143
Anexo 10: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de distribución de tamaño de partícula de los almidones OSA y US-OSA.....	146
Anexo 11: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de FT-IR de los almidones OSA y US-OSA.....	149
Anexo 12: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de gelatinización de los almidones OSA y US-OSA.....	150
Anexo 13: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de formación de pasta para los almidones OSA y US-OSA.....	153
Anexo 14: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de comportamiento al flujo de los almidones OSA y US-OSA.....	157

Anexo 15: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros viscoelásticos de los almidones OSA y US-OSA a la frecuencia de 1 Hz.....	160
Anexo 16: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de la Ley de Potencia para los módulos G' y G'' de los geles de almidones OSA y US-OSA.....	163
Anexo 17: Análisis de optimización por el método de superficie de respuesta del proceso de modificación del almidón LK con ácido cítrico.....	166
Anexo 18: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de comportamiento al flujo de las suspensiones para microencapsular.....	170
Anexo 19: Análisis de varianza y prueba LSD para la eficiencia de encapsulación (EE) en las micropartículas.....	171
Anexo 20: Análisis de varianza y prueba LSD para el rendimiento del proceso (R) de microencapsulación.....	171
Anexo 21: Análisis de varianza y prueba LSD para la actividad de agua (a_w) de las micropartículas.....	172
Anexo 22: Análisis de varianza y prueba LSD para el contenido de humedad de las micropartículas.....	172
Anexo 23: Análisis de varianza y prueba LSD para la higroscopicidad de las micropartículas.....	173
Anexo 24: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de distribución de tamaño de las micropartículas.....	173
Anexo 25: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de color de las micropartículas	175
Anexo 26: Fotografías.....	176

LISTA DE ABREVIATURAS

AGE	Ácido gálico equivalente
ANOVA	Análisis de varianza
a_w	Actividad de agua
DRX	Difracción de rayos X
EE	Eficiencia de encapsulación
ER	Eficiencia de reacción
GS	Grado de sustitución
FT-IR	Infrarrojo transformada de Fourier (Inglés: Fourier-transform infrared)
H	Contenido de humedad
Hg	Higroscopicidad
HPSEC	Cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño (Inglés: High performance size exclusion chromatography)
HPAEC	Cromatografía líquida de alta resolución de intercambio aniónico (Inglés: High performance anion exchange chromatography)
IB	<i>Imilla blanca</i>
IN	<i>Imilla negra</i>
LK	<i>Loc'ka</i>
OSA	Modificación con anhídrido octenil succínico
US-OSA	Pretratamiento con ultrasonido y modificación con anhídrido octenil succínico
MSE	Error cuadrático medio
MSR	Metodología superficie respuesta
TE	Trolox equivalente
To	Temperatura de inicio de gelatinización
Tp	Temperatura máxima de gelatinización
Tc	Temperatura de conclusión de gelatinización
ΔH^*	Entalpía de gelatinización (en base seca)
μ	Viscosidad
n	Índice reológico o índice de flujo

k	Coefficiente de consistencia
σ_0	Umbral de fluencia
G'	Módulo de almacenamiento
G''	Módulo de pérdida
$\tan \delta$	Factor de pérdida
η^*	Viscosidad compleja
k', n'	Parámetros del módulo G' en la Ley de Potencia
k'', n''	Parámetros del módulo G'' en la Ley de Potencia
R^2	Coefficiente de determinación
TP	Temperatura inicial de formación de pasta
VP	Viscosidad pico
VI	Viscosidad de inestabilidad
VR	Viscosidad de retrogradación
VF	Viscosidad final
R_1	Relación de intensidad (1047/1022 cm^{-1}) que expresa la relación de dominios cristalinos ordenados a los dominios amorfos en los almidones
R_2	Relación de intensidad (995/1022 cm^{-1}) que expresa la relación de las estructuras hidratadas a las amorfas en los almidones

RESUMEN

Se estudiaron las características morfológicas y estructurales de almidones obtenidos de tres cultivares de papas nativas: *Imilla blanca* (IB), *Imilla negra* (IN) y *Loc'ka* (LK). Estos almidones se modificaron por esterificación con anhídrido octenil succínico (OSA) y con ácido cítrico (AC). Los almidones esterificados con OSA se modificaron según el método convencional (almidones OSA) y con ultrasonido como pretratamiento (almidones US-OSA). El almidón LK se esterificó con AC (LKC) por su tamaño de gránulo uniforme y menor viscosidad, y se realizó un proceso de optimización de los parámetros de esterificación empleando el método de superficie de respuesta (MSR). El ESPC se extrajo con agua caliente a partir de harina de semilla de palta, y el extracto fue concentrado al vacío. Los almidones OSA, US-OSA y LKC se caracterizaron y fueron evaluados como material de pared formando micropartículas con el ESPC usando la técnica de atomización. Las micropartículas obtenidas se evaluaron como material de pared usando la microscopía óptica, con lo que, se seleccionó al almidón LKC para formar micropartículas de ESPC. El comportamiento del almidón LKC fue comparado con maltodextrina (MD) y una mezcla de ambas; por lo que, se obtuvieron las micropartículas con los siguientes materiales de pared MD, MD-LKC y LKC, y fueron caracterizadas mediante eficiencia de encapsulación, rendimiento del proceso, actividad de agua, contenido de humedad, higroscopicidad, parámetros de tamaño y de color. Los almidones IB, IN y LK presentaron cristalinidad de tipo B, el almidón IN mostró la mayor viscosidad pico en la formación de pasta. El almidón LK presentó el índice de dispersión (*span*) más bajo y el mayor porcentaje de cadenas B1 de amilopectina (13 a 24 unidades de glucosa). El espectro infrarrojo de los almidones OSA y US-OSA mostró dos nuevos picos a 1572 y 1724 cm^{-1} debido a los grupos OS incorporados; sin embargo, no se evidenciaron cambios significativos en la cristalinidad. El análisis de difracción láser mostró la aglomeración de los gránulos de los almidones OSA; mientras que, los de los almidones US-OSA estuvieron más dispersos debido al pretratamiento con ultrasonido. Los parámetros óptimos para la esterificación del almidón LK con AC fueron 12,34 por ciento de concentración de la solución de AC y 16 h de tiempo de reacción, con los que se obtuvo el almidón citrato óptimo (LKC) con menor viscosidad (2,42 mPa·s) y mayor solubilidad (5,53 por ciento) que su contraparte nativa (LK). Los almidones (OSA y

US-OSA) no presentaron características adecuadas como material de pared para microencapsular el ESPC debido a que se observaron sus gránulos en las micrografías. El almidón LKC se empleó como material de pared para la microencapsulación del ESPC bajo las siguientes condiciones: temperatura de aire de secado 150 °C, flujo de alimentación de 9 mL/min y caudal de aire 35 m³/h. La suspensión de alimentación para microencapsular (ESPC y material de pared) tuvo una concentración de 21 por ciento de sólidos totales. Las micropartículas obtenidas con LKC se formaron con los gránulos más pequeños del almidón y presentaron baja actividad de agua e higroscopicidad. Sin embargo, la eficiencia de encapsulación y rendimiento del proceso fueron menores que las micropartículas obtenidas con MD.

Palabras clave: papa nativa, almidón OSA, almidón citrato, optimización, microencapsulación, atomización.

ABSTRACT

The morphological and structural characteristics of starches isolated from three Andean native potato cultivars were studied: *Imilla blanca* (IB), *Imilla negra* (IN) y *Loc'ka* (LK). These starches were modified by esterification with octenyl succinic anhydride (OSA) and citric acid (CA). The esterified starches with OSA were modified according to the conventional method (OSA starches) and with ultrasound as pretreatment (US-OSA starches). LK starch was esterified with CA (LKC) due to its uniform particle size and minor viscosity, and the esterification parameters were optimized using the response surface methodology (RSM). The EPSC was extracted with hot water from avocado seeds flour, and the extract was vacuum concentrated. The OSA, US-OSA, and LKC starches were characterized and used as wall materials obtaining ESPC microparticles using spray drying technique. The microparticles produced with the esterified starches were evaluated as wall materials using optical microscopy, and the LKC starch was chosen to produce ESPC microparticles. The behavior of LKC starch was compared with maltodextrin (MD) and a mixture of both; thus, the microparticles MD, MD-LKC, and LKC were produced and characterized by means of encapsulation efficiency, yield, water activity, moisture content, hygroscopicity, size and color parameters. IB, IN, and LK starches showed type B crystallinity, IN starch showed the highest peak viscosity during pasting. LK starch showed the lowest span and the highest percentage of B1 amylopectin chains (13 to 24 glucose units). The infrared spectrum of OSA and US-OSA starches showed two new peaks at 1572 and 1724 cm^{-1} due to the incorporated OS groups; however, there was no evidence of a significant change in their crystallinity. The laser diffraction analysis showed the agglomeration of OSA starch granules; while, US-OSA starch granules were more dispersed due to the ultrasound pretreatment. The optimal parameters for esterification of LK starch with CA were CA solution 12.34% and reaction time 16 h; with these parameters the optimum esterified starch (LKC) was synthesized and showed lower viscosity (2.42 mPa·s) y higher solubility (5.53%) than its native counterpart (LK). The OSA and US-OSA starches did not show suitable characteristics for encapsulating the EPSC using spray drying, due to starch granules were observed in the micrographs. LKC starch was used as wall material for microencapsulation of EPSC with the following conditions: air drying temperature 150 °C,

feed flow 9 mL/min, and air volume flow 35 m³/h. The feed solution for microencapsulation (ESPC and wall material) had 21% total solids. The microparticles produced with LKC were formed with small starch particles and low water activity and hygroscopicity. However, the encapsulation efficiency and yield were lower than those of microparticles produced with MD.

Key words: Andean native potato, OSA starch, starch citrate, optimization, microencapsulation, spray drying.

I. INTRODUCCIÓN

La región de los Andes Centrales de Perú y Bolivia es el centro de origen y de mayor diversidad de las especies de *Solanum* cultivadas. A la fecha, se han identificado más de cuatro mil cultivares de papa que en su mayoría se encuentran en los Andes (CIP 2024), entre las llamadas nativas y las modernas, que se siembran anualmente. Sin embargo, a pesar de esta gran diversidad de papas, en el Perú no existen empresas peruanas dedicadas a la extracción y comercialización de sus almidones a gran escala (Gómez *et al.* 2008). La producción de papa en las zonas altoandinas corresponde a las papas nativas, las cuales no son aprovechadas en su totalidad, esto trae como consecuencia pérdidas económicas para productores. Una manera de reducir estas pérdidas es dar valor agregado a las papas nativas, obteniendo almidones de estos tubérculos.

El almidón es el principal carbohidrato de almacenamiento de las plantas. Es un material biodegradable, abundante, renovable y versátil que se utiliza en la industria alimentaria, farmacéutica, textil, del plástico, de pinturas, entre otras (Ovando-Martinez *et al.* 2016; No *et al.* 2019). El empleo del almidón en la industria se debe a sus propiedades fisicoquímicas y funcionales, tales como retención de agua, viscosidad, formación de gel, etc. Sin embargo, las propiedades de los almidones nativos son limitadas con usos restringidos en aplicaciones alimentarias (Hui *et al.* 2009; Ovando-Martinez *et al.* 2016; No *et al.* 2019). Por esto, se modifican mediante métodos físicos, químicos o enzimáticos para mejorar o cambiar su funcionalidad, pudiendo así ser utilizados como ingredientes para la producción de alimentos (Bello-Pérez y Agama-Acevedo 2017). El almidón de papa presenta mejores propiedades ante los productos sustitutos (maicena, almidón de yuca y camote), por ser más consistente, mejor espesante, más transparente y sabor agradable, colocándolo en una posición ventajosa con respecto a los almidones de otras fuentes (Quintana y Beltrán 2008).

Sin embargo, los almidones nativos se modifican para mejorar o cambiar sus propiedades funcionales para aplicaciones específicas en la industria alimentaria y otras. Los almidones modificados se utilizan en casi la totalidad de las aplicaciones en la industria alimentaria. Entre los procesos de modificación de almidones más relevantes para la microencapsulación se tiene la esterificación con anhídrido octenil succínico (OSA), debido a su alta

funcionalidad, versatilidad y eficiencia (Jin *et al.* 2018). Para usar el almidón modificado con OSA como aditivo alimentario, el reactivo OSA se emplea en un máximo de 3 por ciento en función al peso seco del almidón; según la regulación de la agencia del gobierno de Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos (Jin *et al.* 2018).

La microencapsulación es un proceso orientado a proteger sustancias que son susceptibles de descomposición o de reducción de su funcionalidad debido a las diferentes reacciones de degradación. En los últimos años, la microencapsulación de compuestos fenólicos se ha investigado más (Fang y Bhandari 2010; Cavalcanti *et al.* 2011; Jin *et al.* 2018). Para la microencapsulación de compuestos fenólicos, aceites esenciales, vitaminas, sabores, pigmentos, entre otros, se pueden utilizar como materiales de pared, almidones nativos y modificados, almidones hidrolizados (dextrina, ciclodextrina y maltodextrina), gomas de polisacáridos naturales (alginato, goma arábica y carragenina) y materiales de pared a base de proteínas (albúmina, caseínas y caseinatos) (Samborska *et al.* 2021). El material de pared que se emplea en el secado por aspersion debe tener una baja viscosidad a concentraciones más altas, bajo costo, una alta solubilidad en agua, considerable emulsificación y características de formación de película para la funcionalidad esperada (Samborska *et al.* 2021).

Las frutas y verduras son fuentes principales de compuestos fenólicos, que han sido asociados con beneficios para la salud (Gonçalves *et al.* 2018). Así, los extractos vegetales de los desechos de la industrialización contienen compuestos fenólicos, por lo que se busca evitar su degradación mediante su microencapsulación. Según el nuevo planteamiento de la economía circular, los desechos de la industrialización deberán ser reutilizados, pues se conoce que son buenas fuentes de compuestos fenólicos y se han explorado como una fuente de antioxidantes naturales, como un nuevo producto alimenticio (Balasundram *et al.* 2006). Por esta razón, en este trabajo se empleó un extracto acuoso obtenido de la semilla del fruto del palto para su microencapsulación con un almidón modificado.

La palta (*Persea americana* Mill.) es una fruta muy nutritiva, oriunda de México, y que hoy en día se cultiva ampliamente en varios países subtropicales (Figueroa *et al.* 2018). De la fruta de palta solo se consume la pulpa. La semilla representa aproximadamente el 13 por

ciento del peso fresco total de la fruta, se le considera un residuo agrícola y se desecha sin más aplicaciones (Avhad y Marchetti 2015; Dabas *et al.* 2013). Los componentes presentes en las semillas de palta son de gran valor agregado que podrían ganar relevancia en las industrias alimentaria, cosmética, farmacéutica y biocombustible (Avhad y Marchetti 2015). Dabas *et al.* (2013) encontraron que las semillas de palta son ricas en metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, ácidos grasos y alcaloides; lo que indica un gran potencial benéfico para la salud de los extractos de esta semilla. Figueroa *et al.* (2018) identificaron sesenta y un compuestos fenólicos y otros compuestos polares en la cáscara de palta, que se clasificaron en once familias de compuestos. Los grupos más representativos fueron procianidinas, flavonoles, ácidos hidroxibenzoico y ácidos hidroxicinámicos; lo que indica la enorme posibilidad de emplear la cáscara de palta como ingrediente en el sector alimentario como en el cosmético.

Por lo expuesto, la presente investigación tuvo como objetivo general: microencapsular un extracto acuoso de semilla de palta (*Persea americana* Mill.) utilizando como material de pared almidón modificado, obtenido de papa nativa. Los objetivos específicos que se plantearon fueron:

1. Caracterizar funcional y estructuralmente los almidones nativos, obtenidos de tres variedades de papa nativa.
2. Modificar y caracterizar los almidones nativos por esterificación con anhídrido octenil succínico (OSA) y ácido cítrico (AC) para ser usados como materiales de pared en la microencapsulación de un extracto vegetal.
3. Microencapsular un extracto acuoso de semilla de palta con un almidón modificado, y caracterizar las micropartículas obtenidas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 PAPAS NATIVAS

Las papas nativas son aquellas variedades de papas domesticadas por los antiguos peruanos, y constituyen una valiosa herencia de los pueblos preincaicos que durante siglos las seleccionaron debido a su agradable sabor y resistencia a las heladas y sequías de la Sierra (Gómez *et al.* 2008). La gran mayoría de papas nativas se cultivan sobre los 3 800 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.), en donde ningún otro cultivo prospera. Según Gómez *et al.* (2008) a esta altitud, la fuerte radiación solar y los suelos orgánicos brindan las condiciones naturales especiales, para que estas papas se cultiven sin usar fertilizantes químicos.

Según Fries y Tapia (2007) el conocimiento de los agricultores de papa propone una diferenciación práctica y de uso entre las papas comerciales y las papas nativas. Las primeras son producto de la selección en estaciones experimentales; mientras que, las segundas, son creadas por los propios agricultores. En el Perú existen más de cuatro mil variedades de papas nativas (CIP 2024), que solo pueden ser cultivadas en zonas altoandinas con diferentes factores geográficos, climáticos y agroecológicos (Gómez *et al.* 2008), es decir, son únicas en el mundo. Las papas nativas pueden clasificarse en papas de consumo directo (dulces) y en papas de consumo indirecto (amargas) (Gómez *et al.* 2008); éstas últimas basadas en su adaptación ecológica a climas muy fríos y adversos (Fries y Tapia 2007).

Las papas nativas tienen formas redondas, ovaladas, alargadas y planas; presentan ojos superficiales o muy hundidos, y la pulpa presenta colores diversos, desde el blanco hasta el morado. Según Gutiérrez y Valencia (2010), los agricultores andinos cultivan en sus chacras o parcelas, muchas variedades de papas dulces, y en las zonas más altas, las papas amargas. Según Montañez (2014), la mayoría de las variedades de papas nativas presentan un rendimiento menor que el de la papa mejorada; no obstante, tiene calidad superior, mayor precio y es más estable en el mercado nacional.

2.1.1 Papas nativas no amargas

Según la NTP 011.400:2007, las variedades de papas nativas y mejoradas son de las especies: *Solanum andigena* y *Solanum stenotomum*. Estos tubérculos no contienen glicoalcaloides; por lo que, son aptos para el consumo directo y tienen sabor agradable.

2.1.2 Papas nativas amargas

Gómez *et al.* (2008) mencionan que las papas nativas amargas contienen altos niveles de glicoalcaloides, que confieren un sabor amargo a estos tubérculos. Estos compuestos forman parte de su mecanismo de defensa natural contra el ataque de plagas y de adaptación a las condiciones de frío intenso y heladas. Según Nema *et al.* (2008), las papas amargas contienen α -solanina y la α -chocanina. Debido a estos compuestos, las papas nativas amargas no son aptas para consumo directo; por lo cual, el agricultor andino ha desarrollado un proceso de detoxificación y preservación de estos tubérculos, obteniendo un producto deshidratado (moraya o tunta) (Egúsqüiza 2000; Gómez *et al.* 2008).

2.2 ALMIDÓN DE PAPA

El almidón es una de las materias primas más funcionales empleado en la industria alimentaria, minera, química y papelera, entre otras (Pietrzyk *et al.* 2017). La papa es un cultivo importante para la extracción de almidón, y cada año se utilizan cantidades considerables de este tubérculo para la producción de almidón (Zhou *et al.* 2016).

El almidón de papa es único, comparado con almidones de otras fuentes, debido a su estructura y composición molecular, la morfología de sus gránulos y sus propiedades fisicoquímicas (Noda *et al.* 2006; Kaur *et al.* 2007; Zhou *et al.* 2014; Zhou *et al.* 2016). El gránulo de almidón, de cualquier fuente, está compuesto de dos polisacáridos, amilosa y amilopectina (Baltes 2007; Shannon *et al.* 2009; Pietrzyk *et al.* 2017; Dome *et al.* 2020). La amilosa es esencialmente lineal que contiene más del 99 por ciento de enlaces α -(1 \rightarrow 4), y la amilopectina tiene una estructura ramificada con 95 por ciento de enlaces α -(1 \rightarrow 4) y 5 por ciento de enlaces α -(1 \rightarrow 6) (Pietrzyk *et al.* 2017) (Figura 1).

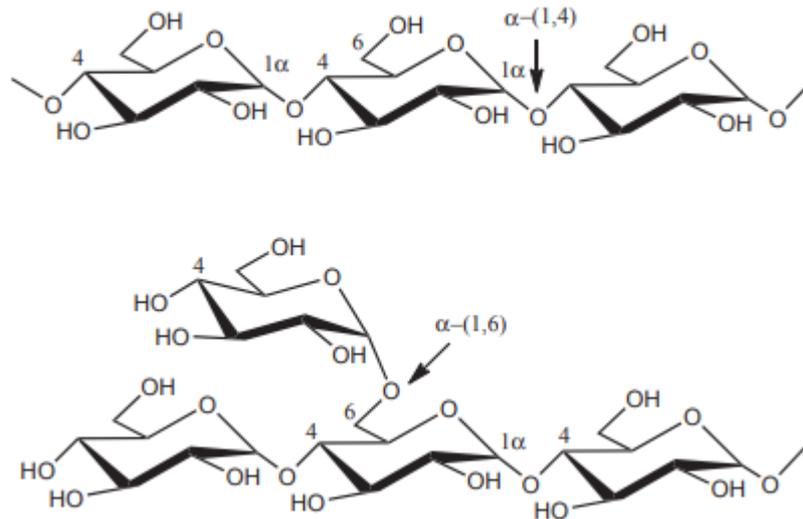


Figura 1: Representación de las estructuras moleculares de (a) amilosa (principalmente con enlace α -(1,4)) y (b) amilopectina (que contiene un enlace α -(1,6) significativo)

Fuente: Jin *et al.* (2018)

Los tamaños de los gránulos de almidón de papa varían ampliamente desde unas pocas micras de diámetro para los gránulos pequeños hasta 110 μm para los gránulos grandes (Singh y Kaur 2009; Sandhu *et al.* 2015). Los gránulos de almidón de papa pequeños tienen un contenido de fósforo más alto que los gránulos grandes (Chen *et al.* 2003), el tamaño de partícula de los gránulos de almidón influye en sus propiedades químicas y funcionales (Singh y Kaur 2004). Según Singh y Kaur (2009) esta variación de la forma, relacionada al tamaño de los gránulos del almidón de papa, podría ser debido al limitado espacio en las células del tubérculo lo que podría conducir a una alteración en la forma del crecimiento del gránulo. También mencionan que la actividad de la enzima almidón sintasa unida al gránulo (GBSS, *granule bound starch synthase*), y las membranas y características físicas de los plástidos podrían condicionar la morfología y el tamaño del gránulo de almidón de papa, durante el crecimiento de la planta. Respecto al tamaño de gránulos de almidón obtenidos de papas nativas peruanas, Martínez *et al.* (2021) reportaron distribuciones de tamaño bimodales o multimodales en el rango de 13 a 72 μm . Este tipo de distribuciones desiguales de tamaño (no unimodales) podrían deberse a características hereditarias en su etapa de crecimiento (Singh y Kaur 2004).

La Figura 2 muestra la estructura del almidón, desde los gránulos hasta las unidades de glucosilo. La estructura interna del gránulo de almidón cuenta con anillos de crecimiento (Bertoft y Blennow 2016), con componentes amorfos (cadena simple) y ordenados (doble hélice) que están dispuestos de manera alternada y rodean al punto de iniciación del gránulo, llamado hilium (Lin *et al.* 2011). El tamaño del gránulo esquemático oscila entre 1 y 100 μm (Dome *et al.* 2020). El complejo supramolecular de estos polisacáridos forma gránulos que son parcialmente cristalinos, es decir, contiene regiones semicristalinas y amorfas alternas (Frost *et al.* 2009). La región cristalina consta de dobles hélices de amilopectina, mientras que la región amorfa está formada por cadenas de amilosa y segmentos ramificados de amilopectina, es decir, las cadenas de amilosa se entrelazan con las cadenas de amilopectina. La amilopectina se considera como el principal componente de la región semicristalina y responsable, de la birrefringencia del gránulo, puesto que sus cadenas están distribuidas radialmente (Bertoft y Blennow 2016). La morfología, forma, tamaño del gránulo, grado de cristalinidad y reactividad del almidón dependen del origen y de la composición de la materia prima que contiene el almidón (Dome *et al.* 2020).

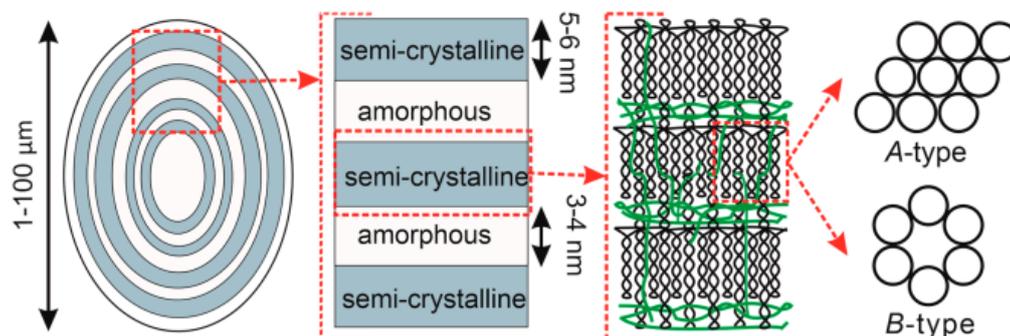


Figura 2: Representación gráfica de la estructura del almidón: desde gránulos hasta unidades de glucósido: las dobles hélices y los segmentos ramificados de amilopectina (líneas negras), las hélices individuales de amilosa (líneas verdes) y las dobles hélices en cristales polimórficos A o B (círculos)

Fuente: Dome *et al.* (2020)

La cristalinidad depende del grado de ordenamiento estructural en un cuerpo sólido. La cristalinidad de los gránulos de almidón nativo suele variar entre 14 por ciento y 45 por ciento (Dome *et al.* 2020). En el caso de almidones obtenidos de variedades de papas nativas peruanas, Martínez *et al.* (2021) estudiaron almidones de papas nativas de Cusco, y reportaron que los almidones presentaron un patrón cristalino de difracción tipo B con picos en 2θ de 5.5, 15, 17, 22 y 23.7° y con un porcentaje de cristalinidad entre 24,4 por ciento y

29,1 por ciento. Por su parte, Barraza-Jauregui *et al.* (2020) estudiaron cinco almidones obtenidos de papas nativas de la región La Libertad que presentaron valores de cristalinidad entre 20,7 y 22,4 por ciento.

En el perfil de formación de pasta se detecta un pico de máxima viscosidad, que está relacionado con el máximo hinchamiento de los gránulos. Esto se debe a la difusión del agua en el interior de los gránulos, donde se producen puentes de hidrógeno entre las cadenas de amilopectina con las de amilosa lixiviada, facilitado por el calentamiento. El almidón de papa presenta una viscosidad pico alta debido a los grupos fosfato presentes en la amilopectina (Bello-Perez y Agama-Acevedo 2017). Durante el proceso de cocción, debido al esfuerzo cortante y alta temperatura los gránulos hinchados se rompen, los componentes del almidón se solubilizan (fase continua) y la viscosidad disminuye (Ambigaipalan *et al.* 2011). Durante el enfriamiento del almidón disperso se produce la retrogradación, donde sus componentes se reorganizan, y una red de cadenas de amilosa engloba a los gránulos hinchados y rotos (Bello-Perez y Agama-Acevedo 2017). Martínez *et al.* (2021) reportaron valores de viscosidad pico en el rango 12970-16970 mPa·s para geles de almidón de papas nativas de Cusco, que están relacionados con su contenido de amilopectina y los grupos fosfatos presentes.

Bello-Perez y Agama-Acevedo (2017) afirman que, al peso molecular del almidón, se le debe denominar “distribución del peso molecular” pues este polisacárido está constituido por un rango de pesos moleculares. Los dispositivos empleados para determinar esta propiedad física usan separación por tamaño (cromatografía de permeación en gel), no por peso molecular, es importante resaltar que, incluso dos moléculas que presentan tamaño similar pueden tener diferentes pesos moleculares. Así, el peso molecular del almidón influye en la funcionalidad. Un almidón con alto peso molecular produce una alta viscosidad, y un almidón con bajo peso molecular tiene una viscosidad reducida, y es adecuado para preparar soluciones formadoras de películas (Bello-Perez y Agama-Acevedo 2017). Por su parte, Baltes (2007) afirma que la amilosa está enroscada en forma de hélice, y que en cada vuelta presenta seis o siete unidades de glucosa, su peso molecular puede variar entre 50kDa y 200 kDa. La amilopectina está enroscada en espiral, al menos parcialmente, y su peso molecular entre 200 kDa y 1000 kDa.

2.3 MODIFICACIÓN DE ALMIDONES

El almidón nativo es insoluble en agua fría y, cuando se calienta con agua, forma una textura pastosa con alta viscosidad, esto disminuye la eficiencia del secado por aspersión y aumenta la grieta superficial, por lo que limita su aplicación en el proceso de microencapsulación. Estas limitaciones se pueden superar mediante la modificación del almidón nativo (Bello-Perez y Agama-Acevedo 2017; Das *et al.* 2019).

De acuerdo a Chen *et al.* (2018), el almidón puede ser modificado estructuralmente o despolimerizado usando diferentes enzimas de grado alimentario, como la amiloglucosidasa, pululanasa, α -amilasa, β -amilasa e isomerasa, para producir maltodextrina, almidones modificados o jarabes de glucosa y fructosa. Los métodos físicos de modificación del almidón incluyen tratamientos hidrotérmicos, pregelatinización y procesos no térmicos. La modificación química se logra a través de la derivatización, como la eterificación, la esterificación y la reticulación (Chen *et al.* 2018). La química general y los procesos para las modificaciones del almidón han sido estudiados y documentados (Wurzburg 1986). Para gestionar el uso de almidón nativo se utilizan modificaciones químicas para mejorar su viscosidad, la tolerancia del proceso y la estabilidad del producto (Jin *et al.* 2018). En las modificaciones químicas, los grupos hidroxilo del almidón reaccionan con los grupos sustituyentes que se insertan en él.

2.3.1 Almidones esterificados con anhídrido octenil succínico (OSA)

En los últimos años se han realizado varios estudios que reportan la esterificación con OSA de almidones de diferentes fuentes (Wang *et al.* 2011; Sweedman *et al.* 2013; Bai *et al.* 2014; Wang *et al.* 2016; Won *et al.* 2017). Este método de modificación convencional consiste en la inserción de grupos octenilsuccínicos (OS) en las cadenas de almidón (Hui *et al.* 2009; Wang *et al.* 2011; Sweedman *et al.* 2013; Bai *et al.* 2014; Won *et al.* 2017) mediante la agitación de la suspensión de almidón con OSA. La reacción lleva un tiempo de reacción largo, al menos 6 h. Esta reacción se realiza en una suspensión de almidón en condiciones alcalinas (Hui *et al.* 2009; Wang *et al.* 2011; Bai *et al.* 2014). La agencia del gobierno de Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos permite un máximo de 3 por ciento de tratamiento con OSA, en peso seco, para que el almidón se use como aditivo alimentario (grado de sustitución (GS) ~ 0.02) (Bhosale y Singhal 2006; Song *et al.* 2006; Won *et al.* 2017; Jin *et al.* 2018).

Tanto el tamaño de los gránulos y la relación amilosa/amilopectina, son dos características que restringen la inserción de grupos OS y, en consecuencia, sus características fisicoquímicas y funcionales. La introducción de los grupos OS en las cadenas de almidón producen ésteres que tienen propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas, lo que dota al almidón del carácter anfifílico, aumentando su actividad superficial (Liu *et al.* 2018). Este carácter anfifílico del almidón OSA lo hace útil para procesos de encapsulación, emulsificación, elaboración de películas y formación de revestimientos; estas aplicaciones se pueden realizar por su carácter hidrofóbico y estérico, y por su estructura macromolecular ramificada (Wang *et al.* 2011; Sweedman *et al.* 2013; Ovando-Martínez *et al.* 2016; Wang *et al.* 2016; Silva *et al.* 2022). Los grupos OS insertados alteran la estructura organizada de los gránulos de almidón nativo, este efecto reduce las características de gelatinización de los almidones modificados con OSA en comparación con sus formas nativas (Bello-Flores *et al.* 2014).

2.3.2 Aplicación de la tecnología de ultrasonido en la esterificación de almidones con OSA

La tecnología de ultrasonido se ha aplicado con diferentes propósitos en la industria alimentaria (Soria y Villamiel 2010). El principal efecto mecánico de los ultrasonidos ocurre cuando la energía asociada es lo suficientemente alta como para producir cavitación, causando calor, presión y turbulencia en un material (Soria y Villamiel 2010; Awad *et al.* 2012; Zhu 2015; Yang *et al.* 2019a). La aplicación del ultrasonido es una modificación no térmica que altera la estructura del almidón y en consecuencia sus características fisicoquímicas y funcionales (Bonto *et al.* 2021). El ultrasonido se considera una tecnología ecológica y limpia que puede producir almidón con nuevas funcionalidades deseadas (Maniglia *et al.* 2020; Mhaske *et al.* 2021) y puede exponer más sitios reactivos en los gránulos de almidón (Liang *et al.* 2021), lo que podría facilitar el contacto con el reactivo químico. Así, Maniglia *et al.* (2021) sostienen que las combinaciones de tecnologías emergentes amigables con el medio ambiente pueden ser una alternativa para modificar el almidón.

Se han reportado algunas contradicciones sobre el tratamiento con ultrasonido para modificar la estructura del almidón. La estructura química de los almidones no presentó grandes cambios debido al tratamiento con ultrasonido (Iida *et al.* 2008); sin embargo, algunas características funcionales, reológicas y de gelatinización de los almidones de plátano mejoraron debido al ultrasonido (Izidoro *et al.* 2011). El tratamiento con ultrasonido

en el almidón de maíz redujo las propiedades térmicas sin cambiar su patrón de difracción de rayos X, pero las superficies de los gránulos de almidón resultaron dañadas (Amini *et al.* 2015). Los gránulos de tamaño grande de almidón de plátano se vieron más afectados por el tratamiento con ultrasonido, lo que provocó un aumento de la viscosidad máxima y una disminución del poder de hinchamiento y la solubilidad (Carmona-García *et al.* 2016). Recientemente, Silva *et al.* (2022) reportaron el uso de la tecnología de ultrasonido combinada con la esterificación en almidón de semilla de achiote. Estos reportes evidencian que, las modificaciones químicas del almidón, ampliamente utilizadas, combinadas con el ultrasonido permitirían obtener almidones esterificados con características funcionales adecuadas para su aplicación en la industria.

2.3.3 Almidones esterificados con ácido cítrico

El ácido cítrico es un ácido carboxílico trifuncional de bajo coste, alta eficacia, seguridad y respeto al medio ambiente (Ye *et al.* 2019). Es inofensivo, desde el punto de vista nutricional, y la tasa de digestión del almidón esterificado por la pancreatina disminuye al aumentar el grado de sustitución por el citrato. El ácido cítrico, cuando se calienta, se deshidratará para formar un anhídrido, que reaccionará con el almidón para formar un almidón-citrato (Xie y Liu 2004). Un calentamiento adicional puede provocar una deshidratación adicional del ácido cítrico y dar lugar a la reticulación (Figura 3) (Mei *et al.* 2015).

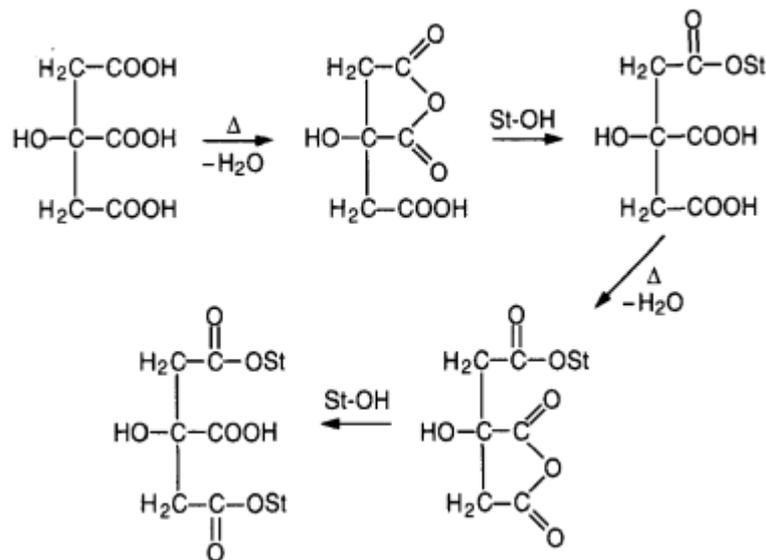


Figura 3: Proceso de esterificación del almidón con ácido cítrico

Fuente: Wing (1996)

La esterificación es uno de los métodos de modificación comunes que puede mejorar la funcionalidad del almidón para diversas aplicaciones. Puede llevarse a cabo utilizando ácidos y sus derivados, que pueden reaccionar con la gran cantidad de grupos hidroxilo del almidón para obtener un producto con alto grado de sustitución (Fang *et al.* 2002). Además, la esterificación puede ofrecer grupos éster hidrófobos para sustituir grupos hidroxilo del almidón, de modo que se puedan reducir sus propiedades hidrófilas y se pueda prevenir la retrogradación (Ghanbarzadeh *et al.* 2011).

En general, el método de esterificación en seco convencional se usa para la reacción de almidón con ácido cítrico. Durante el tratamiento térmico, el ácido cítrico se deshidrata para formar un anhídrido, lo que sugiere la formación de un aducto de citrato de almidón. El calentamiento puede provocar una deshidratación adicional del ácido cítrico y provocar la esterificación entre el almidón y el ácido cítrico (Xie y Liu 2004).

2.4 MICROENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

La microencapsulación es un proceso que se emplea para atrapar una sustancia (material del núcleo o agente activo) dentro de otra sustancia (material de la pared) (Mahdavi *et al.* 2016). En la industria de alimentos, implica la incorporación de ingredientes, polifenoles, colorantes, enzimas, aditivos volátiles y bacterias en pequeñas cápsulas, para estabilizarlas, protegerlas, preservarlas y asegurar su calidad frente a pérdidas nutricionales y de salud (Mahdavi *et al.* 2016; Vicente *et al.* 2017). La selección de una técnica de encapsulación depende de aplicaciones y parámetros específicos, como las propiedades fisicoquímicas de los materiales del núcleo y la pared, el tamaño de partícula requerido, los mecanismos de liberación, el costo del proceso, entre otros (Mahdavi *et al.* 2016).

Entre los métodos más utilizados para la microencapsulación de compuestos bioactivos, en la industria alimentaria, se tiene al secado por aspersion. Esto se debe a su simplicidad, bajo costo y flexibilidad, que permite una operación continua, alta estabilidad (bajo contenido de humedad de los polvos), reducción sustancial de volumen, facilidad de manipulación y estabilidad de almacenamiento de las micropartículas (Rocha *et al.* 2019). Este método se puede utilizar para materiales termosensibles y fotosensibles, debido a las bajas temperaturas que se alcanzan en el material del núcleo (Vicente *et al.* 2017; Rocha *et al.* 2019). El secado por aspersion se usa ampliamente para la encapsulación a gran escala de diversas sustancias,

como antibióticos, ingredientes farmacéuticos, aditivos, vitaminas y polifenoles (Rocha *et al.* 2019).

2.4.1 Materiales de pared utilizados para el secado por atomización

La microencapsulación puede ser una forma eficaz de mejorar la biodisponibilidad y la estabilidad de los compuestos bioactivos, así como controlar la liberación de agente activo (Mahdavi *et al.* 2016; Das *et al.* 2019). La finalidad de la microencapsulación es proteger el material del núcleo de los efectos ambientales, aumentando la vida útil del producto y promoviendo una liberación controlada del material del núcleo microencapsulado (Ahn *et al.* 2008; Das *et al.* 2019; Abrahão *et al.* 2019). En el proceso de microencapsulación existen varias técnicas, pero el secado por aspersión es la más utilizada debido a su bajo costo, pues se pueden producir partículas con buenas características en menor tiempo (Mahdavi *et al.* 2016; Das *et al.* 2019).

Para la microencapsulación se pueden utilizar varios tipos de agentes encapsulantes, pero se deben observar algunas características, incluyendo su capacidad para formar películas, biodegradabilidad, resistencia al tracto gastrointestinal, viscosidad, contenido de sólidos, higroscopicidad y costo (Silva *et al.* 2013), es decir, la selección del material de pared es el paso principal en el secado por aspersión (Das *et al.* 2019). Los materiales de pared más utilizados son la maltodextrina, la goma arábica y los almidones emulsionantes. Los carbohidratos, como maltodextrinas y almidones, tienen buena solubilidad y baja viscosidad, con altos contenidos de sólidos que son muy deseables para un agente de encapsulación (Mahdavi *et al.* 2016; Das *et al.* 2019). Cuando se modifican los almidones se busca mejorar o cambiar su funcionalidad para lograr la microencapsulación de compuestos con mayores rendimientos, que conserven su funcionalidad en el tiempo y las características fisicoquímicas del núcleo, y que permita liberar el núcleo con facilidad. No obstante, existen pocas investigaciones en las que se emplean almidón modificado como material de pared para la encapsulación de compuestos bioactivos.

2.5 RESIDUOS VEGETALES COMO FUENTE DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

La industria procesadora de frutas y vegetales genera una gran cantidad de residuos (semillas, cáscaras, productos defectuosos), a los que se da gran importancia por ser fuente

de compuestos bioactivos, y que ha sido reportado en diferentes investigaciones (Mirabella *et al.* 2014; Zuorro 2014; Zuorro 2016; Martínez 2016; Saavedra *et al.* 2017; Rosero *et al.* 2019; Soldera-Silva *et al.* 2018; Tremocoldi *et al.* 2018; Athaydes *et al.* 2019; Araújo *et al.* 2020). La recuperación de estos compuestos de interés con propiedades antioxidantes no solo se aprovecharía en la industria alimentaria, sino también en la cosmética, farmacéutica, entre otras. Esta recuperación se valorizaría aún más si se utilizan tecnologías verdes, pues no solo mitigarían los impactos negativos de la eliminación de residuos sobre el medio ambiente, sino que, principalmente podría mejorar la rentabilidad de la industria alimentaria, contribuyendo a la implementación de una economía circular (Del Castillo-Llamosas *et al.* 2021).

2.5.1 Semilla de palta

La palta (*Persea americana* Mill.) es una fruta muy nutritiva originaria de las áreas húmedas tropicales de México, en donde es conocida como aguacate; aunque, hoy en día se cultiva ampliamente en gran escala en varios países subtropicales (Figueroa *et al.* 2018). La palta probablemente se originó en el sur de México, pero se cultivó desde el Río Grande hasta el centro de Perú antes de la llegada de los europeos (Uchenna *et al.* 2017). Existen muchas variedades de palta, de las cuales ‘Hass’ es la más común en todo el mundo (Kosińska *et al.* 2012).

La palta tiene muchos nutrientes, esto incluye su alto contenido de minerales esenciales, potasio, vitamina B6, vitamina E y complejo B (Uchenna *et al.* 2017). Las semillas de palta tienen componentes de valor agregado que podrían ganar relevancia en la industria de alimentos, cosmética, farmacéutica y biocombustible (Avhad y Marchetti 2015; Tesfaye *et al.* 2022). Estos componentes son fitoesteroles y triterpenos, ácidos grasos olefínicos, ácido furanoico, dímeros de flavonoles y proanocianidinas oligoméricas, entre otros. Los estudios han demostrado que la semilla de palta se puede usar para reducir la acumulación de grasa visceral y mejorar la hiperlipidemia y la hiperglucemia en ratas. Además, el consumo de dietas a base de palta mostró niveles más bajos de colesterol (Uchenna *et al.* 2017).

La cáscara y la semilla de la palta son particularmente abundantes y están subutilizadas, pero pueden considerarse una fuente alternativa de antioxidantes porque contienen polifenoles, carotenoides y clorofilas que son responsables de la actividad antioxidante (Rodríguez-

Carpena *et al.* 2011; Dabas *et al.* 2013; Salazar-López *et al.* 2020). Los ácidos fenólicos, los flavonoides y los taninos se encuentran entre los tipos más relevantes de compuestos fenólicos presentes en el fruto de palta (Tremocoldi *et al.* 2018; Salazar-López *et al.* 2020). Avhad y Marchetti (2015) sostienen que existen informes sobre la posible utilización de semillas de palta para beneficio humano. Por consiguiente, una alternativa para lograr la conservación de los compuestos fenólicos recuperados de las semillas de palta es la microencapsulación de su extracto, para lo cual se podría emplear como material de pared, los almidones modificados. Se han realizado varios estudios sobre la recuperación de compuestos bioactivos a partir de semillas de palta empleando diversos solventes y condiciones de extracción. Entre los solventes usados están agua (Segovia *et al.* 2016; Calderón-Oliver *et al.* 2016), acetona (Rodríguez-Carpena *et al.* 2011; Saavedra *et al.* 2017; Rosero *et al.* 2019), etanol (Soldera-Silva *et al.* 2018; Tremocoldi *et al.* 2018; Athaydes *et al.* 2019), metanol (Arlene *et al.* 2015), mezcla de acetona/agua/ácido acético (Wang *et al.* 2010b) y dióxido de carbono en extracción con fluido supercrítico (Páramos *et al.* 2020).

Las industrias procesadoras de palta generan cantidades de desechos sólidos anualmente, esto genera serios problemas ambientales y económicos si no se manejan adecuadamente. Estos subproductos, como ya se mencionó anteriormente, contienen compuestos de alto valor agregado como carbohidratos, proteínas, lípidos y polifenoles, entre otros (Del Castillo-Llamosas *et al.* 2021). Por lo que, el diseño de un modelo integrado de biorrefinería basado en subproductos de palta para fabricar productos con valor añadido, con diversas aplicaciones industriales, es una solución adecuada y atractiva para las industrias procesadoras de palta (Del Castillo-Llamosas *et al.* 2021).

2.6 METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA (MSR)

La MSR es la estrategia experimental y de análisis eficaz que se utiliza ampliamente para optimizar los parámetros del proceso (Gutiérrez y de la Vara 2008; Hou *et al.* 2019). La ventaja significativa de la MSR es que permite la evaluación de las variables independientes y sus interacciones en las variables dependientes con un número reducido de ensayos (Alara *et al.* 2018), y permite determinar la condición de procesamiento óptima para la maximización o minimización de la respuesta experimental (Olawoye *et al.* 2020). El procedimiento de análisis en la MSR se presenta en el Figura 4.

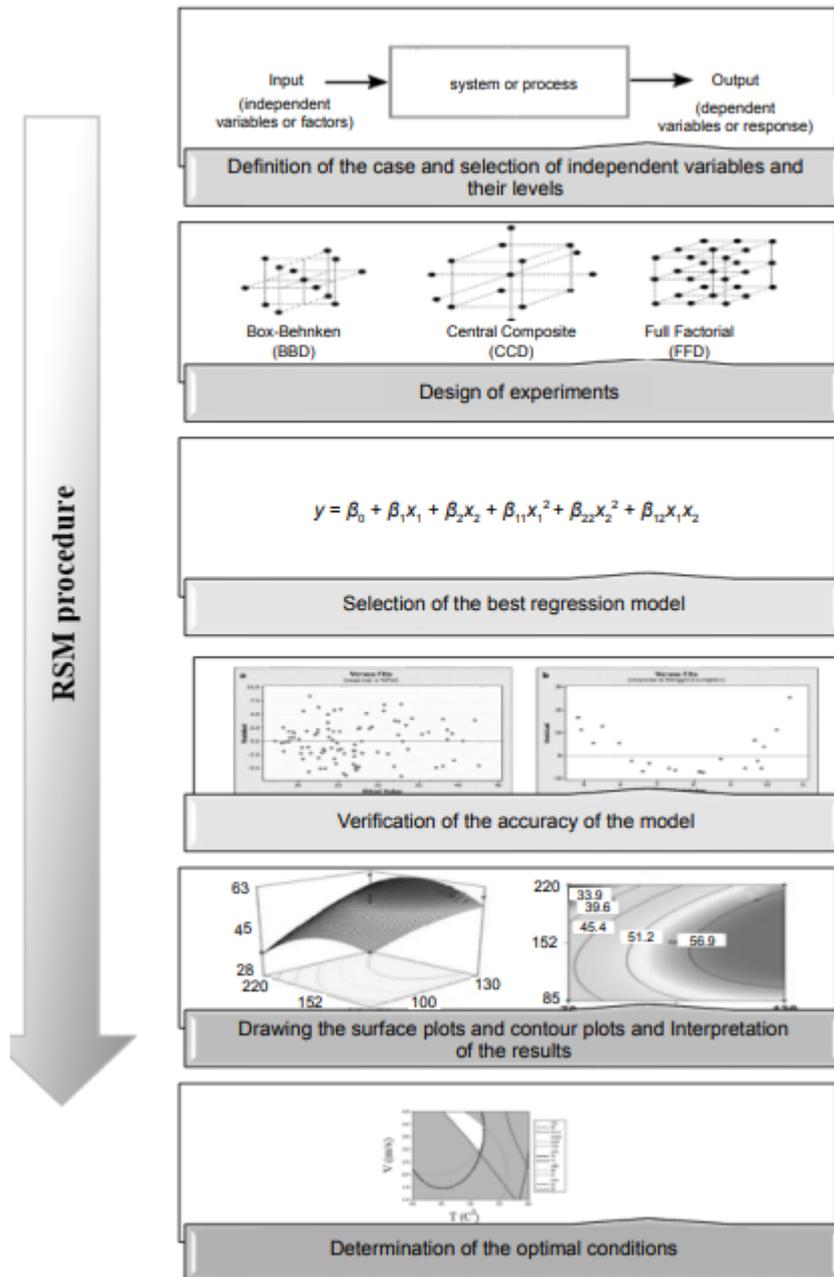


Figura 4: Procedimiento de análisis en la metodología de superficie de respuesta

Fuente: Malekjani y Jafari (2020)

La MSR actúa como un instrumento que se usa para optimizar los parámetros de procesamiento, además tiene las ventajas de menos experimentos y mayor precisión (Sablanía y Bosco 2018; Hou *et al.* 2019). Es un método apropiado para diseñar, mejorar y formular los parámetros de proceso para el desarrollo de nuevos productos y de igual manera modificar las propiedades de los productos actuales para una mejor retención de su

composición fisicoquímica, nutricional y química (Sablania y Bosco 2018). La MSR se basa en el ajuste de modelos matemáticos (funciones lineales, polinómicas cuadráticas y otros) a los resultados experimentales generados a partir del experimento diseñado y la verificación del modelo obtenido mediante técnicas estadísticas (Witek-Krowiak *et al.* 2014).

La MSR ha sido aplicada en la optimización de procesos de extracción de almidones y en su modificación para potenciar algunas de sus características iniciales. Respecto a la aplicación del MSR en procesos de extracción, Qi *et al.* (2018) optimizaron los parámetros del proceso extracción de almidón del sorgo rojo; y también, Wang *et al.* (2021) optimizaron los parámetros de extracción de almidón de kiwi con un método enzimático innovador, asistida por ultrasonido, con lo que obtuvieron un almidón que mostró un alto rendimiento y pureza. Por otra parte, en lo que respecta a la modificación de almidones para mejorar alguna característica, Mutlu *et al.* (2017) optimizaron las condiciones del procesamiento del almidón de maíz con alto contenido de amilosa en microondas, aplicado después del autoclavado, para la obtención de almidón resistente, y Olawoye *et al.* (2020) optimizaron las condiciones del proceso de esterificación con OSA de almidón de plátano cardaba para producir almidón de digestión lenta. Finalmente, Purohit y Rao (2017) optimizaron las condiciones de procesamiento de arroz generando una mejor cristalinidad de su almidón, esto aumentó la vida útil del arroz y añadió valor agregado en términos de fibra comestible con base en almidón.

2.6.1 Diseño de experimentos

Malekjani y Jafari (2020) sostienen que la selección del diseño experimental es otro paso importante en el análisis de MSR, cuyo objetivo básico es guiar al experimentador en la búsqueda de los puntos óptimos. El diseño de experimentos determina los puntos donde se debe evaluar la respuesta. Entre los diseños más utilizados en el análisis de MSR en la industria alimentaria son los diseños factoriales completos (o fraccionados) (DF), el diseño Box-Behnken (DBB), el diseño compuesto central (DCC), el diseño Plackett-Burman (DPB) y la matriz Doehlert (D).

2.6.2 Diseño Factorial (DF)

En este diseño, se consideran todas las posibles combinaciones de variables de entrada. El DF no muestra una buena eficiencia en el modelado de funciones polinomiales de segundo

o mayor orden, especialmente cuando el número de factores es mayor que 2. El DF es apropiado para obtener mucha información sobre los efectos principales en un número proporcionalmente pequeño de corridas (Malekjani y Jafari 2020). Este diseño no es apropiado para evaluar la interacción entre factores debido a su deficiencia para proporcionar esta información; sin embargo, es el diseño de experimentos más laborioso (Yolmeh y Jafari 2017). Si el número de variables de diseño aumenta, se puede utilizar una fracción de un diseño factorial completo a costa de estimar solo unas pocas combinaciones entre las variables. A esto se le llama diseño factorial fraccional y generalmente se usa para seleccionar variables de diseño importantes. Para un diseño factorial de 3^n , se puede construir una fracción $(1/3)^p$, lo que da como resultado 3^{n-p} puntos. Por ejemplo, si $p = 1$ en un diseño 3^3 , el resultado es una fracción de un tercio que se denomina diseño 3^{3-1} (Montgomery 2017).

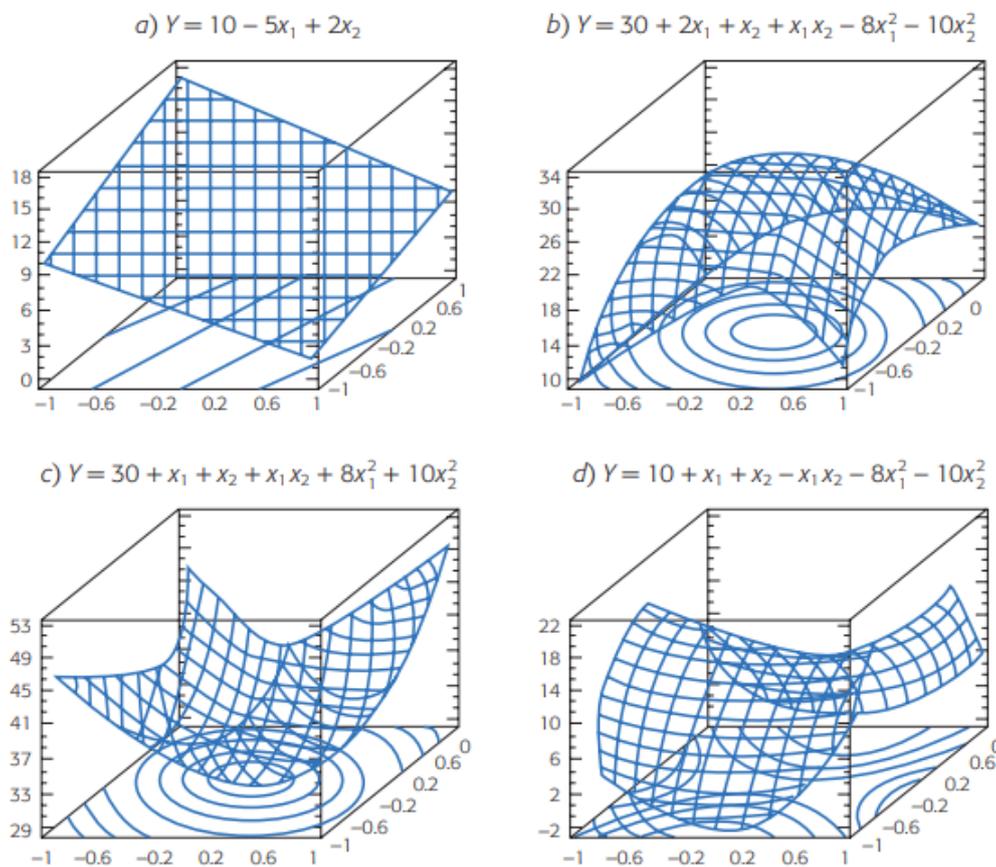


Figura 5: Superficies de respuesta: a) descrita por un modelo de primer orden; b), c) y d) descritas por modelos de segundo orden

Fuente: Gutiérrez y de la Vara (2008)

2.6.3 Selección del mejor modelo de regresión en MSR

Las ecuaciones de regresión llamadas modelos es la forma matemática de representar las superficies de respuesta (Malekjani y Jafari 2020). Estos modelos pueden ser de primer o de segundo orden dependiendo de la relación entre la respuesta (y) y las variables de entrada (x_1, x_2, \dots, x_n). Si la relación es lineal, el modelo de primer orden se adapta; caso contrario, el modelo de segundo orden puede predecir la no linealidad del sistema. El modelo de primer orden, en forma general, está representado por la ecuación (5) para k variables independientes (6):

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \varepsilon \quad (5)$$

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \dots + \beta_k x_k + \varepsilon \quad (6)$$

donde $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_k$ son los coeficientes de intersección y de regresión correspondientes a los factores x_1, x_2, \dots, x_k y ε es el error aleatorio. Este modelo produce parcelas de superficie lineales rectas. En el caso de una relación compleja entre la respuesta y los factores donde se observa la curvatura en el sistema, se aplica el modelo de segundo orden o polinomio (ecuaciones (7) y (8)). Dependiendo del tipo de interacciones entre variables, este modelo arroja parcelas en forma de mancuerna, inclinadas o torcidas. Como este modelo puede predecir términos no lineales, generalmente se prefiere al modelo de primer orden (Malekjani y Jafari 2020).

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{1 \leq i < j \leq k} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (7)$$

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \dots + \beta_{1k} x_1 x_k + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{24} x_2 x_4 + \dots + \beta_{kk} x_k^2 + \varepsilon \quad (8)$$

donde $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}$ y β_{ij} son los coeficientes que corresponden a término de intersección, lineal, cuadrática y de interacción. El modelo de segundo orden es el preferido y ampliamente utilizado en varios análisis de MSR debido a su flexibilidad, fácil estimación de los coeficientes del modelo (mediante el método de mínimos cuadrados) y la capacidad probada para resolver problemas de MSR. Es factible utilizar modelos con órdenes superiores; sin embargo, siempre se prefiere utilizar modelos con orden inferior, que arrojen un ajuste

adecuado sobre los datos experimentales. Después de seleccionar el orden del modelo, se debe realizar un análisis para determinar los coeficientes del modelo y su significancia estadística, la respuesta media y las condiciones óptimas que producen la mejor respuesta.

2.6.4 Función de deseabilidad

Para la optimización de procesos, el punto objetivo se debe determinar en el rango de los factores en estudio. En la industria alimentaria, los investigadores están interesados en la optimización de varias respuestas simultáneamente, para ello se utiliza la función deseabilidad (metodología multicriterio) (Malekjani y Jafari 2020). Gutierrez y de la Vara (2008) mencionan que este método fue propuesto en 1965 por Harrington, mejorado en 1980 por Derringer y Suich, y finalmente mejorado por Derringer en 1994.

Malekjani y Jafari (2020) señalan que el enfoque de la función de deseabilidad es uno de los métodos más utilizados en la industria para la optimización de procesos de respuesta múltiple. La función de deseabilidad realiza la optimización simultánea de múltiples respuestas de un proceso sugiriendo niveles de variables independientes que proporcionan las respuestas deseables para el producto o proceso. Esta metodología simplifica el análisis experimental al convertir un problema de optimización de respuesta múltiple en una sola respuesta que es más fácil de interpretar (Silva *et al.* 2013). Se basa en la idea de que la “calidad” de un producto o proceso que tiene múltiples características de calidad, con una de ellas fuera de algunos límites “deseados”, es completamente inaceptable. El método encuentra las condiciones operativas de X que proporcionan los valores de respuesta "más deseables". Para cada respuesta $Y_i(x)$, una función de deseabilidad $d_i(Y_i)$ asigna números entre 0 y 1 a los posibles valores de Y_i , con $d_i(Y_i) = 0$ representa un valor completamente indeseable de Y_i y $d_i(Y_i) = 1$ representa un valor de respuesta completamente deseable o ideal. Los valores de conveniencia individuales se combinan luego usando la media geométrica, lo que da la conveniencia general (D) (Malekjani y Jafari 2020).

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

La investigación se realizó en el Laboratorio asignado al Grupo de Investigación de Propiedades de Biopolímeros y Aplicaciones, en el Laboratorio de Investigación e Instrumentación y en la Planta Piloto de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), en el Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la UNALM, y en el Laboratorio de Carbohidratos del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CEPROBI) del Instituto Politécnico Nacional (Yautepec, Morelos, México).

3.2 MUESTRA

Se emplearon almidones nativos obtenidos de cultivares de papas nativas de: Imilla blanca (*Solanum tuberosum* subsp. *andigena*), Imilla negra (*Solanum tuberosum* subsp. *andigena*) y Loc'ka (*Solanum x juzepczukii*), extraídos y caracterizados por Peña (2017). En el Cuadro 1 se presentan las características importantes para este trabajo. Los frutos de palta (*Persea americana*) variedad 'Fuerte' fueron adquiridos en los campos de cultivo de un agricultor (distrito de San Mateo de Otao, provincia de Huarochirí, región Lima).

Cuadro 1: Características de los almidones nativos obtenidos de cultivares de papas nativas de Ilave (Puno)

Parámetro	Imilla blanca (IB)	Imilla negra (IN)	Loc'ka (LK)
Amilosa aparente (%)	28,20 ± 0,88	30,00 ± 0,69	24,90 ± 0,19
T _o (°C)	59,48 ± 0,04	58,09 ± 0,06	56,77 ± 0,05
T _p (°C)	63,08 ± 0,13	62,40 ± 0,11	60,20 ± 0,12
T _c (°C)	69,24 ± 0,04	69,49 ± 0,07	66,31 ± 0,23
ΔH (J/kg)	15,76 ± 0,07	15,81 ± 0,08	15,55 ± 0,30
σ ₀ (Pa)	0,60 ± 0,29	1,10 ± 0,66	1,24 ± 0,41
k (Pa·s ⁿ)	34,04 ± 3,59	43,16 ± 2,94	34,59 ± 0,32
n	0,34 ± 0,04	0,32 ± 0,02	0,32 ± 0,02

Fuente: Peña (2017)

3.3 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

3.3.1 Equipos

- Agitador magnético (HEIDOLPH, modelo MR Hei-Tec., Alemania)
- Agitador Vortex (VELP®, modelo Wizard, Scientific, U.S.A.)
- Analizador de tamaño de partícula (Malvern Instruments Ltd., modelo Mastersizer 3000, Reino Unido)
- Analizador de imágenes dinámicas para tamaño de partícula (Micromeritics® Instrument Corp., modelo Particle Insight, Norcross, U.S.A.)
- Atomizador (BÜCHI, modelo B-290, Alemania)
- Balanza analítica (OHAUS®, modelo Explorer, U.S.A.)
- Baño de agua con agitación (GFL, modelo 1083, Alemania)
- Baño de ultrasonido (VWR International, modelo Symphony™, China)
- Baño de ultrasonido (BANDELIN electronic GmbH & Co., modelo Sonorex Digiplus, Alemania)
- Bomba de vacío (VACUUBRAND GMBH + CO, Alemania)
- Centrífuga (Eppendorf, modelo 5804-R, Alemania)
- Cortadora (Hover, Perú)
- Difractómetro de rayos X (Rigaku Corporation, modelo Ultima IV, U.S.A.)
- Espectrocolorímetro (KONICA MINOLTA, modelo CM-5, Japón)
- Espectrofotómetro (Thermo Fisher SCIENTIFIC®, modelo GENESYS 10S UV-Vis, U.S.A.)
- Espectrofotómetro infrarrojo (Bruker Optik GmbH, modelo Vertex 70, Alemania)
- Estufa de aire caliente (MMM, modelo Venticell55, Alemania)
- Evaporador giratorio (Heidolph, modelo HEI VAP, Alemania)
- Homogeneizador de ultrasonido (Hielscher Ultrasonics GmbH, modelo UP200ST, Alemania)
- Evaporador® (IKA®, modelo T25, Alemania)
- Liofilizador (Labconco Corp., modelo Freezone 2.5, Kansas, MO, U.S.A.)
- Medidor de actividad de agua (Decagon devices Inc. WA, modelo Aqualab 4TE, USA)
- Microscopio óptico (Nikon Corporation, modelo Eclipse 80i, Japón)
- Microscopio de Barrido Electrónico (Carl Zeiss, modelo EVO LS10, Alemania)
- Molino de cuchillas (Retsch, modelo R 30, Alemania)

- Multicalorímetro Diferencial de Barrido con celdas de acero inoxidable Hastelloy® (TA Instruments, modelo Multi-Cell DSC, U.S.A.)
- Planta piloto polivalente de concentración discontinua (Electronica Venetta, modelo CB/EV, Italia)
- Potenciómetro (SI Analytics, modelo Lab850, Alemania)
- Reómetro híbrido con celda Peltier y geometría cross-hatched 40 mm de diámetro, y celda de formación de pasta de almidón (SPC) y geometría tipo rotor (TA Instruments, modelo DHR-3, U.S.A.)
- Refrigeradora-Congeladora (BOSCH, modelo KAD62V401, China)
- Secador de bandejas (RETER, modelo DRR-200, Perú)
- Sistema cromatográfico AF4-MALLS-RID: AF4 (Wyatt Technology Corporation, Santa Barbara, USA) con una membrana de 10 kDa, acoplado a un multiangle laser light scattering-MALLS (Dawn Heleos 8, Wyatt Technology Corporation, Santa Barbara, USA) y un detector de índice de refracción (1100 Generic RI, Agilent Technologies, Santa Clara CA, U.S.A.)
- Sistema cromatográfico HPAEC-PAD: Cromatógrafo líquido de alta resolución de intercambio iónico acoplado a un detector de pulsos amperométricos (Dionex ICS 5000) equipado con automuestreador (Dionex AS-AP, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, U.S.A.), una columna CarboPac PA200 (3 × 250 mm) y guarda columna CarboPac PA200 (3 × 50 mm)

3.3.2 Materiales

- Material de vidrio (matraces, vasos de precipitados, probetas graduadas, pipetas graduadas, baguetas, tubos de ensayo, fiolas, placas Petri, etc.)
- Micropipetas de 20-200 µl, 100-1000 µl, 1000-5000 µl y 5000-10000 µl (Eppendorf™, Alemania)
- Otros: puntas para micropipetas, campanas desecadoras, soporte universal, tubos Falcon, tubos Eppendorf, gradillas para tubos, papel aluminio, papel tissue, parafilm, tenazas y pinzas de metal.

3.3.3 Reactivos

- ABTS+ (2, 2' Azino-bis 3 ethylbenzthializone-6-sulfonic acid diamonium salt 98 por ciento) (Sigma Aldrich®, U.S.A.)

- Acetato de sodio (Merck®, Alemania)
- Ácido acético glacial (Merck®, Alemania)
- Ácido bórico (Merck®, Alemania)
- Ácido cítrico anhidro (Sigma Aldrich®, U.S.A.)
- Ácido clorhídrico fumante (Merck®, Alemania)
- Ácido gálico 97,5-102,5 por ciento (Sigma Aldrich®, U.S.A.)
- Amilopectina de papa purificada (Sigma Aldrich®, U.S.A.)
- Amilosa purificada, tipo III de papa (Sigma Aldrich®, U.S.A.)
- Anhídrido octenil succínico (Sigma Aldrich®, U.S.A.)
- Carbonato de potasio (Mallinckrodt Baker Inc., U.S.A.)
- Carbonato de sodio (Fermont, México)
- Cloruro de sodio (Merck®, Alemania)
- Cloruro de aluminio (Merck®, Alemania)
- Dimetilsulfóxido (Sigma-Aldrich®, Francia)
- Etanol 99.5 por ciento grado ACS (Sigma Aldrich®, U.S.A.)
- Folin Ciocalteau 2N (Sigma Aldrich®, U.S.A.)
- Hidróxido de potasio (Merck®, Alemania)
- Hidróxido de sodio (NaOH, Merck®, Alemania)
- Indicador Murexida (Merck®, Alemania)
- Ioduro de potasio, tiosulfato de sodio (Merck®, Alemania)
- Iodo resublimado (I₂) (Fermont, México)
- Kit de almidón total (K-TSTA-100A) (Megazyme International Ltd., Wicklow, Ireland)
- Maltodextrina DE 10 (Ingredion, México)
- Metanol 99.99 por ciento grado ACS (Sigma Aldrich®, U.S.A.)
- Metanol grado HPLC (Sigma Aldrich®, U.S.A.)
- Persulfato de potasio (Mallinckrodt Baker Inc., U.S.A.)
- Sulfato cúprico pentahidratado (Merck®, Alemania)
- Sulfato de sodio (Na₂SO₃, Merck®, Alemania)
- Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethyl chroman-2-carboxylic acid) (Sigma Aldrich®, U.S.A.)

3.4 MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1 Almidones nativos y modificados

a. Humedad

La humedad de los almidones se determinó en una estufa de circulación de aire a 105 °C según el método AOAC (2005) N ° 926.12. Los valores se expresaron como g de agua por 100 g de polvo.

b. Almidón total (Pureza)

La pureza de los almidones nativos se determinó mediante el tratamiento del almidón con KOH 1 M, e hidrólisis enzimática con una mezcla de α -amilasa y amiloglucosidasa termoestable; se empleó el kit de almidón total (K-TSTA-100A) de Megazyme International (2017).

c. Microscopía óptica y de luz polarizada

Cada muestra de almidón se colocó directamente en una lámina portaobjeto de microscopio, se mezcló con una gota de agua destilada, y se fijó para deslizar con una lámina cubreobjeto. Los gránulos de almidón se observaron en el microscopio óptico de luz y luz polarizada con un objetivo de 20 \times (Lopez-Silva *et al.* 2019).

d. Microscopía electrónica de barrido (MEB)

La superficie de los gránulos de almidón se observó mediante las micrografías capturadas con el microscopio electrónico de barrido. Las muestras de almidones nativos y modificados se fijaron en una cinta de carbón, que fueron colocadas en cada celda del microscopio. Se utilizó la lámpara de hexabromuro de lantano a una potencia de 15 a 20 kV de voltaje de aceleración de electrones, obteniendo las imágenes a 1000 \times de aumento (Lopez-Silva *et al.* 2019).

e. Distribución del tamaño de los gránulos de almidón

La distribución del tamaño de partícula se determinó por difracción de rayos láser con el analizador de tamaño de partícula Mastersizer 3000 (Lopez-Silva *et al.* 2019). Cada muestra de almidón fue colocada en el equipo y se adicionó agua (coeficiente de refracción 1,33) como agente dispersante para todas las mediciones y los tamaños fueron registrados entre 0,02 y 1000 μ m. La distribución de tamaño de los gránulos de los almidones se realizó mediante el porcentaje de volumen ocupado por los gránulos de almidón (equivalente a una

esfera). Los resultados se expresaron en porcentaje de volumen (%), y se calcularon D_{10} , D_{50} y D_{90} que representan el diámetro de partícula para el que el volumen acumulado de partículas es 10 por ciento, 50 por ciento y 90 por ciento, respectivamente. Además, se calculó el *span* que mide el índice de dispersión de la distribución.

f. Distribución del tamaño de cadenas de amilopectina

La distribución de tamaños de cadena de amilopectina de los almidones desramificados por isoamilasa fue determinada por cromatografía de intercambio iónico de alta resolución acoplada a un detector de pulsos amperométricos (HPAEC-PAD) Dionex ICS 5000 equipado con automuestreador Dionex AS-AP (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA), utilizando una columna CarboPac PA200 (3 × 250 mm) y una guarda columna CarboPac PA200 (3 × 50 mm) según el método reportado por Hoyos-Leyva *et al.* (2017). La muestra se preparó según el método reportado por Chávez-Murillo *et al.* (2008). Se pesó 10 mg de almidón y se añadió 3,2 mL de agua desionizada, la mezcla fue calentada en un baño de agua hirviendo con agitación por 1 h. Después se enfrió a temperatura ambiente y se adicionó 0,4 mL de 0,1 M de buffer acetato a pH 3,5 y 5 mL de isoamilasa (EC 3.2.1.68) (59000 U/mg Hayashibara Biochemical Laboratories, Okayama, Japón). La mezcla fue incubada a 40 °C por 4 h en un baño de agua con agitación. Luego, la enzima fue inactivada por neutralización con 0,21 mL de 0,2 M de NaOH y el calentamiento de la muestra en un baño de agua hirviendo por 15 min. Posteriormente, la muestra fue enfriada por 5 min y filtrada a través de un filtro de jeringa 0,45 mm de tamaño de poro y 0,6 mL del filtrado fue transferido al automuestreador para la inyección. El potencial y los periodos de tiempo para la detección de pulsos amperométricos fueron: E_1 , +0,10 V por 0,4 s; E_2 , -2,0 V por 0,02 s; E_3 , +0,60 V por 0,01 s; E_4 , -0,10 V por 0,07 s. Dos eluyentes fueron usados como fase móvil: eluyente A (150 mM de hidróxido de sodio) y eluyente B (150 mM de hidróxido de sodio conteniendo 500 mM de acetato de sodio). El flujo fue de 0,5 mL/min y el gradiente de los eluyentes fue: 95 por ciento de eluyente A por 5 min, 60 por ciento a 18 min, 15 por ciento a 55 min y 95 por ciento a 75 min. Los datos fueron procesados con el software Chromeleon v. 6.80 SR11 (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, U.S.A.).

g. Determinación del peso molecular

Se pesó 0,5 g de almidón, se agregó 20 mL de DMSO al 95 por ciento y se agitó constantemente durante 4 días a 4 °C. Luego se preparó 180 mL de etanol al 95 por ciento a 4 °C, lo que se agregó lentamente a la solución de almidón, se continuó con la agitación por

5 min, y se almacenó a temperatura ambiente durante la noche. Se centrifugó a 13 000 rpm por 10 min, se eliminó el sobrenadante y el sedimento se resuspendió en 60 mL de etanol. Posteriormente se centrifugó nuevamente y esta operación se repitió tres veces; y finalmente, se lavó con etanol, acetona (dos veces) y éter etílico. El residuo obtenido se secó a temperatura ambiente y se guardó en un recipiente hermético. Para el análisis de peso molecular y radio de giro de las moléculas de amilosa y amilopectina se utilizó el sistema cromatográfico AF4 (Wyatt Technology Corporation, Santa Barbara, USA) acoplado a un sistema de dispersión de luz láser multiángulo - MALLS (Dawn Heleos 8, Wyatt Technology Corporation, Santa Barbara, USA) y el detector de índice de refracción - RID (1100 Generic RI, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). La velocidad de flujo fue 1 mL/min para el detector, 1 min de tiempo de inyección y 32 min de elución. El eluyente fue agua grado HPLC con 0,02 por ciento de azida de sodio. El peso molecular promedio (Mw) y radio de giro (Rz) fueron calculados usando el *software* ASTRA[®] Version 5.3.1.5 (Wyatt Technology Corporation, Santa Barbara, USA), también se empleó el método de Berry de segundo orden polinomial (Hoyos-Leyva *et al.* 2017).

h. Cristalinidad

Los almidones fueron acondicionados por 5 días en una campana desecadora conteniendo una solución saturada de sulfato de potasio. Se registraron los patrones de difracción de rayos X de los almidones empleando un difractómetro con detector D/tex ultra, que operó a 35 kV y 15 mA, con una longitud de onda de radiación CuK α de 0,15406 nm según la metodología reportada por Lopez-Silva *et al.* (2019) con ligeras modificaciones. Las intensidades se midieron en el intervalo de 3° a 37° en una escala de 2 θ con un paso de 0,02°. La cristalinidad relativa (porcentaje) se determinó a partir del difractograma mediante el cálculo del área correspondiente al pico cristalino, área total y ruido instrumental.

i. Espectroscopía en la región infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

La medición del espectro de absorción en el infrarrojo se llevó a cabo en un espectrómetro infrarrojo (Vertex 70, Bruker Optik GmbH, Alemania) utilizando un detector telurio cadmio mercurio y un divisor de haz de KBr provisto del accesorio de atenuador de reflectancia (ATR) con un cristal de diamante y un ángulo de incidencia de 45° (Lopez-Silva *et al.* 2019). Brevemente, los almidones fueron colocados en el equipo y se registraron los espectros usando 50 escaneos a una resolución espectral de 1 cm⁻¹ sobre la región de 4 000 a 400 cm⁻¹ de número de onda. Se empleó el *software* OPUS 7.0 para realizar el análisis. El orden

molecular de corto alcance de los almidones se determinó empleando las absorbancias a 1047 cm^{-1} , 1022 cm^{-1} y 995 cm^{-1} de números de onda, y se relacionaron para obtener las razones R_1 (Abs_{1047}/Abs_{1022}) y R_2 (Abs_{995}/Abs_{1022}).

j. Propiedades de formación de pasta

Las propiedades de formación de pasta (temperatura inicial de formación de pasta, viscosidad máxima, viscosidad de descomposición, viscosidad final y viscosidad de retroceso) de los almidones nativos y modificados se determinaron empleando el reómetro híbrido (Discovery HR-3, TA Instruments, New Castle, DE, EE. UU.) con la geometría *starch pasting cell* (SPC acrónimo en inglés, celda para pasta de almidón) y una paleta. Se siguió el método de Bello-Flores *et al.* (2014) con modificaciones. Brevemente, se preparó una suspensión de almidón al 8 por ciento (p/p, base seca) y se equilibró a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $105,24\text{ rad/s}$ durante 2 min; para el resto del análisis se realizó una agitación constante de $16,75\text{ rad/s}$. Luego se calentó hasta $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $6\text{ }^{\circ}\text{C/min}$, se mantuvo a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 min, se enfrió hasta $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $6\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ en 6,4 min y finalmente se mantuvo a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 min. Todas las muestras se analizaron por duplicado.

k. Contenido de amilosa aparente

Para la determinación de la proporción de amilosa y amilopectina se siguió el método descrito por Hoover y Ratnayake (2001) con algunas modificaciones. Brevemente, 20 mg de almidón (base seca) se colocaron en un tubo de ensayo de 15 mL y se adicionaron 8 mL de dimetilsulfóxido hasta su disolución empleando un baño de agua con agitación a $85 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. Esta solución se colocó en una fiola de 50 mL y se aforó con agua destilada. De esta disolución se tomaron 50 μL que se colocaron en una fiola de 50 mL, se añadió 5 mL de solución de I_2 (0.0025 M)-KI (0.0065 M), se aforó con agua destilada y se agitó. De esta solución se extrae una muestra y se lleva al espectrofotómetro para medir su absorbancia a 600 nm. Previamente, se elabora la curva estándar con lecturas de absorbancia de mezclas de amilosa y amilopectina puras de papa, y con contenido de amilosa de 0, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 % en peso.

l. Determinación del grado de sustitución (GS) del almidón esterificado con OSA

La sustitución de los grupos OSA se determinó utilizando el método propuesto por Timgren *et al.* (2013). Los almidones modificados (1,25 g peso seco) se dispersaron en 12,5 mL de HCl 0.1 M y se agitó durante 30 min. La suspensión se centrifugó a 4000 g durante 10 min

a 10 °C, se lavó una vez con 12,5 mL de etanol (90 por ciento) y dos veces con agua destilada. Después, el almidón se suspendió en 75 mL de agua, y se colocó en un baño de agua hirviendo durante 10 min, luego se enfrió a temperatura ambiente. La suspensión de almidón se tituló con NaOH 0,1 M hasta pH 8,3; y también se tituló un blanco usando el almidón de papa nativo de la misma variedad del almidón OSA. El GS de los almidones modificados fue calculado mediante la ecuación (9):

$$GS = \frac{0.162 * (A * M) / W}{1 - \left[\frac{0.210 * A * M}{W} \right]} \quad (9)$$

donde A es el volumen (mL) de NaOH 0,1 M gastado en la titulación, M es la molaridad de la solución de NaOH, y W es el peso (g) del almidón en base seca. La eficiencia de reacción (ER) se calculó con la ecuación (10):

$$ER = \frac{GS \text{ actual}}{GS \text{ teórico}} * 100 \quad (10)$$

donde el GS teórico fue calculado suponiendo que la totalidad del reactivo OSA añadido reaccionó con el almidón para formar el almidón esterificado.

m. Parámetros de color

Los parámetros de color del espacio CIELAB (L^* , a^* , b^*) de los almidones modificados se determinaron usando el espectrocolorímetro calibrado con un blanco (patrón) (Falade *et al.* 2015). Las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados obtenidos de: luminosidad (L^*), enrojecimiento (a^*) y amarillamiento (b^*) se utilizaron para calcular la blancura (W) según la ecuación (11):

$$W (\%) = 100 - [(100 - L^*)^2 + ((a^*)^2 + (b^*)^2)]^{0,5} \quad (11)$$

n. Propiedades térmicas

Las propiedades térmicas de los almidones modificados se determinaron mediante el calorímetro diferencial de barrido (MCDSC, TA Instruments, USA) de acuerdo con el método descrito por Mei *et al.* (2015) con ligeras modificaciones. Se mezclaron en la celda, aproximadamente 20 mg de almidón modificado con 60 μ L de agua ultrapura y se cerró herméticamente. Luego, las celdas con muestra y la celda vacía (referencia) se equilibraron durante 1 h a temperatura ambiente. Después, las celdas se calentaron desde 25 °C a 130 °C

a una velocidad de 2 °C/min. Se calcularon la temperatura de inicio (T_o), la temperatura pico (T_p), la temperatura de conclusión (T_c) y la entalpía de gelatinización (ΔH).

o. Propiedades reológicas

Para los almidones esterificados con OSA

Para determinar las propiedades reológicas se empleó el reómetro híbrido y se empleó el *software* Trios v.4.4.1 (TA Instruments) para el análisis de datos. En los ensayos de comportamiento al flujo y de viscoelasticidad se empleó la geometría tipo plato de acero inoxidable con textura estriada (diámetro 40 mm) con una separación entre placas (*gap*) de 1 mm. Se preparó una suspensión de almidón (4 por ciento, p/v en base seca), la cual se llevó a un baño de agua a 95 °C durante 30 min con agitación constante; finalmente el gel se enfrió hasta 25 °C (Martínez *et al.* 2015). Los análisis se realizaron por duplicado.

- Comportamiento al flujo

Se realizaron mediciones reológicas de comportamiento al flujo para los geles de almidón esterificados con OSA según la metodología reportada por Augusto *et al.* (2012). Los experimentos de cizallamiento en estado estacionario se llevaron a cabo en el rango de velocidad de cizallamiento de 0,01 a 100 s⁻¹. Después del reposo, las muestras se sometieron a cizallamiento a 300 s⁻¹ durante 5 min para evitar cualquier tixotropía (datos no mostrados). Luego, se utilizó un protocolo escalonado decreciente logarítmico (100–0,01 s⁻¹) para garantizar la condición de estado estacionario. El comportamiento del flujo de los geles de almidón se modeló utilizando el modelo de ley de potencia (Ec. (12)) y el modelo de Herschel-Bulkley (Ec. (13)).

$$\tau = k \gamma^n \quad (12)$$

$$\tau = \tau_0 + k \gamma^n \quad (13)$$

donde, τ , esfuerzo de corte (Pa); τ_0 , umbral de fluencia (Pa); γ , velocidad de corte (s⁻¹); k, índice de consistencia (Pa sⁿ); n, el índice de comportamiento de flujo (adimensional).

- Viscoelasticidad

Las pruebas de cizallamiento dinámico se realizaron para comprender el comportamiento viscoelástico de los geles de almidón. Se llevó a cabo un barrido de tensión (amplitud) de 0,1 a 100 Pa para seleccionar el rango viscoelástico lineal a una frecuencia constante (1 Hz)

(Martínez *et al.* 2015). Luego, se llevaron a cabo las mediciones de barrido de frecuencia a 1 Pa, valor de esfuerzo cortante dentro del rango viscoelástico lineal, en un rango de frecuencia de 0,01 a 100 Hz. Los espectros mecánicos se obtuvieron registrando el módulo de almacenamiento (G'), el módulo de pérdida (G'') y el factor de pérdida ($\tan(G''/G')$) en función de la frecuencia (ω). Para describir el comportamiento viscoelástico de los geles de almidón, la dependencia de frecuencia (ω) de G' y G'' se ajustó al modelo de ley de potencia (Ec. (14) y Ec. (15)):

$$G' = k' \omega' \quad (14)$$

$$G'' = k'' \omega'' \quad (15)$$

Para el almidón esterificado con ácido cítrico

Se empleó el método de reportado por Herrera y Vasanthan (2018) con algunas modificaciones. Se preparó la suspensión de almidón citrato (4 por ciento, p/v en base seca) con agua destilada mediante la homogeneización con el *rotor-stator* a 10 000 rpm durante 10 min. Luego, aproximadamente 2 mL de la suspensión se colocó sobre el plato Peltier del reómetro para las mediciones reológicas.

- Comportamiento al flujo

Para este análisis se usó la geometría cono y plato de aluminio (2°0'40'') (diámetro de 60 mm) con una separación entre la placa Peltier y el cono (*gap*) de 53 μm . El cizallamiento se realizó en el rango de 0,01 a 100 s^{-1} , y luego a 300 s^{-1} durante 5 min para evitar cualquier tixotropía (datos no mostrados). Finalmente, se realizó el cizallamiento en un proceso decreciente (100–0,01 s^{-1}) para garantizar la condición de estado estacionario. Para describir la variación en las propiedades reológicas de las muestras bajo cizallamiento constante, los datos se ajustaron al modelo de ley de Newton (Ec. (16)).

$$\tau = \mu \gamma \quad (16)$$

- Viscoelasticidad

Las pruebas de cizallamiento dinámico se realizaron siguiendo la metodología descrita anteriormente. Sin embargo, el barrido de tensión (amplitud) se realizó entre 0,001 a 1 Pa para seleccionar el RVL a una frecuencia constante (1 Hz) (Martínez *et al.* 2015).

Para las suspensiones formadoras de micropartículas

La suspensión formadora de micropartículas se preparó mezclando el almidón citrato óptimo y el extracto concentrado de semilla de palta (20 por ciento de sólidos totales). La homogeneización se realizó con el agitador electromagnético a 500 rpm durante 30 min. Luego, aproximadamente 2 mL de la suspensión se colocó sobre el plato Peltier del reómetro para realizar el análisis de comportamiento al flujo (descrito anteriormente).

p. Determinación del grado de sustitución (GS) del almidón citrato

La cantidad de ácido cítrico esterificado al almidón se analizó mediante el método de Klaushofer *et al.* (1979). A 450 mg de almidón esterificado (base seca) se agregaron 2 mL de agua desionizada, después se mezclan con 50 mL de KOH 1 M y se dejan en un baño con agua en ebullición durante 10 min. Enfriar a temperatura ambiente y ajustar pH a 8,5 con ácido acético 3 M. De una solución de borato de sodio (50X, 20 g de hidróxido de sodio y 120 g de ácido bórico, aforar a 1 L, y a partir de esta solución se preparó la solución 1X (1000 mL) agregando 10 mL de la solución de borato 50X, y se afora a 500 mL. De la solución 1X, se tomaron 25 mL y se mezclaron con 0,3 g de indicador de Muréxida (muréxida:sulfato de sodio, 0,2 g:100 g). La mezcla gelatinizada del almidón esterificado con KOH se vertió en un matraz conteniendo 0,3 g del indicador de Muréxida disuelto en la solución 1X de borato, se afora a 300 mL con agua desionizada y se hace la titulación con sulfato cúprico pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0,05 M hasta que el color rojo-violeta del indicador desaparece y viró a amarillo. Se emplearon las Ec. (17) y Ec. (18) para el cálculo del GS en el almidón citrato.

$$A\% = \frac{(V_0 - V_1) \times N \times 0.1741 \times 100}{W} \quad (17)$$

$$GS = \frac{162 \times A}{15800 - 156 \times A} \quad (18)$$

donde A es la fracción de masa de los sustituyentes de ácido cítrico (porcentaje), M es la molaridad de la solución de HCl, W es la cantidad (g) del almidón, V_1 es el volumen de HCl requerido para la valoración de la muestra de almidón CT, V_0 es el volumen de HCl requerido para la titulación de la muestra de control.

q. Solubilidad

Se siguió el método reportado por Alimi *et al.* (2016) con ligeras modificaciones. Se pesó 0,5 g de almidón esterificado con ácido cítrico en un tubo de centrífuga y se agregó 30 mL de agua destilada, la suspensión fue homogenizada en un agitador vortex por 2 min, y se calentó en baño maría a 90 °C por 30 min, agitando cada 10 min en el vortex. El producto obtenido se enfrió y fue centrifugado a 4200 rpm por 15 min. El sobrenadante se transfirió a una placa Petri, la que se llevó a una estufa a 110 °C por 4 h. El almidón solubilizado en el agua fue el remanente obtenido después del secado del sobrenadante. La solubilidad se expresó como gramos por 100 g de almidón.

3.4.2 Extracto de semilla de palta

a. Contenido de fenólicos totales

Se empleó el método de Singleton y Rossi (1965) con modificaciones. Brevemente, se mezclaron 200 µL de extracto con 1 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (1 N) y 0,8 mL de Na₂CO₃ al 7,5 por ciento. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 30 min. La absorbancia se midió a 760 nm y los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico (AGE) por gramo de extracto (peso seco).

b. Capacidad antioxidante

El ensayo ABTS según el método de Arnao *et al.* (2003) con ligeras modificaciones. La solución madre se preparó mezclando cantidades iguales de una solución de ABTS 7,4 mM y de una solución de persulfato de potasio 2,6 mM; esta mezcla se dejó reaccionar durante 12 h a temperatura ambiente y en oscuridad. La solución se diluyó mezclando 1 mL de solución ABTS con 60 mL de metanol para obtener una absorbancia de $1,1 \pm 0,02$ unidades a 734 nm. Los extractos (150 µL) se mezclaron con 2850 µL de la solución de ABTS y se dejaron reaccionar a 20 °C hasta que se alcance una absorbancia constante. Se utilizó metanol como blanco y la disminución de la absorbancia debida a los antioxidantes se registró a 734 nm. La actividad antioxidante se calculó como mol de equivalentes de Trolox (TE) por g de muestra seca a partir de una curva estándar desarrollada con Trolox.

c. Color del extracto

El color de la harina y del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC) se midieron utilizando el espectrocolorímetro. Se determinaron los parámetros de color del espacio CIELAB (L*, a* y b*) según Calderón-Oliver *et al.* (2016).

d. pH

El pH del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC) se midió utilizando el potenciómetro realizando tres mediciones según Cai *et al.* (2022).

3.4.3 Selección del almidón esterificado para la microencapsulación del ESPC por microscopía óptica

Las micropartículas obtenidas con cada suspensión de almidón esterificado (OSA, US-OSA, LKC) y el ESPC se colocaron directamente en una lámina portaobjeto de microscopio, se mezcló con una gota de alcohol isopropílico, y se fijó para deslizar con una lámina cubreobjeto. Las micropartículas formadas se observaron en el microscopio óptico de luz con un objetivo de 40×. Se tomó como patrón las micropartículas formadas con maltodextrina (MD).

3.4.4 Caracterización de las micropartículas

a. Humedad

La determinación de la humedad de micropartículas se realizó según lo descrito en 3.4.1 (a).

b. Actividad de agua

La actividad de agua (a_w) de las micropartículas fue determinada en el medidor de actividad de agua a $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (Andrade *et al.* 2018).

c. Eficiencia de encapsulación

La eficiencia de encapsulación fue determinada utilizando el contenido compuestos fenólicos totales en el centro (FTC) y el contenido de compuestos fenólicos totales en la superficie (FTS) en las micropartículas de acuerdo con el método propuesto por Robert *et al.* (2015). Para la determinación de FTC, se pesó 100 mg de micropartículas que se dispersó en 1 mL de solución de acetonitrilo, metanol, y ácido acético (50:8:42, v/v/v). Esta suspensión se agitó en un agitador vortex durante 1 min, se sometió a baño de ultrasonido dos veces durante 20 min, se filtró con papel Whatman N° 1, y luego se usó el filtro Millipore de 0,45 mm. El contenido de fenólicos totales se cuantificó mediante el método descrito en 3.4.2 (a). Respecto a FTS se pesó 100 mg micropartículas y se dispersó con 1 mL de etanol:metanol (1:1). La suspensión se agitó en un agitador vortex a temperatura ambiente durante 1 min y luego se filtró con papel de filtro, y finalmente se usó el filtro Millipore de 0,45 μm . El contenido de fenólicos totales se cuantificó mediante el método descrito en la

Sección 3.4.2 (a). La eficiencia de encapsulación (EE) para fenólicos totales se calculó de acuerdo con la siguiente Ec. (19):

$$EE (\%) = \frac{FTC-FTS}{FTC} \times 100 \quad (19)$$

donde FTC es el contenido de compuestos fenólicos totales en el centro de las microcápsulas y FTS es contenido de compuestos fenólicos totales en la superficie de las microcápsulas.

d. Parámetros de color

La determinación de los parámetros de color se realizó según lo descrito en 3.4.1 (m).

e. Morfología de las micropartículas

La morfología de las micropartículas se evaluó utilizando el modo de alto vacío. Las muestras se fijaron a una cinta conductora de doble pegamento. El análisis se realizó a 20 kV de voltaje de aceleración de electrones, y con 1500× de aumento (Valente *et al.* 2019).

f. Higroscopicidad

La higroscopicidad se determinó según el método de Cai y Corke (2000) con ligeras modificaciones. Aproximadamente 1 g de muestra (micropartículas) se colocó en placa Petri dentro de un desecador a 25 °C con solución saturada de NaCl (76 por ciento de humedad relativa). Las placas se pesaron cuando se alcanzó el equilibrio. La higroscopicidad se expresó como g de agua por g de sólidos secos.

g. Distribución de tamaño de micropartículas

Este análisis se realizó con el analizador de difracción de rayos láser según Rocha *et al.* (2019) con menores modificaciones. Las micropartículas fueron colocadas dispersadas con alcohol isopropílico, y el tamaño de las micropartículas fueron registrados de 0,02 a 1000 μm.

3.5 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

La investigación se realizó en tres etapas, tal como se presenta en la Figura 6. La primera etapa consistió en la caracterización morfológica y estructural de los almidones nativos obtenidos de papas nativas de los cultivares: IB, IN y LK. En la segunda etapa se modificaron los almidones nativos con OSA y ácido cítrico (AC), y luego se caracterizaron. La

modificación con OSA se realizó por el método convencional y con pretratamiento con ultrasonido; mientras que, para la modificación con AC se realizó con el almidón LK empleando un proceso de optimización con MSR. El almidón LK fue seleccionado debido a sus características morfológicas y estructurales, pues presentó la menor viscosidad y la distribución de tamaño de partícula más uniforme. En la tercera etapa, se obtuvo el extracto acuoso de semilla de palta concentrado (ESPC) y se caracterizó, luego los almidones modificados fueron evaluados como material de pared para seleccionar el almidón idóneo para la microencapsulación del ESPC; finalmente, el ESPC fue microencapsulado con el almidón seleccionado y las micropartículas fueron caracterizadas.

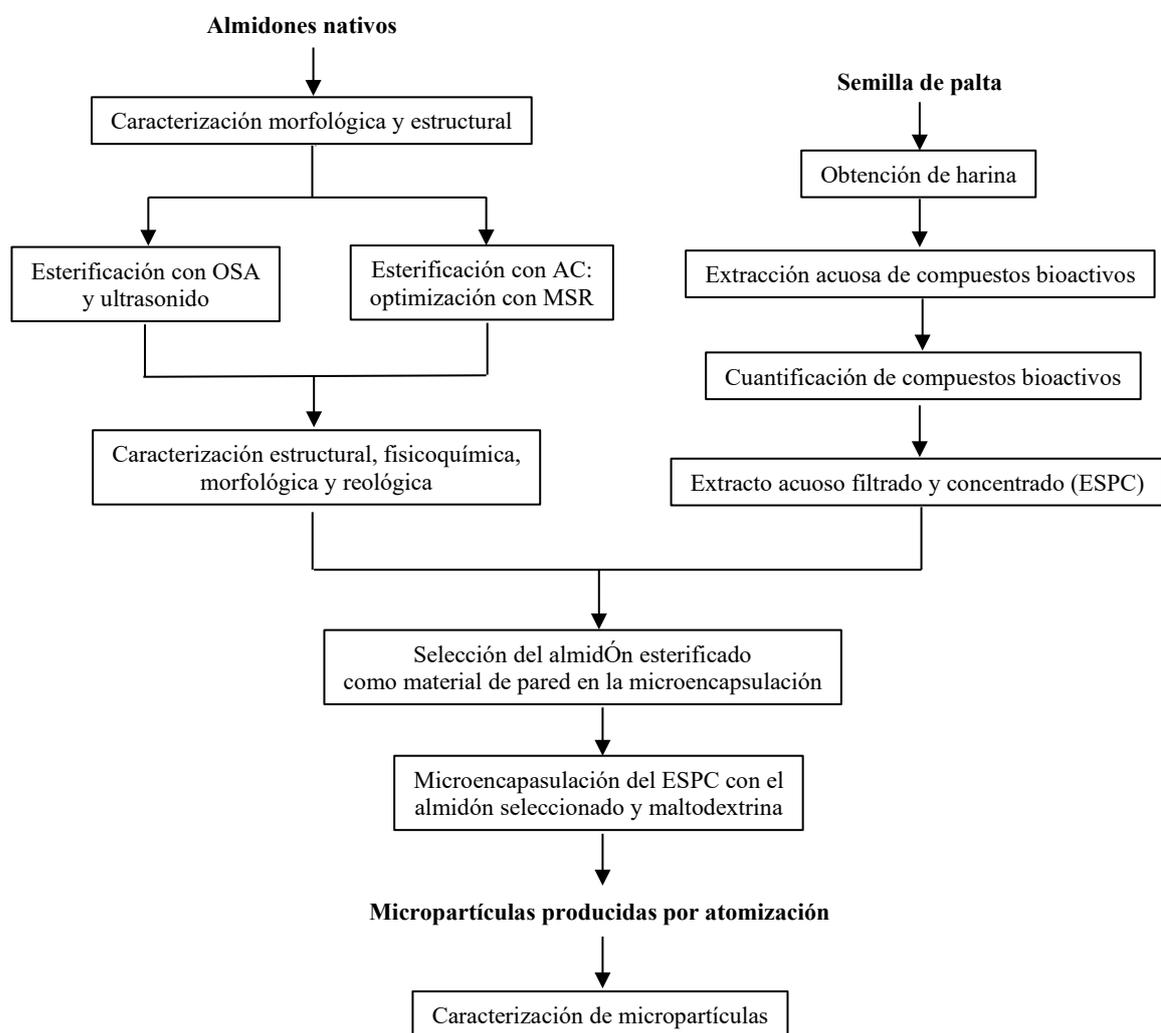


Figura 6: Esquema experimental de la investigación

3.5.1 Caracterización de los almidones nativos

Los almidones nativos fueron caracterizados funcional, morfológica y estructuralmente de acuerdo con los métodos de análisis detallados anteriormente (Sección 3.4.1).

3.5.2 Modificación de los almidones y su caracterización

a. Modificación con OSA y pretratamiento con ultrasonido

En la Figura 7 se presenta el proceso de esterificación para la modificación de los almidones. Se empleó la metodología de Bello-Flores *et al.* (2014) con modificaciones.

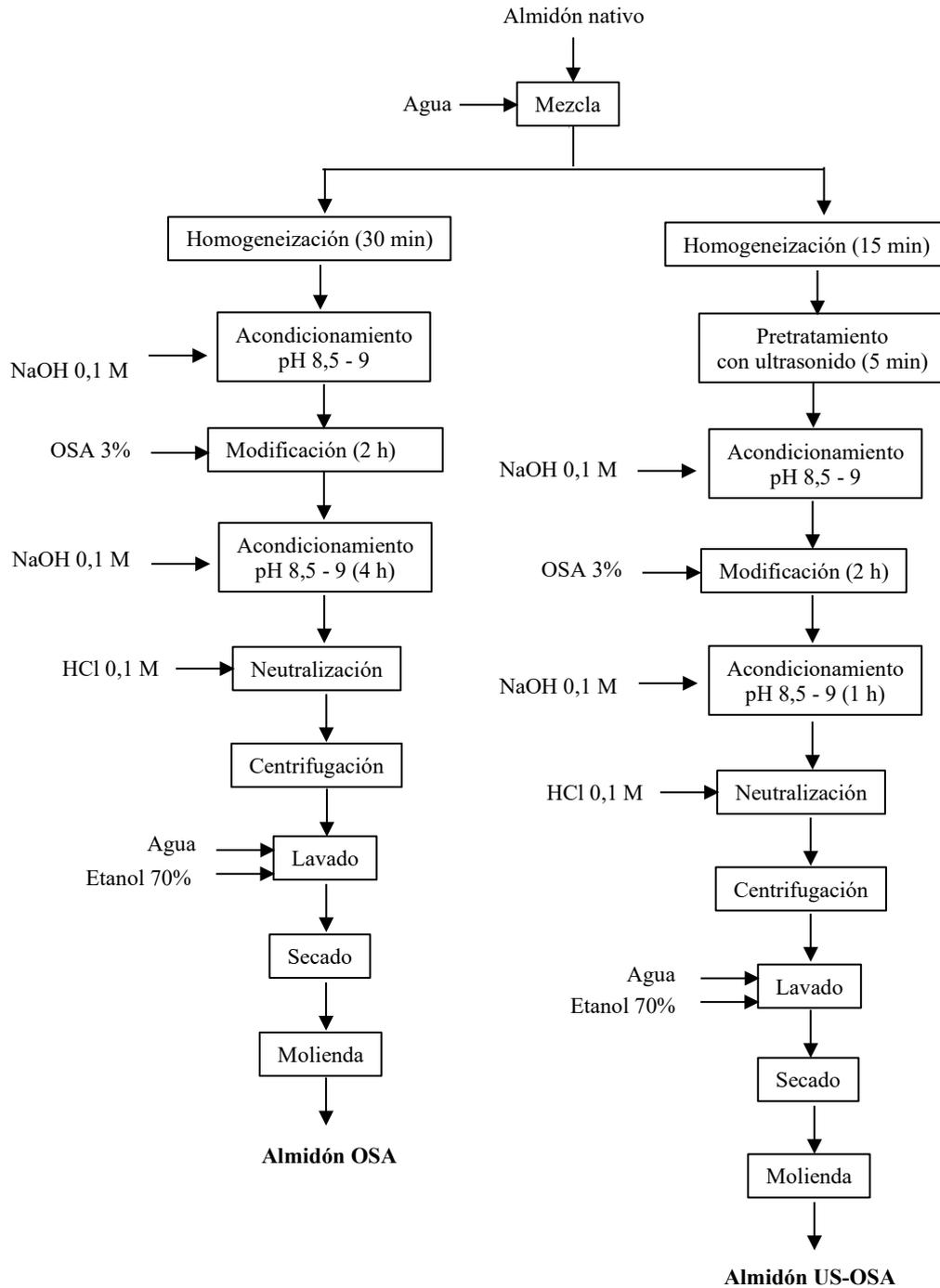


Figura 7: Diagrama de flujo para la esterificación de almidones nativos con OSA y pretratamiento con ultrasonido

El almidón se suspendió en agua destilada para obtener una concentración del 30 por ciento (p/v) y se agitó constantemente durante 30 min. El pH de la suspensión se ajustó a 8,5-9 con NaOH 0,1 M, y se añadió gota a gota, una cantidad pesada de 3 por ciento de OSA, en forma lenta durante 2 h. La reacción continuó con agitación durante 4 h a 25 °C manteniendo el pH. Luego, la suspensión se neutralizó a pH 7 con HCl 0,1 M y el almidón se separó por centrifugación a 4 000 g durante 10 min a 10 °C. El almidón modificado se lavó tres veces con agua destilada y una con etanol 70 por ciento. El almidón se secó a 40 °C en estufa de aire caliente, y se codificó como OSA (Figura 7). Los almidones se almacenaron en recipientes herméticos hasta su caracterización. El experimento de modificación se repitió dos veces.

En la modificación por esterificación empleando ultrasonido como pretratamiento (Figura 7), el almidón se suspendió en agua destilada para obtener una concentración del 30 por ciento (p/v) y se agitó durante 15 min. Luego, la suspensión fue homogeneizada con el instrumento de dispersión ultrasónica (200 W, 26 kHz) (UP200ST, Hielscher Ultrasonics GmbH) equipado con un transductor y un generador, se empleó un sonotrodo de titanio S26d7 (7 mm de diámetro de la punta) durante 5 min, a 25 °C (amplitud 70 por ciento, pulso 80 por ciento, potencia ~60W). Las dispersiones se enfriaron durante la sonicación por inmersión en un baño de agua helada, y luego se modificaron con OSA, tal como se describió anteriormente, por 3 h a 25 °C. Los almidones modificados se identificaron con el código US-OSA y se almacenaron a temperatura ambiente hasta su caracterización. El experimento de modificación se realizó por duplicado. Los almidones esterificados OSA y US-OSA fueron evaluados estructural y funcionalmente según los métodos de análisis detallados anteriormente (Sección 3.4.1).

b. Esterificación con ácido cítrico

Se empleó la metodología reportada por Butt *et al.* (2019a) con algunas modificaciones, según se muestra en la Figura 8. Se preparó una suspensión de 30 g (base seca) de almidón con 35 mL de una disolución de ácido cítrico al 10, 15 y 20 por ciento (en base al peso seco del almidón), y se ajustó el pH a 3,5 con NaOH 10 M. La suspensión se expandió sobre una placa Petri para su reposo por 1; 8,5 y 16 h (tiempo de reacción). Terminado el período, la suspensión se secó en una estufa de circulación de aire forzado de aire 45 °C por 24 h, y luego se molió en un mortero. Seguidamente, el almidón seco se llevó a la estufa a 90 °C por

1 h, y luego a 130 °C por 2 h. El almidón citrato obtenido se lavó cinco veces con agua destilada para eliminar el exceso de ácido cítrico que no reaccionó; después se expandió el almidón sobre una bandeja y se secó en el liofilizador a 100 mTor y -40 °C por 6 h. Finalmente, el almidón modificado se tamizó y se almacenó en un recipiente hermético. Las formulaciones para la modificación del almidón se prepararon de acuerdo con el diseño de factorial que se detalla en el Sección 3.6.2. El almidón esterificado con ácido cítrico fue evaluado estructural y funcionalmente según los métodos de análisis detallados anteriormente (Sección 3.4.1).

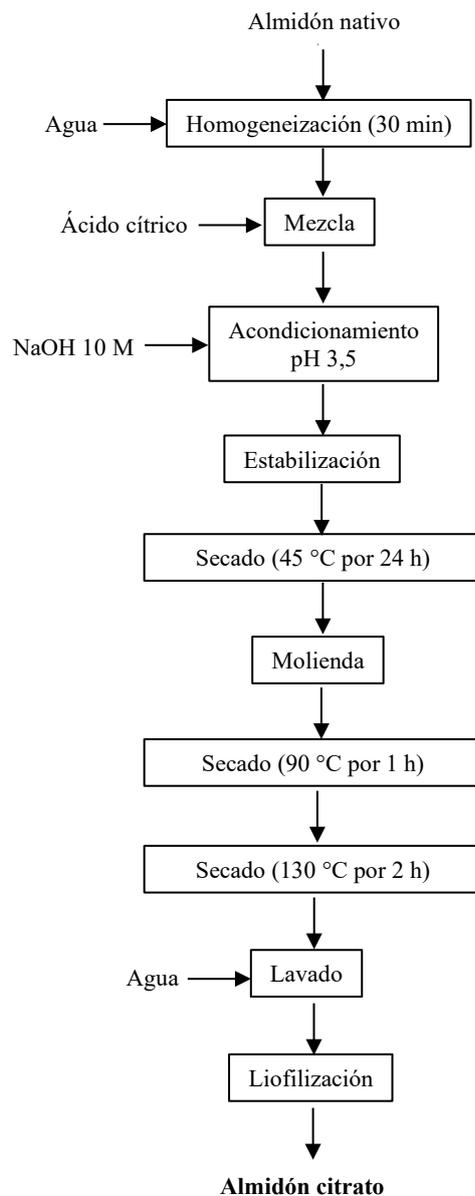


Figura 8: Diagrama de flujo para la esterificación de almidón con ácido cítrico

3.5.3 Microencapsulación del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC) empleando almidón modificado seleccionado

a. Obtención del extracto de semilla de palta (ESP)

Los frutos de palta maduros se cortaron para separar manualmente las semillas. Estas se cortaron en láminas y se secaron a 40 °C durante 24 h en un secador de flujo de aire. La humedad se midió por diferencia de peso, y el producto seco fue molido en un molino de cuchillas con un tamaño de partícula de 2 mm (Segovia *et al.* 2016). La harina de semilla de palta se almacenó en congelación a -20 °C hasta el proceso de extracción. El ESP se obtuvo a partir de la mezcla en la proporción de 50 g de harina de semilla de palta con 500 mL de agua destilada en ebullición, con agitación constante durante 30 min; y se realizaron hasta tres extracciones sucesivas en el sólido (Xu *et al.* 2008). El ESP fue centrifugado a 4 000 rpm y 10 °C, y luego se filtró usando papel Whatman N° 1 para eliminar los sólidos en suspensión. El extracto filtrado se concentró en la planta piloto polivalente de concentración discontinua hasta 8,1 por ciento de sólidos totales. En el extracto de semilla de palta concentrado (ESPC) se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales, actividad antioxidante, color y pH según los métodos de análisis de la Sección 3.4.2.

b. Selección del almidón modificado como material de pared

Los almidones modificados fueron evaluados como materiales de pared realizando ensayos de formación de micropartículas. Se prepararon suspensiones de cada almidón esterificado (OSA, US-OSA y LKC) con el ESPC según las condiciones establecidas para la microencapsulación (detallado en la sección c). Las micropartículas obtenidas fueron observadas en el microscopio óptico, y en cada micrografía se deberían observar las micropartículas formadas. Se tomó como referencia las micropartículas formadas con MD.

c. Microencapsulación del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC)

La microencapsulación del ESPC obtenido en el proceso anterior se realizó empleando tres materiales de pared: almidón citrato óptimo (LKC), maltodextrina (MD) y mezcla de ambos (MD-LKC) (Figura 9). Las condiciones para la microencapsulación fueron: temperatura del aire de secado 150 °C, flujo de alimentación 9 mL/min y caudal de aire 35 m³/h. El material de pared (17 por ciento del peso del extracto) se hidrató en 150 g del ESPC (8,1 por ciento de sólidos totales), de tal forma que, todas las dispersiones de alimentación tuvieron un contenido de 21,3 por ciento de sólidos totales. Las soluciones se homogenizaron en un agitador magnético durante 2 h a 800 rpm.

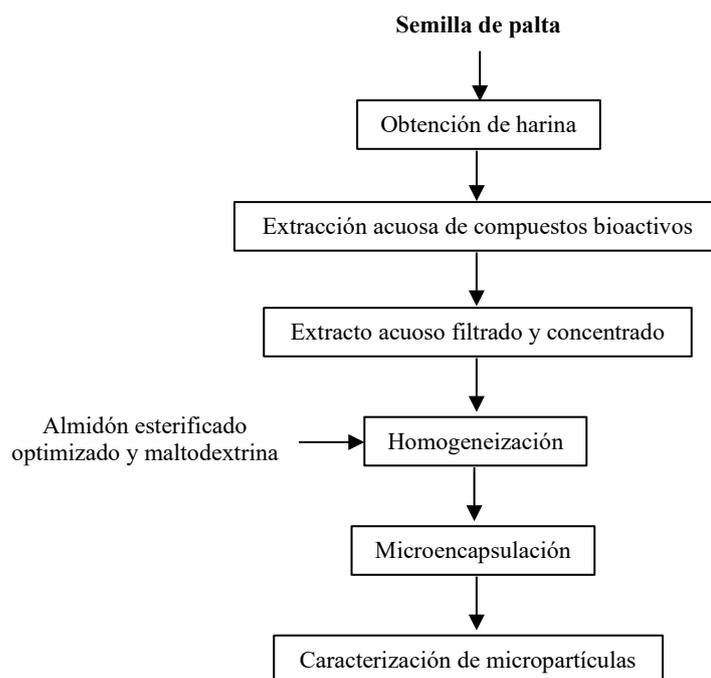


Figura 9: Diagrama de flujo para la microencapsulación del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC)

d. Caracterización de las micropartículas

Las micropartículas fueron caracterizadas según los métodos descritos en el Sección 3.4.4.

3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.6.1 Almidones modificados con OSA

En esta etapa se empleó un diseño completamente al azar con dos repeticiones, en el cual los tratamientos fueron los almidones modificados (OSA y US-OSA), y se realizó un análisis de varianza para determinar las diferencias significativas entre sus propiedades funcionales y estructurales. Posteriormente, se realizó la comparación de medias de LSD para determinar entre qué medias de tratamientos existían diferencias significativas. Los resultados se analizaron empleando el programa estadístico *Statgraphics*® CENTURION XVI.

3.6.2 Optimización del proceso de modificación del almidón con ácido cítrico

Se empleó el método de superficie de respuesta para la optimización del proceso de esterificación del almidón con ácido cítrico. En el Cuadro 2 se presentan las corridas experimentales que se llevaron a cabo empleando un diseño factorial de tres niveles (3^2) con un punto central. Las variables independientes fueron el tiempo de reacción a temperatura

ambiente (1; 8,5 y 16 h) y la concentración de ácido cítrico (10, 15 y 20 por ciento en base al peso del almidón); las que se codificaron como X_1 y X_2 , respectivamente. Se estudiaron como variables respuestas, la viscosidad aparente (mPa·s) y la solubilidad (porcentaje) para 10 corridas experimentales; las que se codificaron como Y_1 e Y_2 , respectivamente. Cada corrida se realizó por triplicado.

Cuadro 2: Diseño factorial con variables reales y codificadas para la optimización de los parámetros de obtención del almidón citrato

Corrida	t (X_1)	C (X_2)
1	1(-1)	10(-1)
2	1(-1)	15(0)
3	1(-1)	20(+1)
4	8,5(0)	10(-1)
5	8,5(0)	15(0)
6	8,5(0)	15(0)
7	8,5(0)	20(+1)
8	16(+1)	10(-1)
9	16(+1)	15(0)
10	16(+1)	20(+1)

t: tiempo de reacción (h); C: concentración de ácido cítrico (porcentaje)

Los resultados fueron interpretados en base al análisis de varianza (ANOVA), para identificar las variables independientes que fueron significativas en el proceso, y se evaluaron los modelos estadísticos descriptivos para la respuesta. El análisis de las variables respuestas y las independientes se realizó para obtener el modelo polinomial de segundo orden como se muestra en la Ec. (20):

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j=1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (20)$$

donde Y es la respuesta pronosticada, X_i y X_j muestran las variables independientes, b_0 es el coeficiente constante, b_i es el coeficiente lineal, b_{ij} representa el coeficiente de interacción, b_{ii} son los coeficientes cuadráticos y n muestra el número de variables independientes.

3.6.3 Microencapsulación del extracto de semilla de palta concentrado

En el Cuadro 3 se presentan las proporciones de los materiales de pared empleados para la microencapsulación del ESPC: el almidón citrato óptimo (LKC), maltodextrina (MD) y la mezcla de ambos (MD-LKC).

Cuadro 3: Materiales de pared empleados para microencapsulación del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC)

Corrida	LKC (porcentaje)	MD (porcentaje)
1	1	0
2	0,5	0,5
3	0	1

donde, LKC: almidón citrato óptimo; MD: maltodextrina

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización estructural, funcional, y morfológica de los almidones nativos

4.1.1 Contenido de almidón total

El contenido de almidón total (pureza) de los almidones en estudio indican que el proceso de extracción permitió la obtención de almidones con una baja cantidad de impurezas (Cuadro 4). No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) entre los almidones nativos (Anexo 1, Cuadro A). Los resultados obtenidos fueron mayores que los reportados para almidón de papa de Venezuela (88,22 por ciento) (Lovera *et al.* 2017).

Cuadro 4: Contenido de almidón total en los almidones nativos

Parámetro	Cultivares de papa nativa		
	IB	IN	LK
Almidón total (porcentaje)	90,0 ± 0,96 ^a	92,2 ± 2,49 ^a	89,7 ± 0,61 ^a

Valores promedio ± desviación estándar, la misma letra en la fila indica que no existe diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$)

4.1.2 Microscopía electrónica de barrido, óptica y de luz polarizada

La morfología de los gránulos de los almidones nativos evaluados por microscopía electrónica de barrido (MEB), por microscopía óptica y por microscopía de luz polarizada (MLP) se muestran en la Figura 10. Los gránulos de almidón de los tres cultivares de papa nativa mostraron una superficie relativamente lisa y libre de poros, grietas y fisuras, lo que fue observado por MEB (Figura 10A, B, C) (Çatal e İbanoğlu 2012a), como normalmente se observa para los gránulos de almidón nativo (Pérez *et al.* 2009). Respecto a la forma de los gránulos, las imágenes de microscopía óptica muestran que sus bordes son bien definidos. Los gránulos pequeños eran principalmente esféricos u ovoides, mientras que, los gránulos medianos y grandes eran elipsoides o de forma irregular (Figura 10D, E, F) (Hoover y Ratnayake 2001; Kaur *et al.* 2002; Kaur *et al.* 2007; Çatal e İbanoğlu 2012b). Según Kaur *et al.* (2007) la variación en la morfología de los gránulos de almidón puede ser atribuido al origen biológico, a la fisiología de la planta, y a la bioquímica del amiloplasto en la célula.

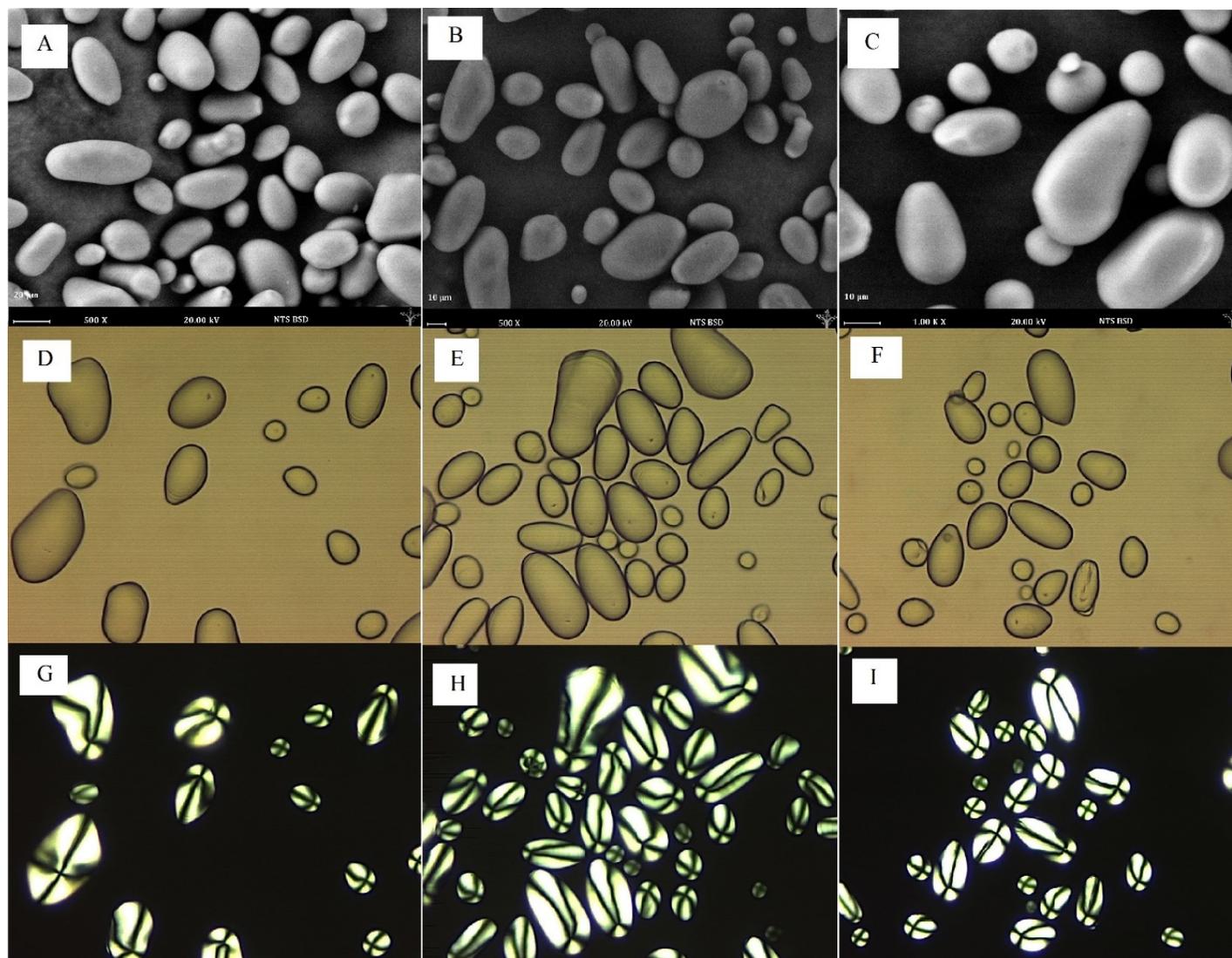


Figura 10: Micrografías de los almidones nativos: Imilla blanca (A, D, G), Imilla negra (B, E, H) y Loc'ka (C, F, I) observado por MEB (A, B, C), microscopía óptica (D, E, F) y MLP (G, H, I)

La cruz de Malta es un símbolo del patrón de birrefringencia e indica la microestructura interna del gránulo de almidón, que se observó bajo MLP, lo que indica que existe una orientación radial de las moléculas en el hilio (Ambigaipalan *et al.* 2014; Wang *et al.* 2016). Asimismo, la cruz de Malta es un efecto de la refracción de la luz polarizada por las regiones cristalinas intactas en el almidón (Çatal e İbanoğlu 2012a); por lo que, los gránulos de los almidones nativos de los tres cultivares de papa mostraron una fuerte birrefringencia con cuadrantes bien definidos (Figura 10G, H, I). Las micrografías de MEB, microscopía óptica y MLP sugieren que la estructura de los gránulos de almidón de las papas nativas muestra una superficie e interior típicos.

4.1.3 Distribución de tamaño de partícula

La medición del tamaño de los gránulos de almidón mediante difracción láser es una técnica que se realiza utilizando una gran población de gránulos de almidón dispersados en agua. La distribución del tamaño de partícula de los almidones nativos se muestra en la Figura 11, y se observa que el almidón IN presentó dos poblaciones de tamaño de gránulos: una pequeña población de 0,59–7,64 μm , y una población principal de 11,2–66,9 μm ; mientras que, el almidón IB mostró tres poblaciones de tamaño de gránulos: dos poblaciones pequeñas de 0,013–0,36 μm , y 0,77–8,69 μm , y una población principal de 12,7–272 μm . Por otro lado, el almidón LK mostró una distribución unimodal con un rango de diámetros de gránulos de 11,2–51,8 μm .

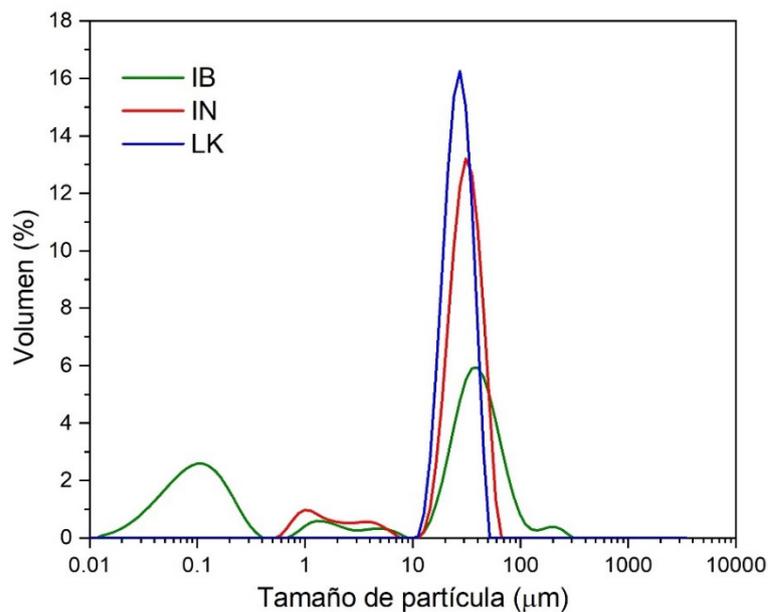


Figura 11: Distribución de tamaño de partícula de los almidones nativos

Algunas investigaciones han demostrado que el almidón de papa tiene una distribución de tamaño de gránulo relativamente amplia. Así, se han reportado distribuciones de tamaño de gránulos de 5–100 μm para almidones aislados de diez cultivares de papa del Reino Unido (Alvani *et al.* 2011) y 10–110 μm para almidones aislados de catorce genotipos de papa de Países Bajos (Gomand *et al.* 2010). Waterschoot *et al.* (2016) informaron que un tamaño de partícula de almidón pequeño mostró mayor ΔH y viceversa; esto sucedió con los almidones IB e IN, los cuales mostraron tamaños de gránulos más pequeños y sus ΔH fueron más altos (Cuadro 1, Peña 2017). Otra forma de expresar el tamaño de partícula de un material es la distribución acumulativa (percentil) y el *span*. El percentil por volumen de los almidones nativos estuvo en el rango de 14,5-16,2 μm , 32,3-37,1 μm y 58,5-92,2 μm para D₁₀, D₅₀ y D₉₀, respectivamente (Cuadro 5). El valor de *span* que presentó el almidón LK (0,76) confirma el pico más estrecho de la distribución (11,2–51,8 μm) (Figura 11). Tanto la distribución acumulativa como el *span* presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los almidones nativos (Anexo 2, Cuadro B, B.1, B.2, B.3).

Cuadro 5: Parámetros de distribución de tamaño de partícula de los almidones nativos

Parámetro	IB	IN	LK
D ₁₀ (μm)	0,06 \pm 0,00 ^a	4,17 \pm 0,03 ^b	16,50 \pm 0,03 ^c
D ₅₀ (μm)	21,81 \pm 0,18 ^a	27,39 \pm 0,09 ^c	24,64 \pm 0,08 ^b
D ₉₀ (μm)	59,38 \pm 0,86 ^c	42,55 \pm 0,06 ^b	35,17 \pm 0,21 ^a
<i>Span</i>	2,72 \pm 0,02 ^c	1,40 \pm 0,01 ^b	0,76 \pm 0,00 ^a

Valores promedio \pm desviación estándar, la misma letra en las filas indican que no existe diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

4.1.4 Distribución de tamaño de cadenas de amilopectina

Según el modelo de conglomerados de amilopectina, las cadenas de amilopectina se clasifican por su longitud en cuatro tipos de cadenas: A (GP 6-12), B1 (GP 13-24), B2 (GP 25-36) y B3+ (GP > 37). Las cadenas A (de 6 a 12 unidades de glucosa) y B1 (de 13 a 24 unidades de glucosa) son el componente principal de las laminillas cristalinas; mientras que, las cadenas B2 (de 25 a 36 unidades de glucosa) y B3+ (con más de 37 unidades de glucosa) son el componente de las laminillas amorfas (Hizukuri 1986; Bertoft 2004; Saeaurng y Kuakpetoon 2018). En la Figura 12 se presentan las distribuciones de tamaños de las cadenas

de amilopectina en los rangos de A, B1, B2 y B3+ para los almidones IB, IN y LK, y se observa que presentan dos picos altos que corresponden a los tamaños de cadenas de 12 y 13 unidades de glucosa (B1) para los almidones IB y LK. Este patrón fue similar al informado por Saeaurng y Kuakpetoon (2018) para almidones de mango, maíz, yuca y arroz.

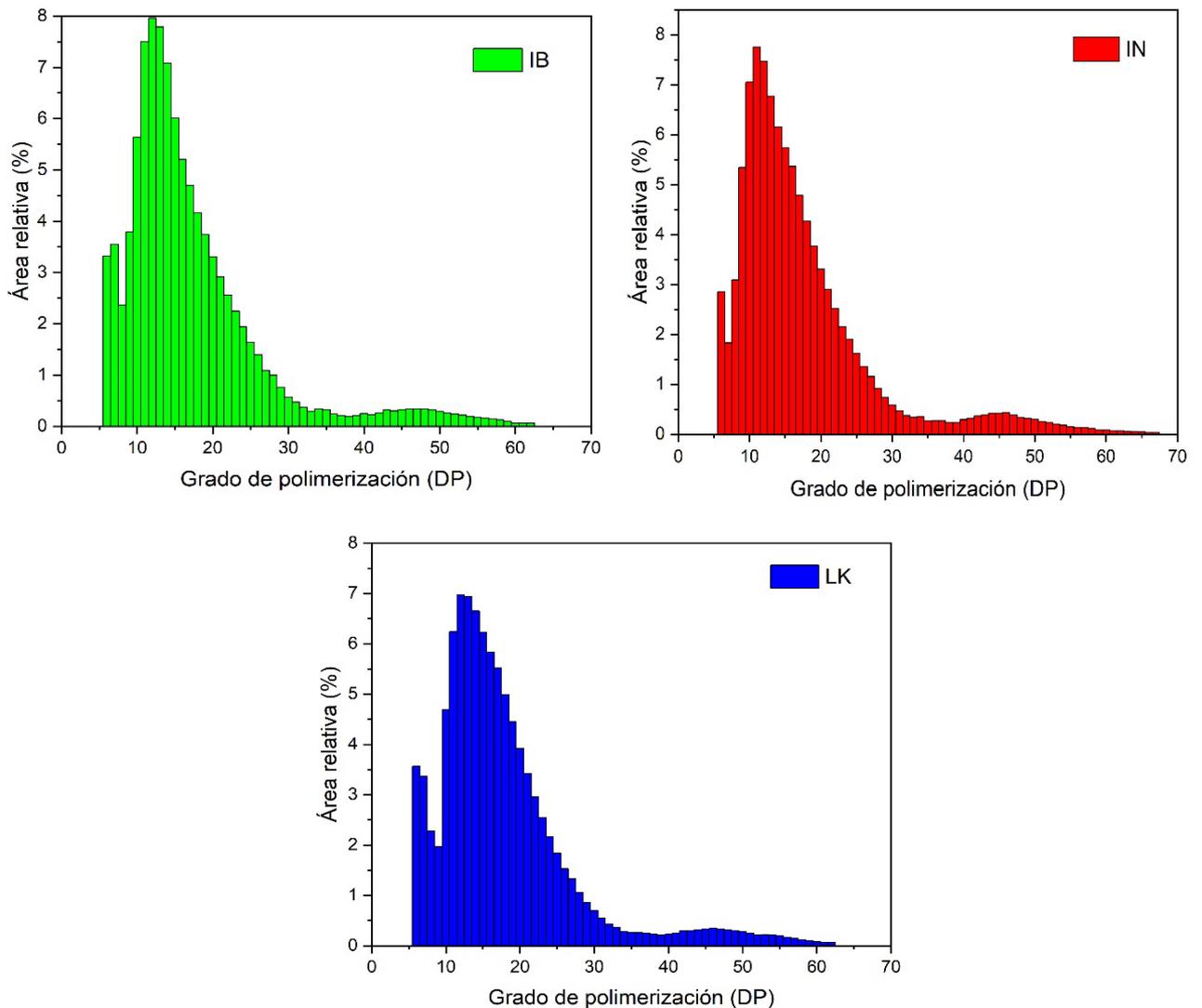


Figura 12: Distribución de tamaño de cadenas de amilopectina de almidones nativos: *Imilla blanca* (IB), *Imilla negra* (IN) y *Loc'ka* (LK)

En el Cuadro 6 se muestran los porcentajes del grado de polimerización (GP) de las cadenas de amilopectina para cada almidón nativo. La proporción de amilopectina de cadenas A y B2 en los almidones IB, IN y LK no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) (Anexo 3, Cuadro C, C.2). La proporción de amilopectina de cadenas B1 en el almidón LK presentó diferencias estadísticamente significativas en comparación con los

almidones IB e IN (Anexo 3, Cuadro C.1). Además, la proporción de amilopectina de cadena B3+ en el almidón IN fue significativamente mayor que en los almidones IB y LK (Anexo 3, Cuadro C.3). Al respecto, Ramadoss *et al.* (2019) sostienen que los altos porcentajes de cadenas cortas de amilopectina podrían conferir una alta resistencia a la degradación por enzimas gástricas debido al elevado grado de empaquetamiento de sus cadenas; por lo que, los almidones con este arreglo presentarían una digestibilidad baja.

Cuadro 6: Longitud de cadenas de amilopectina de los almidones nativos

Almidón	P ₁	P ₂	A (GP 6-12)	B1 (GP 13-24)	B2 (GP 25-36)	B3+ (GP > 37)
IB	12	47	34,14 ± 0,96 ^a	51,63 ± 0,29 ^{ab}	8,47 ± 0,37 ^a	5,81 ± 0,37 ^a
IN	11	46	35,38 ± 0,86 ^a	49,54 ± 0,57 ^a	8,44 ± 0,34 ^a	6,62 ± 0,07 ^b
LK	12	46	29,04 ± 3,73 ^a	55,57 ± 2,82 ^b	9,45 ± 1,02 ^a	5,89 ± 0,03 ^a

donde, P₁ – primer pico de alto tamaño; P₂ – segundo pico de alto tamaño; GP – grado de polimerización. Valores promedio ± desviación estándar, la misma letra en las columnas muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

4.1.5 Peso molecular

Los resultados de la masa molecular promedio (M_w) y el radio de giro (R_z) pueden verse afectados por el método utilizado para la suspensión del almidón, la solubilización y el modelo de ajuste de datos. Se ha informado que el método de Berry es el más adecuado para calcular el M_w para moléculas más grandes (Hoyos-Leyva *et al.* 2017). En el Cuadro 7 se presentan los pesos moleculares promedio y radios de giro de los almidones nativos obtenidos de papas nativas, siendo los pesos moleculares promedio de la amilopectina mayores que los de la amilosa. La amilosa de almidón IN presentó el mayor peso molecular promedio, y este fue mayor que el de la amilopectina; comportamiento similar fue reportado por Liu *et al.* (2014) y por Mun y Shin (2006) para almidón de maíz normal. Los pesos moleculares de la amilosa en los tres almidones nativos fueron similares a los reportados por Hoyos-Leyva *et al.* (2017) para almidones de taro (*Colocasia esculenta*), y fueron mayores al informado por Liu *et al.* (2014) para almidón de maíz. Mientras que, los pesos moleculares de la amilopectina de los tres almidones en estudio fueron menores a los informados por Hoyos-Leyva *et al.* (2017) y mayores al reportado por Liu *et al.* (2014). Por otro lado, los radios de giro (R_z) de la amilosa y amilopectina fueron menores a los reportados tanto por

Hoyos-Leyva *et al.* (2017) como por Liu *et al.* (2014). El mayor peso molecular promedio de amilosa mostrado por el almidón IN podría tener relación con las propiedades de formación de pasta comparados con los almidones IB y LK. No obstante, las diferencias entre estos resultados y los valores de pesos moleculares informados en otras investigaciones se pueden atribuir a los diferentes tipos de almidones, el método de preparación de las dispersiones de almidón y el método de ajuste de datos (Yoo y Jane 2002).

Cuadro 7: Masa molar y radio de giro de los almidones nativos

Almidón	Amilosa		Amilopectina	
	M_M ($\times 10^7$ g/mol)	R_z (nm)	M_M ($\times 10^8$ g/mol)	R_z (nm)
IB	$1,8 \pm 0,2$	$101,1 \pm 5,6$	$3,3 \pm 0,2$	$306,7 \pm 5,6$
IN	$3,7 \pm 0,2$	$103,1 \pm 5,6$	$2,1 \pm 0,2$	$234,8 \pm 5,6$
LK	$2,8 \pm 0,2$	$102,6 \pm 5,6$	$3,4 \pm 0,2$	$300,3 \pm 5,6$

donde, M_M – masa molecular promedio; R_z – radio de giro. Valores promedio \pm desviación estándar

Por otro lado, los almidones LK e IB presentaron los pesos moleculares promedio de amilopectina más altos que el almidón IN. Englyst *et al.* (1992) y Jane *et al.* (1997) sostienen que los almidones de tubérculos con cadenas de amilopectina extensas podrían ser menos susceptibles a la digestión por hidrólisis enzimática. Los pesos moleculares promedio de la amilopectina y los radios de giro de los almidones nativos fueron menores a los reportados para almidones de taro (Hoyos-Leyva *et al.* 2017) ($5,7-13 \times 10^8$ g/mol) y estuvieron en el rango reportado para diferentes almidones con cristalinidad tipo B (Yoo y Jane 2002) ($1,7-3,4 \times 10^8$ g/mol). Por otro lado, Zhong *et al.* (2006) sostienen que las diferencias entre el peso molecular promedio y el radio de giro para la amilosa y la amilopectina en los almidones de una misma fuente de origen podrían deberse al procedimiento de solubilización empleado, la suspensión de los almidones y su fraccionamiento. La alta disposición de doble hélice entre las cadenas de amilosa y amilopectina, así como las altas interacciones de las cadenas de amilosa-amilosa y amilopectina-amilopectina podrían inducir a que los almidones presenten elevadas temperaturas de gelatinización (Singh *et al.* 2004a,b).

4.1.6 Cristalinidad

La difracción de rayos X se utiliza para estudiar la estructura cristalina de los gránulos de almidón, que forman un sistema semicristalino; que consiste en regiones cristalinas y amorfas (Xu *et al.* 2013). Según Zhou *et al.* (2016) en los difractogramas se observa que los patrones de difracción mostraron los componentes cristalinos de los almidones como picos agudos, mientras que los componentes amorfos se presentaron como picos dispersivos.

Los difractogramas de los almidones en estudio presentaron una cristalinidad de tipo B, que es típica de los almidones de tubérculos con cadenas de amilopectina extensas. Se observó que los almidones mostraban un pico de reflexión fuerte de 17° a 2θ y varios picos medios de aproximadamente 15° , $22,2^\circ$ y $24,1^\circ$ a 2θ ; estos resultados son similares a los reportados sobre la estructura de cristalina del almidón de papa (Vasanthan *et al.* 1999; Alvani *et al.* 2011; Xu *et al.* 2013; Zhou *et al.* 2016). Un pico único de aproximadamente $5,6^\circ$ a 2θ , que se encuentra típicamente en el patrón de cristalinidad de tipo B, fue muy débil; resultado similar que fue reportado por Xu *et al.* (2013). Para los almidones de papa, la cristalinidad varía del 15 al 45 por ciento, dependiendo no solo de la fuente y del contenido de humedad del almidón, sino también, de la técnica utilizada para determinar este parámetro (Alvani *et al.* 2011). Los porcentajes de cristalinidad en los almidones nativos fueron 36,3, 34,4 y 35,3 por ciento para IB, IN y LK, respectivamente (Figura 13). Estos valores fueron más altos que los reportados por Alvani *et al.* (2011) para almidones obtenidos de diez cultivares de papa del Reino Unido, por Vasanthan *et al.* (1999) para almidones de seis variedades de papa de Canadá, y similares a los reportados por Gomand *et al.* (2010) para almidones de diferentes genotipos de papa de Países Bajos.

Cheetham y Tao (1998) sostienen que las diferencias en el nivel de cristalinidad pueden estar relacionadas con el contenido de amilosa en los almidones; es decir, el porcentaje de cristalinidad es bajo en almidones que presentan un alto contenido de amilosa; este comportamiento se pudo apreciar en el almidón IN. Por otro lado, Ambigaipalan *et al.* (2011) afirman que las diferencias en la cristalinidad relativa entre los almidones pueden atribuirse a las diferencias en el tamaño del cristal, el número de regiones cristalinas (influenciadas por el contenido de amilopectina y la longitud de la cadena de amilopectina), la orientación de las dobles hélices dentro de los dominios cristalinos y el grado de interacción entre las dobles hélices. Asimismo, Singh *et al.* (2004a) afirman que las diferencias en las temperaturas de

transición y las entalpías de gelatinización en los almidones pueden atribuirse a diferencias en su grado de cristalinidad.

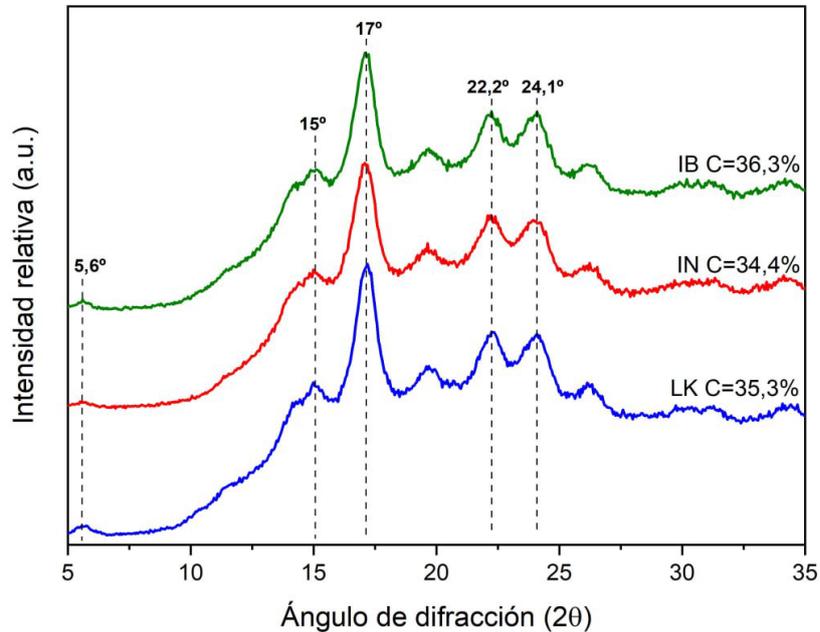


Figura 13: Patrones de difracción de los almidones nativos

4.1.7 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

Dado a que un haz de rayos infrarrojos penetra aproximadamente 2 μm en la superficie de un gránulo de almidón (Sevenou *et al.* 2002; Ambigaipalan *et al.* 2011), los espectros FT-IR reflejan principalmente un orden de corto alcance relacionado con el orden de la doble hélice; a diferencia del orden de largo alcance que está relacionado con el empaque de las dobles hélices detectadas por difracción de rayos X (Ambigaipalan *et al.* 2011). En la Figura 14 se muestra el espectro FT-IR de los almidones nativos.

Los picos pronunciados de absorbancia en la banda de 1800 cm^{-1} a 900 cm^{-1} son característicos de los almidones nativos. Asimismo, los picos por encima de 1800 cm^{-1} estaban en bandas de 3000 cm^{-1} a 2800 cm^{-1} y de 3500 cm^{-1} a 3000 cm^{-1} , que son característicos del estiramiento de los enlaces C–H y O–H, respectivamente. Las bandas en la región $1100\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ son sensibles a los cambios en la estructura del almidón, particularmente, las bandas a 995 , 1022 y 1047 cm^{-1} (Warren *et al.* 2016). La banda de absorbancia a 995 cm^{-1} está relacionada con la interacción agua–almidón, y su intensidad

de absorción es producida por las vibraciones de flexión C–O–H; mientras que, las bandas de absorbancia a 1022 cm^{-1} y 1047 cm^{-1} son características de estructuras amorfas y cristalinas en almidón, respectivamente (van Soest *et al.* 1995; Ambigaipalan *et al.* 2011; Warren *et al.* 2016).

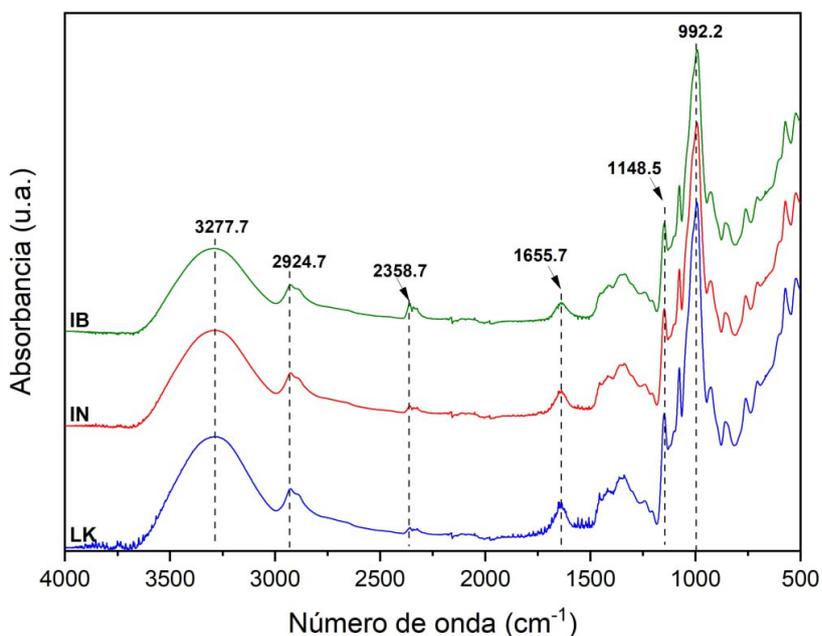


Figura 14: Espectros FT-IR de los almidones nativos: *Imilla blanca* (IB), *Imilla negra* (IN) y *Loc'ka* (LK)

La región de la huella dactilar del almidón ($1100\text{-}900\text{ cm}^{-1}$) que representa el estiramiento del enlace C-O; está compuesta por picos superpuestos individuales que se obtienen mediante métodos de deconvolución. La Figura 15 muestra los resultados de deconvolución para la región de la huella dactilar del almidón IB. Los picos a 1047 cm^{-1} , 1022 cm^{-1} y 995 cm^{-1} se han relacionado con las estructuras ordenadas, estructuras amorfas y estructuras hidratadas, respectivamente. Ambigaipalan *et al.* (2011) y van Soest *et al.* (1995) sostienen que la relación de intensidad $1047/1022\text{ cm}^{-1}$ (R_1) se usa para expresar la relación de dominios cristalinos ordenados a los dominios amorfos en los almidones; mientras que, la relación de intensidad $995/1022\text{ cm}^{-1}$ (R_2) refleja la relación de las estructuras hidratadas a las amorfas. En el Cuadro 8 se observan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los valores de R_1 de los almidones nativos, el almidón LK mostró el mayor valor, lo que sugiere que el orden interno está ligado a la estructura de la amilopectina. También se observan diferencias estadísticamente significativas entre los valores R_2 , el almidón IB

presentó el valor más bajo, lo que estaría relacionado con el menor contenido de humedad que presentó.

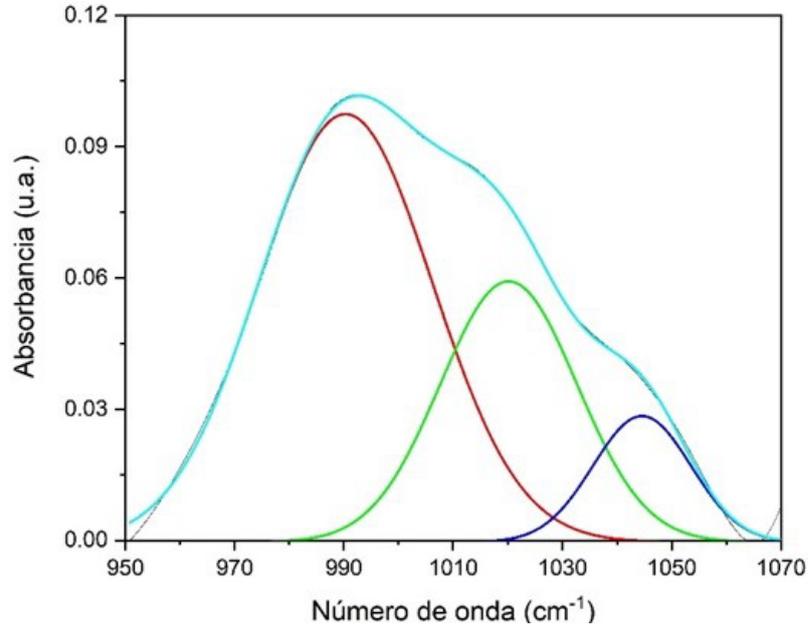


Figura 15: Ejemplo de señal FT-IR deconvolucionada en la región de la huella dactilar del almidón IB

Cuadro 8: Relación de intensidad y rangos cortos de alcance molecular de los almidones nativos

Almidón	R ₁ (1047/1022 cm ⁻¹)	R ₂ (995/1022 cm ⁻¹)
IB	0,470 ± 0,005 ^a	1,594 ± 0,006 ^a
IN	0,496 ± 0,005 ^b	1,648 ± 0,009 ^b
LK	0,511 ± 0,003 ^c	1,658 ± 0,017 ^b

Valores promedio ± desviación estándar, la misma letra en las columnas indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

4.1.8 Propiedades de formación de pasta

La temperatura inicial de formación de pasta (TP) es la temperatura mínima necesaria para cocinar un almidón, y es mayor que la temperatura de inicio de gelatinización (T_0) medida por calorimetría diferencial de barrido. El perfil y las propiedades de formación de pasta de los almidones IB, IN y LK se presenta en la Figura 16 y en el Cuadro 9, respectivamente. Los valores de TP presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los

almidones en estudio (Anexo 5, Cuadro E). La TP del almidón IB (59,4 °C) fue significativamente mayor que la de los almidones IN (58,6 °C) y LK (56,3 °C), esto podría estar relacionado con el contenido de amilosa en el almidón, pues este polímero retrasaría la hinchazón del gránulo y aumentaría el valor de TP (Singh *et al.* 2008; Chung *et al.* 2014). La viscosidad pico (VP) para los almidones evaluados estuvo en el rango 3939–6307 mPa·s, y presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Anexo 5, Cuadro E.1). Los valores de VP encontrados son menores a los reportados por Waterschoot *et al.* (2016) (6964–8197 mPa·s) para almidones comerciales de papa y por Zhou *et al.* (2016) (10235 mPa·s) para almidón de papa de China. El almidón IN presentó la mayor VP (6307 mPa·s) que se puede estar influenciado por el contenido de amilosa, la proporción de longitudes de cadena de amilopectina y el contenido de fósforo (Karim *et al.* 2007; Ambigaipalan *et al.* 2011; Chung *et al.* 2014). Además, la amilosa se lixivia de los gránulos de almidón durante el calentamiento de las dispersiones a medida que se transporta más agua al gránulo, lo que produce una mayor hinchazón; y, en consecuencia, una VP más alta.

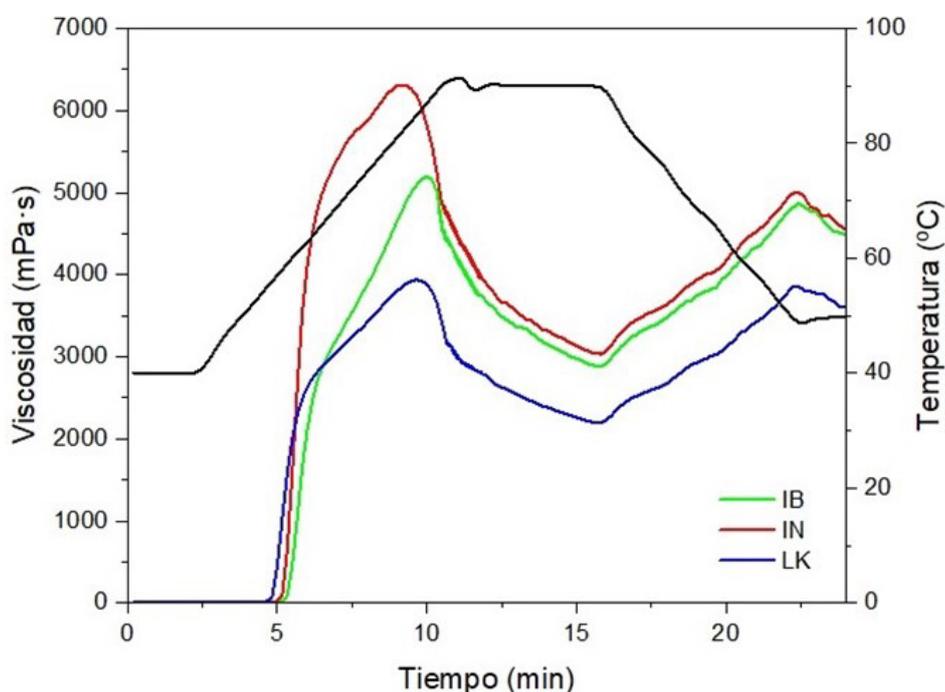


Figura 16: Perfil de formación de pasta de los almidones nativos

Cuadro 9. Propiedades de formación de pasta de los almidones nativos

Almidón	TP (°C)	VP (mPa·s)	VI (mPa·s)	VR (mPa·s)	VF (mPa·s)
IB	59,4 ± 0,12 ^c	5190 ± 81 ^b	2294 ± 30 ^b	1846 ± 51 ^b	4485 ± 18 ^b
IN	58,6 ± 0,06 ^b	6307 ± 11 ^c	3258 ± 26 ^c	1865 ± 44 ^b	4549 ± 103 ^b
LK	56,3 ± 0,29 ^a	3939 ± 60 ^a	1734 ± 59 ^a	1557 ± 1 ^a	3603 ± 23 ^a

Valores promedio ± desviación estándar, la misma letra en las columnas indica que no existe diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

La viscosidad de inestabilidad (VI) se produce por la desintegración de la estructura granular de almidón a través de fuerzas de cizallamiento; valores más altos indican que el almidón tiene una menor tendencia a resistir la fuerza de cizallamiento durante el calentamiento (Zhou *et al.* 2016). En este estudio, el almidón con mayor contenido de amilosa (IN) presentó el mayor valor de VI, y presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en comparación con los almidones IB y LK (Anexo 5, Cuadros E.2); esto indicaría que el almidón IN presentó mayor susceptibilidad bajo los efectos combinados de la temperatura, el exceso de agua y la velocidad de cizallamiento. La viscosidad de retrogradación (VR) y viscosidad final (VF) de los almidones IB e IN fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) que para el almidón LK (Anexo 5, Cuadros E.3, E.4). Durante el enfriamiento de la pasta de almidón, las moléculas de amilosa lixiviadas se agregan rápidamente y la formación de zonas de unión de amilosa es responsable de la VR y VF (Bello-Pérez *et al.* 2010). Es importante precisar que, en el caso de los almidones IN y LK se observó un desarrollo de la curva de viscosidad en dos etapas; primero, hubo un rápido aumento de la viscosidad y, en cierto punto, la pendiente de la curva cambió y el desarrollo de la viscosidad se ralentizó. Esto podría deberse a la transición del sistema de un régimen diluido a uno concentrado; este comportamiento fue similar en almidones nativos de papa que fue reportado por Gomand *et al.* (2010), Waterschoot *et al.* (2014) y Waterschoot *et al.* (2016).

4.2 Caracterización estructural, funcional, y morfológica de los almidones modificados

4.2.1 Almidones esterificados con anhídrido octenil succínico (OSA)

a. Contenido de amilosa aparente, grado de sustitución (GS), eficiencia de reacción (ER) y parámetros de color

El contenido de amilosa aparente de los almidones esterificados, encontrados en esta investigación, osciló entre 21,2 y 26 por ciento (Cuadro 10), que fue menor que el de sus homólogos nativos reportados por Peña (2017). Lopez-Silva *et al.* (2019) reportaron un patrón similar para almidones de maíz esterificados y señalaron que la disminución del contenido de amilosa se debe a que la modificación ocurre principalmente en las regiones amorfas (cadenas de amilosa). Sin embargo, los almidones US-OSA, con 5 min de tratamiento asistido por ultrasonido (200 W, 26 kHz) mostraron diferencias estadísticamente significativas para el contenido de amilosa aparente con respecto a los almidones OSA ($p < 0,05$) (Anexo 6, Cuadro F). Zhang *et al.* (2020) estudiaron la esterificación de almidón de maíz con ultrasonido a diferentes tiempos (5-60 min), y reportaron que el mayor contenido de amilosa en los almidones US-OSA podría deberse a que la fuerza mecánica del tratamiento asistido por ultrasonido sobre los gránulos de almidón rompió el enlace C-C y degradó la cadena de amilopectina en diferentes grados de su componente lineal.

Cuadro 10: Contenido de amilosa aparente, grado de sustitución y eficiencia de reacción de los almidones OSA y US-OSA

Almidón	Tratamiento	Contenido de amilosa aparente (porcentaje)	GS x 10 ²	ER (porcentaje)
IB	OSA	24,03 ± 0,00 ^{b,x}	0,92 ± 0,001 ^{a,x}	39,18 ± 0,02 ^{a,x}
	US-OSA	25,45 ± 0,56 ^{b,y}	1,05 ± 0,002 ^{a,y}	44,71 ± 0,08 ^{a,y}
IN	OSA	22,95 ± 0,00 ^{b,x}	1,05 ± 0,001 ^{b,x}	44,77 ± 0,01 ^{b,x}
	US-OSA	25,95 ± 0,56 ^{b,y}	1,45 ± 0,001 ^{b,y}	55,87 ± 0,01 ^{b,y}
LK	OSA	21,19 ± 0,19 ^{a,x}	0,82 ± 0,093 ^{a,x}	34,84 ± 1,97 ^{a,x}
	US-OSA	22,03 ± 0,93 ^{a,y}	1,15 ± 0,047 ^{a,y}	48,80 ± 1,95 ^{a,y}

Valores promedio ± desviación estándar seguidos por las letras a, b, c indican diferencias estadísticamente significativas entre los almidones IB, IN y LK ($p < 0,05$); las letras x, y indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos OSA y US-OSA ($p < 0,05$)

Los valores de GS de los almidones US-OSA (0,0105-0,0145) incrementaron significativamente comparado con los de los almidones OSA (0,0082-0,0105) (Cuadro 9). Sin embargo, para ambos tratamientos los valores de GS fueron menores a los establecidos por las regulaciones de la *Food and Drug Administration* (FDA) ($GS < 0,02$) para aplicaciones en alimentos (Song *et al.* 2006). Los valores de GS de los almidones US-OSA son consistentes con el informado por Zhang *et al.* (2020) (0,0146) para almidón de maíz esterificado y tratados con ultrasonido (500 W, 5 min). Sin embargo, Silva *et al.* (2022) encontraron valores mayores de GS (0,053-0,193) aplicando tratamiento de ultrasonido con una intensidad entre 5-20 W/cm² por 5 min. Debido a que el tratamiento por ultrasonido se aplicó antes de la esterificación del almidón, se mejoró la actividad química de la reacción; en consecuencia, los valores de GS fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) en los almidones US-OSA que en los OSA (Anexo 7, Cuadro G) (Zhang *et al.* 2020). Diferentes autores (He *et al.* 2006, Wang *et al.* 2016; Lopez-Silva *et al.* 2019) reportaron que los valores de GS de los almidones esterificados aumentaron con el contenido de amilosa; es decir, GS mostró una correlación positiva con el contenido de amilosa. Por otro lado, los valores de GS y ER de los almidones US-OSA incrementaron significativamente (Anexo 8, Cuadro H) ($p < 0,05$) con el tratamiento de ultrasonido. Bai *et al.* (2014) sugirieron que, en la primera etapa de la esterificación, los grupos octenil succínico (OS) se reemplazan cerca de los puntos de ramificación de la cadena de almidón, lo que podría restringir el hinchamiento de los gránulos en condiciones alcalinas; por tanto, los grupos OS reaccionan con los extremos no reductores de las cadenas de almidón. Al respecto, Zhang *et al.* (2020) señalaron que la cavitación por ultrasonido elimina el aire en los gránulos de almidón, lo que posibilita la entrada de reactivos a los canales internos de los gránulos; por lo tanto, se mejora la ER del proceso de esterificación.

El color es una propiedad muy importante para la valoración comercial del almidón y se espera que cualquier modificación no degrade el color blanco del almidón (Kumar y Saxena 2021). Los parámetros de color de los almidones OSA y US-OSA se muestran en el Cuadro 11. Se observó que los procesos de modificación, OSA y US-OSA, no tuvieron un efecto significativo ($p > 0,05$) para los valores de luminosidad (L^*) y blancura (W) de los almidones modificados (Anexo 9, Cuadro I, I.3). Los valores L^* se encontraron en el rango de 94,03 a 94,92; esta alta luminosidad ($L^* > 90$ por ciento) indica una blancura aceptable para la pureza

y brillo del almidón (Wang *et al.* 2000). La tendencia de los valores de W fue similar a la de L* y superiores al 90 por ciento.

Cuadro 11: Parámetros de color de los almidones OSA y US-OSA

Almidón	Tratamiento	a*	b*	L*	W (porcentaje)
IB	OSA	-0,22 ± 0,00 ^{b,x}	1,11 ± 0,01 ^{a,y}	94,47 ± 0,10 ^{b,x}	94,36 ± 0,11 ^{b,x}
	US-OSA	-0,18 ± 0,01 ^{b,y}	0,94 ± 0,02 ^{a,x}	94,68 ± 0,08 ^{b,x}	94,60 ± 0,08 ^{b,x}
IN	OSA	-0,27 ± 0,00 ^{a,x}	1,24 ± 0,05 ^{a,y}	94,69 ± 0,23 ^{c,x}	94,54 ± 0,23 ^{b,x}
	US-OSA	-0,17 ± 0,01 ^{a,y}	0,81 ± 0,04 ^{a,x}	94,92 ± 0,07 ^{c,x}	94,86 ± 0,06 ^{b,x}
LK	OSA	-0,20 ± 0,01 ^{c,x}	1,15 ± 0,17 ^{b,y}	94,03 ± 0,54 ^{a,x}	93,92 ± 0,49 ^{a,x}
	US-OSA	-0,16 ± 0,01 ^{c,y}	1,15 ± 0,04 ^{b,x}	94,30 ± 0,36 ^{a,x}	94,18 ± 0,35 ^{a,x}

donde, a*, b*, L* and W son los parámetros en el espacio de color CIELAB. Valores promedio ± desviación estándar seguidos por las letras a, b, c indican diferencias estadísticamente significativas entre los almidones IB, IN y LK ($p < 0,05$); las letras x, y indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos OSA y US-OSA ($p < 0,05$)

Por otro lado, los valores de a* (-0,16 a -0,22) fueron cercanos a cero, lo que indica que los almidones mostraron un color neutro; mientras que, los valores de b* (0,81 a 1,24) fueron ligeramente mayores. Estos parámetros a* y b* mostraron diferencias estadísticamente significativas por variedad y por el tratamiento aplicado a los almidones nativos (Anexo 9, I.1, I.3). Sin embargo, la modificación con OSA y US-OSA no alteraron los valores de a* en comparación con sus contrapartes nativas (-0,12 a -0,30) (Peña 2017); pero, los valores b* disminuyeron con los procesos de modificación de sus contrapartes nativas (1,66 a 2,49) (Peña 2017). Este último comportamiento es similar al reportado por Kumar y Saxena (2021) para almidones de semillas de nuez.

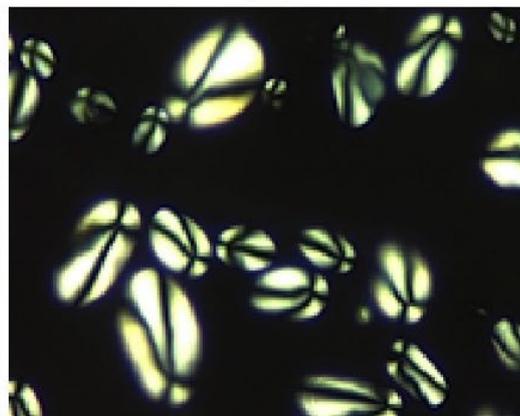
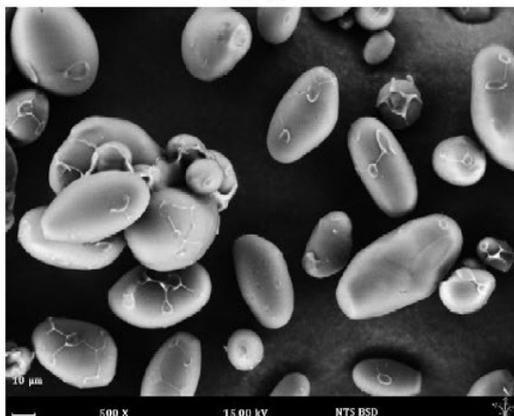
b. Microscopía electrónica de barrido (MEB) y de luz polarizada (MLP)

Las imágenes MEB de los almidones OSA y US-OSA (Figura 17, columna A) muestran la superficie de sus gránulos. Pareciera que las superficies de los gránulos se hubieran pelado, observándose una especie de película sobre sus superficies y algunos poros.

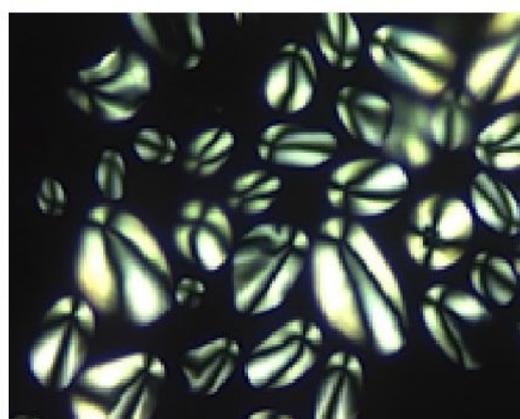
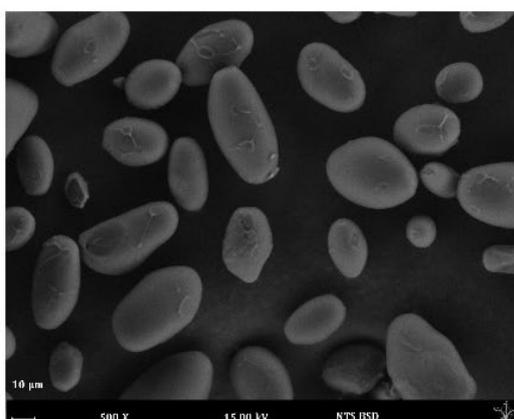
(A)

(B)

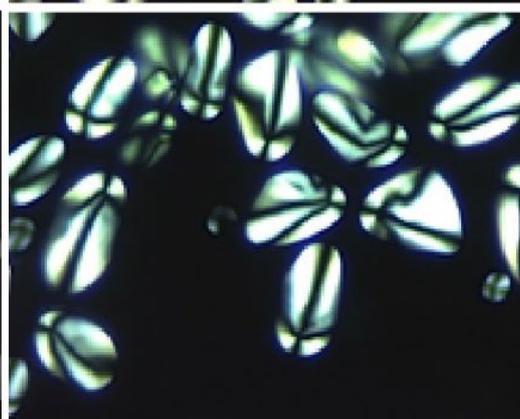
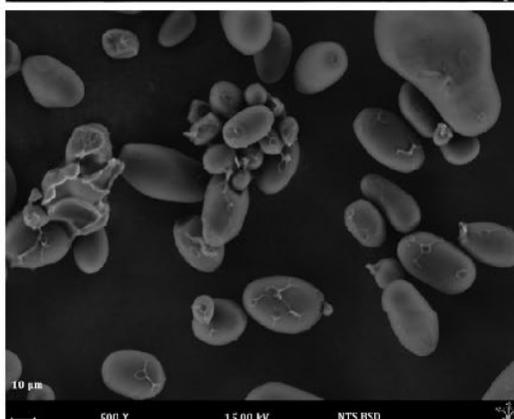
IB-OSA



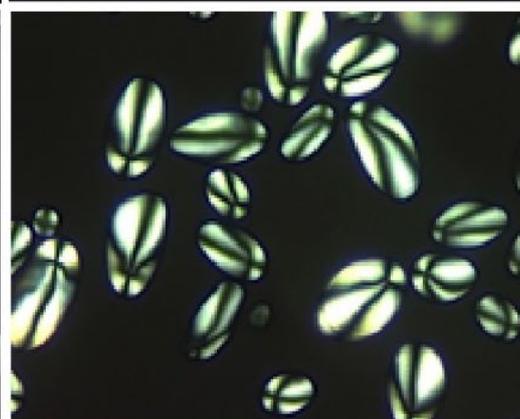
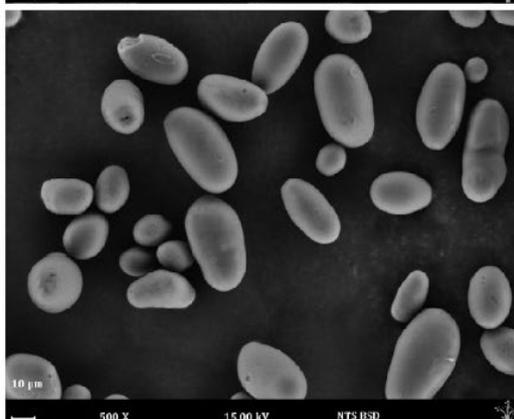
IB-US-OSA



IN-OSA



IN-US-OSA



«continuación»

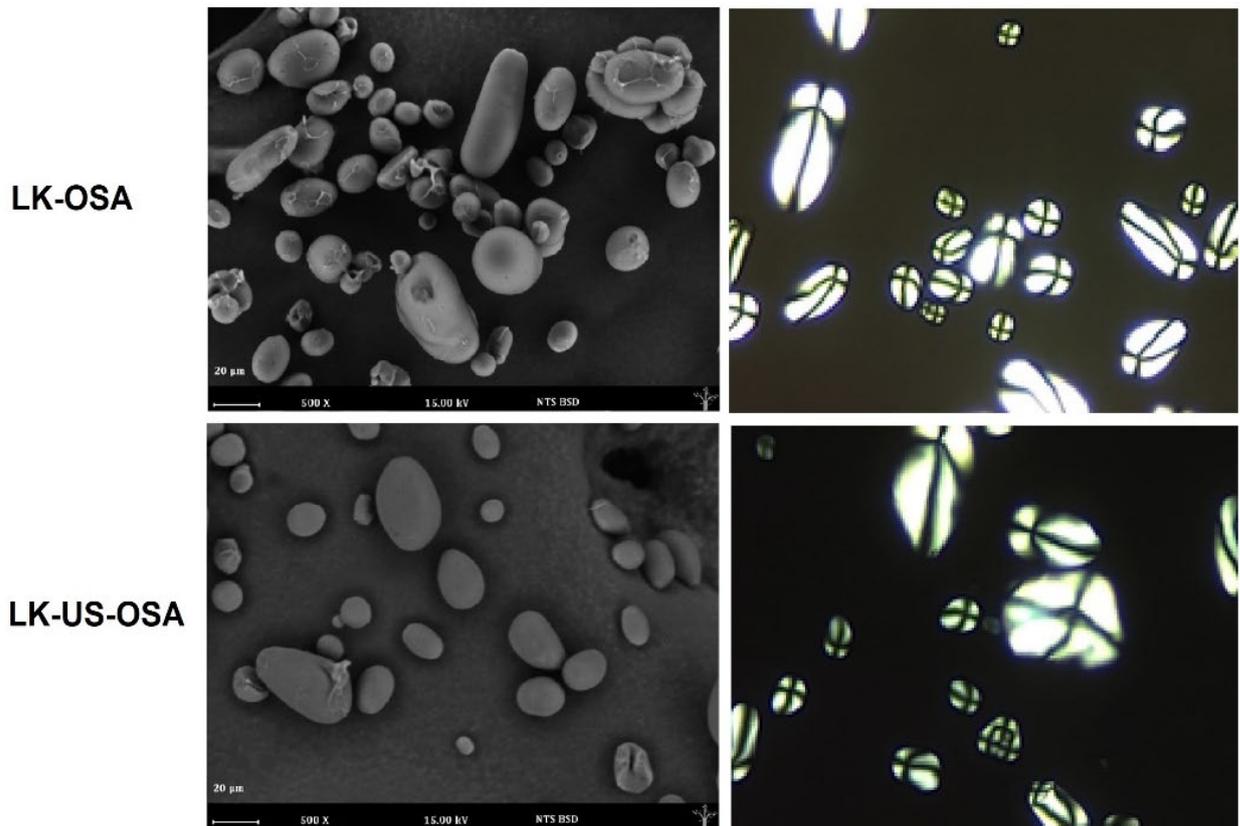


Figura 17: Micrografías de MEB (columna A) y MLP (columna B) de los almidones OSA y US-OSA

El almidón IN-OSA mostró algunos gránulos con los bordes deformados, este patrón para los almidones esterificados de papa también fue informado por Hui *et al.* (2009), Ovando-Martínez *et al.* (2016) y Wang *et al.* (2013). Según Ovando-Martínez *et al.* (2016) las gotas del reactivo OSA pueden reaccionar con la superficie del gránulo dependiendo de su tamaño, y pueden pelar su superficie causando daños. Presumiblemente, solo el reactivo OSA bien dispersado en el agua podría penetrar en los gránulos de almidón, y llegar por los canales y cavidades interiores (Shogren *et al.* 2000; Zhang *et al.* 2020). A pesar del tratamiento con ultrasonido y la esterificación con OSA (US-OSA), la forma de cada gránulo permaneció casi intacta, con algunas pequeñas fisuras visibles en la superficie de los gránulos de IN-US-OSA (Figura 17, columna A); tendencia similar fue reportada por Bai *et al.* (2017) y Monroy *et al.* (2018).

Según Atrous *et al.* (2015), la cruz de Malta en los gránulos de almidones nativos y modificados bajo microscopía de luz polarizada revela la estructura semicristalina de los

gránulos. En esta investigación, los gránulos de almidones OSA y US-OSA mostraron una fuerte birrefringencia bajo MLP (Figura 17, columna B) tal como lo reporta Peña (2017) para sus contrapartes nativas. A pesar de que algunas fisuras y poros se observaron en los almidones US-OSA, el tratamiento con ultrasonido no alteró considerablemente la superficie de los gránulos (Bai *et al.* 2017; Sun *et al.* 2019; Zhang *et al.* 2019). Los gránulos de los almidones IN-OSA e IN-US-OSA mostraron esta tendencia, y se podría sugerir que la profundidad de los poros no fueron lo suficientemente grandes como para afectar su estructura interna. Las micrografías de MEB y MLP mostraron que las microestructuras superficiales e internas, respectivamente, de los gránulos de almidón US-OSA presentaron una ligera alteración después de estas dos modificaciones (física y química).

c. Distribución de tamaño de partícula

La distribución del tamaño de partícula de los almidones OSA y US-OSA se muestra en la Figura 18. Se observó un aumento aparente en el tamaño de los gránulos de los almidones esterificados (OSA y US-OSA) en comparación con sus contrapartes nativas. Este patrón análogo también fue reportado por Timgren *et al.* (2013) y Bello-Flores *et al.* (2014). Timgren *et al.* (2013) informaron que el aumento en el tamaño de los gránulos de almidón OSA se debió a su agregación causada por la hidrofobicidad de los almidones OSA. Sin embargo, el tratamiento asistido por ultrasonido podría inducir la desintegración de grandes aglomerados de almidón (Yang *et al.* 2019a). En el Cuadro 12 se muestra el tamaño de partículas en distribución acumulativa (percentil) y *span*. El percentil por volumen estuvo dentro del rango de 14,5-16,2 μm , 32,3-37,1 μm y 58,5-92,2 μm de almidones US-OSA para D₁₀, D₅₀, y D₉₀, respectivamente. Los almidones US-OSA mostraron picos estrechos (10-100 μm) en comparación con los OSA (Figura 18), esto podría deberse a la desintegración de los gránulos aglomerados. Además, como era de esperar, los valores de *span* para los almidones USA-OSA fueron menores (1,20-2,09) que para los OSA (2,73-2,93). Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para estos parámetros entre los tipos de almidón y los tratamientos OSA y US-OSA (Anexo 10, Cuadro J, J.1, J.2).

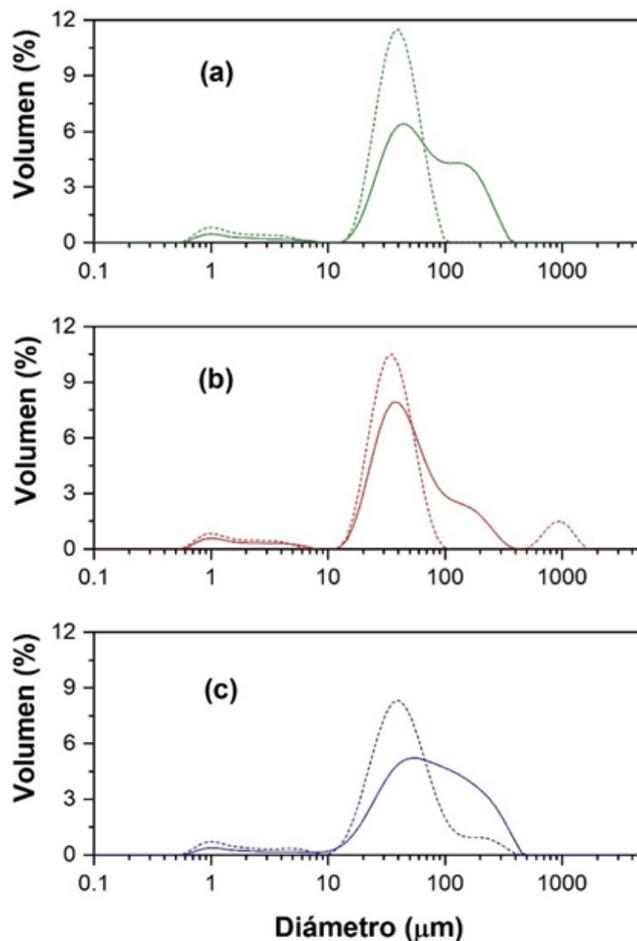


Figura 18: Distribución del tamaño de partícula de los almidones OSA (línea continua) y US-OSA (línea discontinua): (a) IB, (b) IN y (c) LK

Cuadro 12: Parámetros de distribución de tamaño de partícula de los almidones OSA y US-OSA

Almidón	Tratamiento	D ₁₀ (µm)	D ₅₀ (µm)	D ₉₀ (µm)	Span
IB	OSA	22,15 ± 0,13 ^{c,y}	56,44 ± 1,07 ^{b,y}	176,44 ± 1,27 ^{a,y}	2,73 ± 0,07 ^{a,y}
	US-OSA	16,65 ± 0,03 ^{c,x}	34,83 ± 0,08 ^{b,x}	58,52 ± 0,38 ^{a,x}	1,20 ± 0,01 ^{a,x}
IN	OSA	18,04 ± 0,22 ^{a,y}	40,93 ± 0,14 ^{a,y}	133,81 ± 1,79 ^{a,y}	2,83 ± 0,03 ^{b,y}
	US-OSA	15,01 ± 0,25 ^{a,x}	32,38 ± 0,35 ^{a,x}	65,70 ± 11,47 ^{a,x}	1,56 ± 0,33 ^{b,x}
LK	OSA	19,97 ± 0,46 ^{b,y}	64,57 ± 1,72 ^{c,y}	207,80 ± 15,65 ^{b,y}	2,91 ± 0,16 ^{c,y}
	US-OSA	14,52 ± 0,08 ^{b,x}	37,10 ± 0,13 ^{c,x}	92,20 ± 1,47 ^{b,x}	2,09 ± 0,03 ^{c,x}

Valores promedio ± desviación estándar seguidos de las letras a, b, c indican diferencias estadísticamente significativas entre los almidones IB, IN y LK ($p < 0,05$); las letras x, y indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos OSA y US-OSA ($p < 0,05$)

El pretratamiento con ultrasonido disminuyó la agregación, es probable que la acción mecánica y la cavitación hicieron que durante el tratamiento ultrasónico los gránulos de almidón se fracturaran en partículas pequeñas (Wang *et al.* 2020), y los fragmentos pequeños de almidón se volvieron a unir en gránulos nuevos cuando fueron sometidos al tratamiento de esterificación con OSA. Así, los almidones US-OSA mostraron un diámetro de gránulo menor que los almidones OSA debido a la sonicación, pero mayor que sus contrapartes nativas (Sección 4.1.3).

d. Cristalinidad

Los almidones OSA y US-OSA no mostraron diferencias notables en su estructura cristalina, ambos tratamientos para cada almidón presentaron un patrón de difracción tipo B con fuerte reflexión; los que fueron análogos a los de sus contrapartes nativas (Sección 4.1.6). Los difractogramas de los almidones OSA y US-OSA (Figura 19a, b, c) mostraron picos a 2θ 5,8°, 15°, 17°, 22,2° y 24,1°, que fueron similares a los reportados por Wang *et al.* (2016) y Bai *et al.* (2017).

La esterificación con OSA tuvo lugar mayoritariamente en la región amorfa (Hui *et al.* 2009; López-Silva *et al.* 2019), lo que no afectó la cristalinidad de los almidones esterificados con respecto a los nativos (Sección 4.1.6) (Hui *et al.* 2009; Bai *et al.* 2014; Gao *et al.* 2014; Won *et al.* 2017). Los porcentajes de cristalinidad oscilaron entre 32,6 por ciento (LK-US-OSA) y 36,0 por ciento (IB-OSA). La cristalinidad de los almidones IB-US-OSA y LK-US-OSA disminuyó significativamente en comparación con los almidones OSA homólogos; en esta línea, Yang *et al.* (2019b) y Luo *et al.* (2008) indicaron que el tratamiento de ultrasonido no impartió casi ningún efecto sobre la estructura cristalina del almidón.

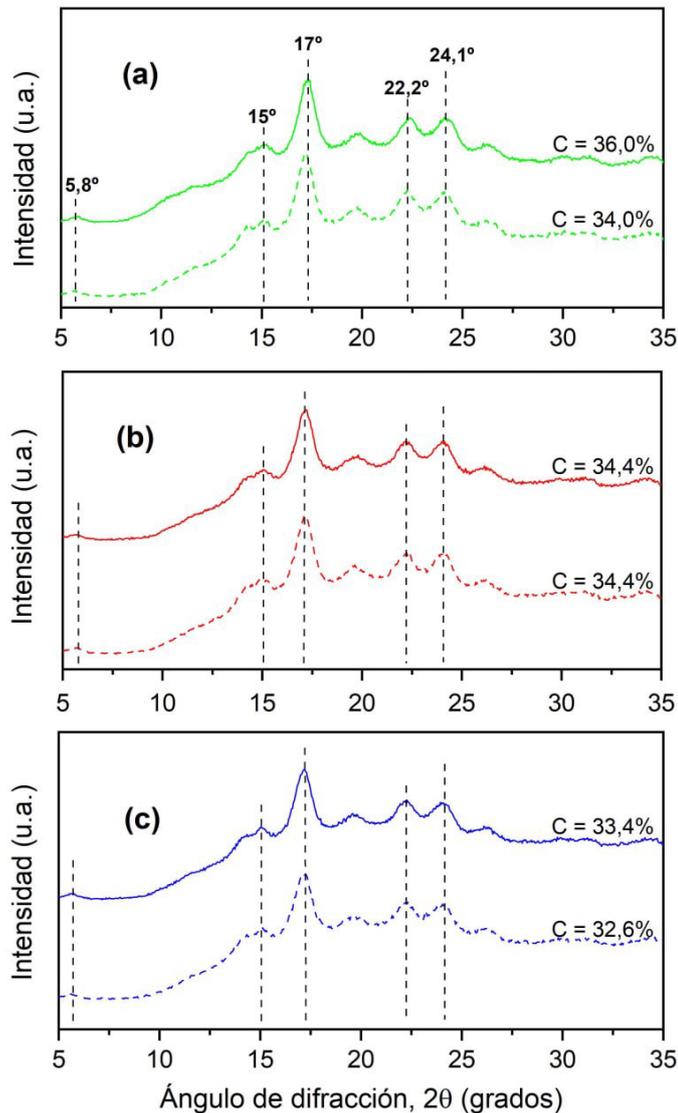


Figura 19: Patrones de difracción y cristalinidad relativa (C) de los almidones OSA (línea continua) y US-OSA (línea discontinua): (a) IB, (b) IN y (c) LK

e. Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)

Según Sevenou *et al.* (2002), Ambigaipalan *et al.* (2011), Ambigaipalan *et al.* (2014) y Warren *et al.* (2016) la espectroscopía FT-IR es usada para determinar el orden de corto alcance de los gránulos de almidón. Los almidones OSA y US-OSA mostraron dos nuevas bandas de absorción a 1726 cm^{-1} y 1572 cm^{-1} (Figura 20a, b, c), que corresponden a los grupos éster carbonilo y a la vibración de estiramiento asimétrico del carboxilato, respectivamente (Hui *et al.* 2009; Zhang *et al.* 2011) que se formaron por la esterificación. Los espectros de los almidones OSA y US-OSA (Figura 20) mostraron bandas de absorción idénticas principalmente debido al modo de vibración de la amilopectina y la amilosa, y a

un modo de vibración complejo (a un número de onda bajo) del anillo de glucopiranososa (Bai *et al.* 2017). Por lo tanto, con los espectros FT-IR fue posible confirmar que el pretratamiento con ultrasonido (almidones US-OSA) no rompió completamente las moléculas de almidón; además, ni se formaron nuevos enlaces químicos o grupos funcionales ni se perdieron. Los resultados de este estudio concuerdan con las observaciones informadas sobre el almidón de papa tratado con ultrasonido (Bai *et al.* 2017).

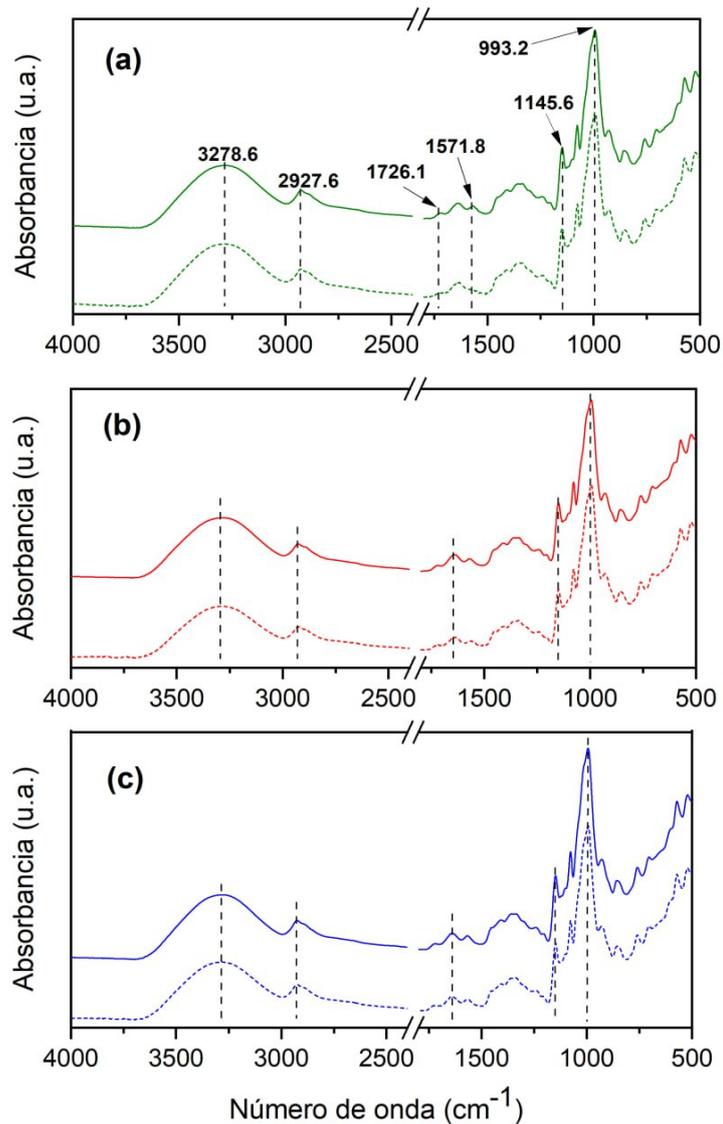


Figura 20: Espectroscopía infrarroja (FT-IR) de los almidones modificados OSA (línea continua) y US-OSA (línea discontinua): (a) IB, (b) IN y (c) LK

Los picos a 1047 cm^{-1} , 1022 cm^{-1} y 995 cm^{-1} se han relacionado con las estructuras ordenadas, estructuras amorfas y estructuras hidratadas, respectivamente. La región de la

huella dactilar del almidón ($1100-900\text{ cm}^{-1}$) está compuesta por estos picos superpuestos individuales que se obtienen mediante métodos de deconvolución. La Figura 21 muestra los resultados de deconvolución para el pico de la huella dactilar en esta región de los almidones IB-OSA y IB-US-OSA. En el Cuadro 13 se presentan los valores de R_1 y R_2 de los almidones OSA y US-OSA obtenidos con la deconvolución. Se observa que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las variedades IB e IN con LK para R_1 y R_2 (Anexo 11, Cuadro K, K.1); y también existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos OSA y US-OSA (Anexo 11, Cuadro K, K.1). Esta diferencia puede deberse a un orden modificado de la estructura de doble hélice debido a la incorporación de los grupos OS; la pérdida de este orden en los almidones esterificados en comparación con sus homólogos nativos podría estar relacionada con la reducción de las propiedades de gelatinización (Zhang *et al.* 2011). Finalmente, esto es consistente con los resultados del análisis DRX, que mostró que el tratamiento asistido por ultrasonido no afectó el ordenamiento de la estructura semicristalina de los gránulos de almidón, y que la modificación ocurrió principalmente en la región amorfa (He *et al.* 2006; Hui *et al.* 2009).

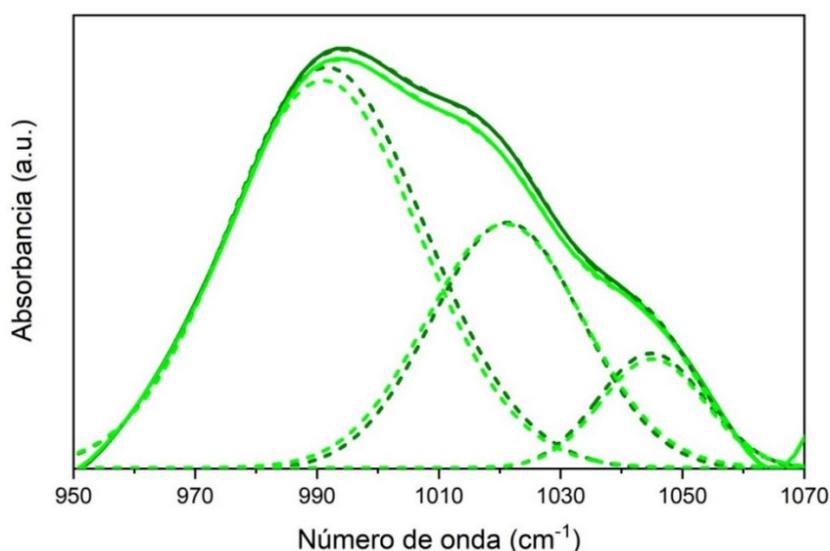


Figura 21: Ejemplo de señal FT-IR deconvolucionada en la región de la huella dactilar de los almidones IB-OSA (línea verde claro) e IB-US-OSA (línea verde oscuro)

Cuadro 13: Relación de intensidad y rangos cortos de alcance molecular de los almidones OSA y US-OSA

Almidón	Tratamiento	R ₁ (1047/1022 cm ⁻¹)	R ₂ (995/1022 cm ⁻¹)
IB	OSA	0,463 ± 0,005 ^{a,y}	1,624 ± 0,016 ^{a,y}
	US-OSA	0,428 ± 0,003 ^{a,x}	1,507 ± 0,023 ^{a,x}
IN	OSA	0,477 ± 0,005 ^{a,y}	1,613 ± 0,020 ^{a,y}
	US-OSA	0,426 ± 0,004 ^{a,x}	1,544 ± 0,011 ^{a,x}
LK	OSA	0,478 ± 0,026 ^{b,y}	1,661 ± 0,057 ^{b,x}
	US-OSA	0,458 ± 0,009 ^{b,x}	1,589 ± 0,022 ^{b,y}

Valores promedio ± desviación estándar seguidos de las letras a, b, c, indican diferencias estadísticamente significativas entre los almidones IB, IN, LK ($p < 0,05$); las letras x, y indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos OSA y US-OSA ($p < 0,05$)

f. Propiedades térmicas

El Cuadro 14 presenta las temperaturas de gelatinización y la entalpía de los almidones OSA y US-OSA, estos valores fueron ligeramente menores a los de sus homólogos nativos (Cuadro 1), esto podría deberse a que la esterificación afecta principalmente a las zonas amorfas (Shogren *et al.* 2000; Bai *et al.* 2014; Simsek *et al.* 2015), y no altera la estructura cristalina después de la modificación (Ovando-Martinez *et al.* 2016; Romero-Hernandez *et al.* 2021). Los grupos OS insertados en las regiones amorfas de amilosa y amilopectina desestabilizan la estructura organizada de los gránulos de almidón nativo, este efecto reduce las características de gelatinización de los almidones esterificados (Bello-Flores *et al.* 2014; Amini *et al.* 2015). Como afirman Carlos-Amaya *et al.* (2011) y Sweedman *et al.* (2013), estos resultados mostrarían que los grupos OS debilitaron las interacciones entre la amilosa y la amilopectina, permitiendo que los gránulos esterificados de almidón se hinchen y se fundan a temperaturas más bajas en comparación con sus formas nativas (Amini *et al.* 2015). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Anexo 12, Cuadro L.1) solo para la temperatura pico (Tp) entre los almidones OSA y US-OSA en los cultivares IN y LK.

Cuadro 14: Temperaturas de gelatinización y entalpías de los almidones OSA y US-OSA

Almidón	Tratamiento	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	ΔH (J/g)*
IB	OSA	54,93 ± 0,05 ^{c,x}	60,47 ± 0,11 ^{b,x}	67,02 ± 0,26 ^{b,x}	13,72 ± 0,55 ^{b,y}
	US-OSA	55,54 ± 0,17 ^{c,x}	60,45 ± 0,21 ^{b,x}	67,21 ± 0,39 ^{b,x}	12,36 ± 0,52 ^{b,x}
IN	OSA	54,49 ± 0,07 ^{b,x}	60,52 ± 0,09 ^{b,y}	67,66 ± 0,25 ^{c,x}	13,40 ± 0,54 ^{b,y}
	US-OSA	54,38 ± 0,08 ^{b,x}	60,33 ± 0,05 ^{b,x}	68,14 ± 0,11 ^{c,x}	12,93 ± 0,07 ^{b,x}
LK	OSA	52,54 ± 0,13 ^{a,x}	58,29 ± 0,00 ^{a,y}	65,05 ± 0,10 ^{a,x}	11,79 ± 0,24 ^{a,y}
	US-OSA	52,35 ± 0,16 ^{a,x}	57,38 ± 0,02 ^{a,x}	64,50 ± 0,06 ^{a,x}	11,55 ± 0,42 ^{a,x}

Valores promedio ± desviación estándar seguidos de las letras a, b, c, indican diferencias significativas entre los almidones IB, IN, LK ($p < 0,05$); las letras x, y indican diferencia significativa entre los tratamientos OSA y US-OSA ($p < 0,05$)

Al respecto, Jambrak *et al.* (2010) y Flores-Silva *et al.* (2017) informaron que el tratamiento con ultrasonido no alteró las temperaturas de gelatinización del almidón de maíz. Sin embargo, el Cuadro 14 muestra las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Anexo 12, Cuadro L.3) para la entalpía de gelatinización (ΔH) entre los almidones OSA y US-OSA, es decir, el tratamiento con ultrasonido produjo una disminución en ΔH , comportamiento que fue reportado por Zhang *et al.* (2020) para almidones de maíz esterificados y tratados con ultrasonido. Este patrón podría deberse a la desestabilización de las dobles hélices de la amilopectina y, por lo tanto, requiere menos energía para fundirse. Esto es coherente con la unión del grupo OS en las zonas amorfas de la amilosa y la amilopectina, mientras se mantienen las zonas cristalinas de la amilopectina, lo que se confirmó mediante análisis DRX y FT-IR.

g. Propiedades de formación de pasta

Es importante conocer las propiedades de formación de pasta de los almidones modificados para monitorear sus aplicaciones en la industria de alimentos (Ovando-Martínez *et al.* 2016). Las propiedades y el perfil de formación de pasta de los almidones esterificados se presentan en el Cuadro 15 y la Figura 22, respectivamente.

Cuadro 15: Propiedades de formación de pasta de los almidones OSA y US-OSA

Almidón	Tratamiento	TP (°C)	VP (mPa·s)	VI (mPa·s)	VF (mPa·s)	VR (mPa·s)
IB	OSA	56.6 ± 0.71 ^{c,x}	5742 ± 48 ^{c,y}	1689 ± 71 ^{b,y}	6070 ± 64 ^{b,y}	2356 ± 627 ^{a,y}
	US-OSA	58.1 ± 0.00 ^{c,y}	5283 ± 22 ^{c,x}	1124 ± 64 ^{b,x}	5388 ± 69 ^{b,x}	1639 ± 26 ^{a,x}
IN	OSA	56.2 ± 0.07 ^{b,x}	5430 ± 46 ^{b,y}	1710 ± 30 ^{c,y}	5946 ± 50 ^{b,y}	2459 ± 132 ^{b,y}
	US-OSA	56.1 ± 0.07 ^{b,y}	5213 ± 351 ^{b,x}	1594 ± 5 ^{c,x}	5509 ± 115 ^{b,x}	2151 ± 28 ^{b,x}
LK	OSA	54.1 ± 0.00 ^{a,x}	4447 ± 59 ^{a,y}	912 ± 16 ^{a,y}	5317 ± 8 ^{a,y}	2059 ± 119 ^{a,y}
	US-OSA	54.1 ± 0.00 ^{a,y}	4505 ± 86 ^{a,x}	1105 ± 29 ^{a,x}	4811 ± 82 ^{a,x}	1778 ± 177 ^{a,x}

Valores promedio ± desviación estándar seguidos de las letras a, b, c, indican diferencias significativas entre los almidones IB, IN, LK ($p < 0,05$); las letras x, y indican diferencia significativa entre los tratamientos OSA y US-OSA ($p < 0,05$)

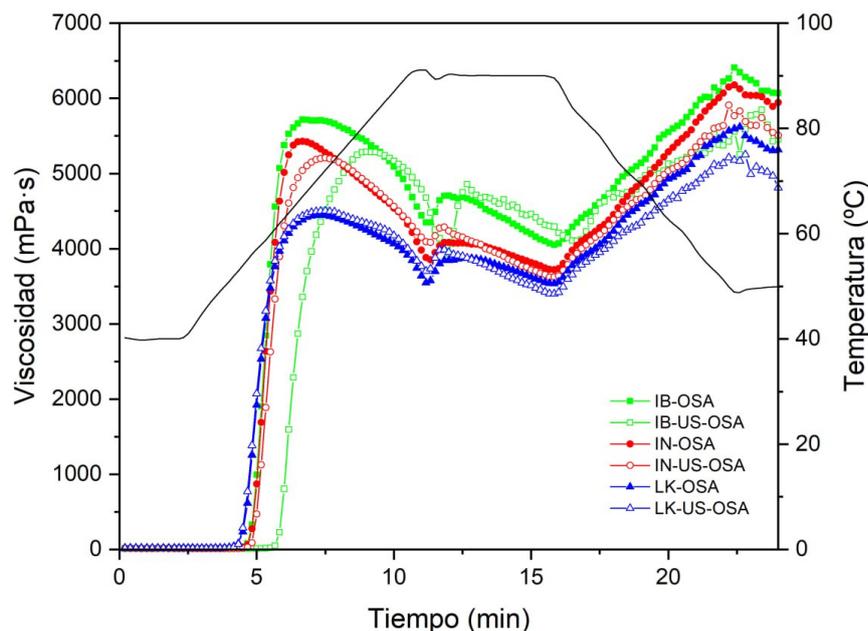


Figura 22: Perfil de formación de pasta de los almidones OSA y US-OSA

El gránulo de almidón hinchado, la amilosa lixiviada en el medio acuoso y las cadenas de amilosa y amilopectina reorganizadas están vinculadas con parámetros de formación de pasta después del proceso de calentamiento-mantenimiento-enfriamiento (Simsek *et al.* 2016). La incorporación en la cadena de almidón de los grupos OS mejora la capacidad de formación de pasta de los almidones y altera su estructura ordenada, por lo que los almidones modificados tienden a formar pasta a temperaturas más bajas y en menor tiempo (Song *et al.*

2006). Ambos procesos de esterificación disminuyeron la temperatura inicial de formación de pasta (TP) (54,1-58,1 °C) de los almidones OSA y US-OSA en comparación con sus contrapartes nativas (56,3-59,4 °C) (Sección 4.1.8). Esto podría deberse a que los grupos OS insertados en la cadena de almidón, la desestabilizan y la pasta se puede formar a una temperatura más baja en comparación con su contraparte nativa (Bello-Flores *et al.* 2014). La viscosidad pico (VP) para los geles de almidón OSA y US-OSA de los cultivares IB y LK aumentó en comparación con sus contrapartes nativas; sin embargo, los geles de almidón IN-OSA e IN-US-OSA mostraron una tendencia inversa respecto a su forma nativa. Por otro lado, la viscosidad de retrogradación (VR) y la viscosidad final (VF) para los geles de almidón OSA y US-OSA aumentaron en comparación con su forma nativa. Este patrón también fue encontrado por Bello-Flores *et al.* (2014), estos autores afirmaron que, debido a la esterificación los gránulos se hinchan a temperaturas más bajas, por lo que sus propiedades de formación de pasta mostraron valores más altos que sus contrapartes nativas. Respecto a estos parámetros de formación de pasta, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los almidones IB, IN y LK y entre los tratamientos OSA y US-OSA (Anexo 13, Cuadro M, M.1, M.2, M.3, M.4).

h. Comportamiento al flujo

En los productos alimenticios, el almidón es importante debido a su comportamiento pseudoplástico, pues tienen propiedades de suspensión a velocidades de cizallamiento bajas y valores de viscosidad bajos a velocidades de cizallamiento altas (Guo *et al.* 2015). Los parámetros de los modelos de Ley de Potencia y de Herschel-Bulkley para los almidones esterificados se presentan en el Cuadro 16; y los reogramas, según cada modelo, en la Figura 23. Respecto al modelo de la Ley de Potencia, los valores del coeficiente de consistencia (k) del almidón LK fueron mayores y mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) comparado con IB e IN (Anexo 14, Cuadro N). Todos los geles de almidón esterificados mostraron un comportamiento al flujo pseudoplástico ($n < 1$); sin embargo, los valores del índice de flujo (n) fueron más bajos para los geles de almidón OSA que para los US-OSA, y presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos OSA y US-OSA (Anexo 14, Cuadro N.1). Para el modelo de Herschel Bulkley, el umbral de fluencia (τ_0) representa un esfuerzo finito requerido para lograr el flujo del material, mostró una reducción para los almidones US-SOA comparados con los OSA. Los valores de τ_0 y k de los geles de almidones US-OSA mostraron diferencias estadísticamente

significativas ($p < 0,05$) respecto de los OSA (Anexo 14, Cuadro N.2, N.3, N.4); lo que indicaría que, el tratamiento asistido por ultrasonido provocó que los geles requirieran un esfuerzo menor para fluir mostrando una menor resistencia al flujo y al esfuerzo cortante. Por otro lado, los valores de n fueron ligeramente mayores que los obtenidos en el modelo de Ley de Potencia. El ajuste al modelo reológico de Herschel-Bulkley ($R^2 = 0,9997-0,9998$) presentó valores ligeramente mayores que para el modelo de Ley de Potencia ($R^2 = 0,9967-0,9978$).

Cuadro 16: Parámetros del modelo de Ley de Potencia y de Herschel-Bulkley que describen el comportamiento al flujo de los geles de almidón OSA y US-OSA

Modelo	Almidón	Tratamiento	τ_0 (Pa)	k (Pa.s ⁿ)	n	R^2
Ley de Potencia	IB	OSA	--	$18,52 \pm 0,87^{b,y}$	$0,43 \pm 0,00^{a,x}$	0,9977
		US-OSA	--	$14,91 \pm 0,91^{b,x}$	$0,44 \pm 0,00^{a,y}$	0,9977
	IN	OSA	--	$17,22 \pm 0,65^{b,y}$	$0,44 \pm 0,00^{a,x}$	0,9970
		US-OSA	--	$15,24 \pm 0,98^{b,x}$	$0,45 \pm 0,01^{a,y}$	0,9967
	LK	OSA	--	$16,12 \pm 0,61^{a,y}$	$0,43 \pm 0,00^{a,x}$	0,9976
		US-OSA	--	$12,67 \pm 0,39^{a,x}$	$0,45 \pm 0,00^{a,y}$	0,9978
Herschel-Bukley	IB	OSA	$5,61 \pm 0,66^{a,y}$	$14,52 \pm 0,63^{c,y}$	$0,47 \pm 0,00^{a,x}$	0,9998
		US-OSA	$4,60 \pm 0,47^{a,x}$	$11,71 \pm 0,64^{c,x}$	$0,48 \pm 0,00^{a,y}$	0,9998
	IN	OSA	$6,05 \pm 0,86^{b,y}$	$13,00 \pm 0,31^{b,y}$	$0,48 \pm 0,00^{b,x}$	0,9998
		US-OSA	$5,84 \pm 0,57^{b,x}$	$11,30 \pm 0,53^{b,x}$	$0,50 \pm 0,01^{b,y}$	0,9998
	LK	OSA	$4,94 \pm 0,75^{a,y}$	$12,61 \pm 0,44^{a,y}$	$0,47 \pm 0,00^{a,x}$	0,9997
		US-OSA	$3,95 \pm 0,45^{a,x}$	$10,00 \pm 0,12^{a,x}$	$0,49 \pm 0,00^{a,y}$	0,9998

Valores promedio \pm desviación estándar ($n=2$) seguidos de las letras a, b, c, indican diferencias significativas entre los almidones IB, IN, LK ($p < 0,05$); las letras x, y indican diferencia significativa entre los tratamientos OSA y US-OSA ($p < 0,05$)

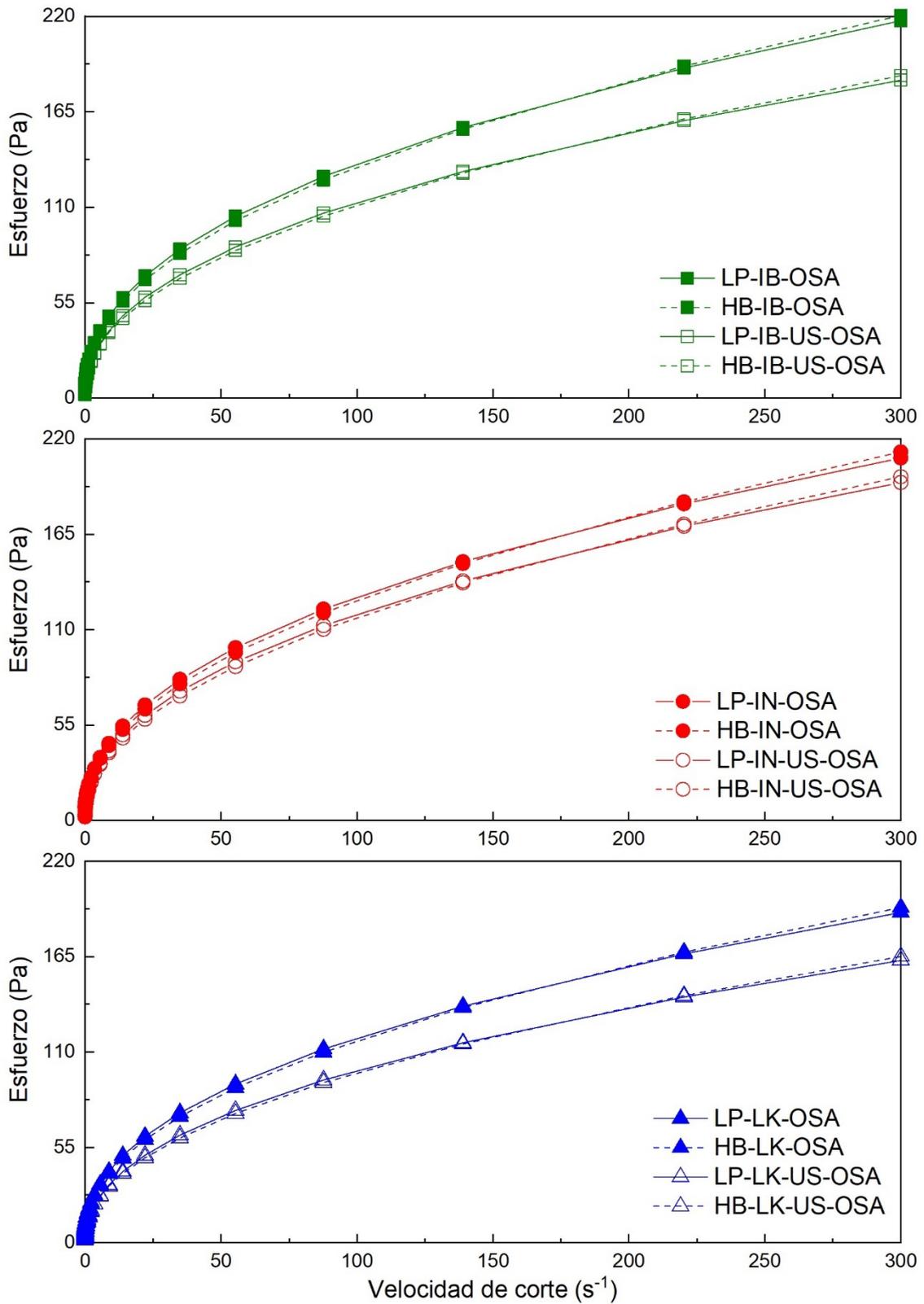


Figura 23: Propiedades de comportamiento al flujo en estado estacionario de los almidones modificados ajustados a los modelos de la Ley de la Potencia (LP) (línea continua) y de Herschel Bulkley (HB) (línea discontinua): (a) ■- IB-OSA, □- IB-US-OSA, (b) •- IN-OSA, ○- IN-US-OSA, (c) ▲- LK-OSA, △- LK-US-OSA

i. Propiedades viscoelásticas

- Barrido de amplitud

Upadhyay y Chen (2020) sostienen que el barrido de amplitud se emplea para determinar la región de viscoelasticidad lineal (RVL), en el cual, un material no sufre alteración estructural irreversible. Para los geles de almidón OSA y US-OSA, los módulos G' y G'' mostraron que la RVL estuvo entre los valores de 0,1 y 1 Pa, a 1 Hz de frecuencia constante; por lo que, se escogió el valor de 1 Pa para realizar el barrido de frecuencia (Figura 24). A partir de este valor, los módulos G' y G'' se interceptan en un valor determinado de esfuerzo (σ), en el cual los geles de almidón OSA y US-OSA, se pueden considerar como sólido viscoelástico ($G' > G''$). El mayor valor de σ para este cambio de comportamiento, lo presentaron los geles de almidón IN-US-OSA (88 Pa) e IB-US-OSA (110 Pa); es decir, fueron los que mostraron mayor resistencia al cambio. Los almidones OSA y US-OSA presentaron valores de G' mayores que los reportados para los almidones nativos (Peña 2017).

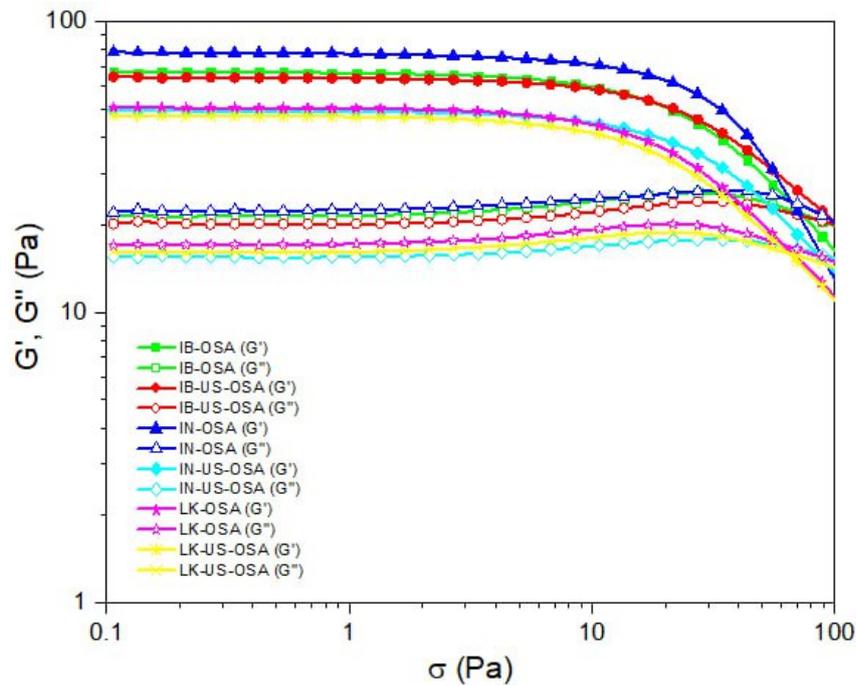


Figura 24: Barrido de amplitud para los geles de almidón OSA y US-OSA

- Barrido de frecuencia

El espectro mecánico (barrido de frecuencia) proporcionan más información sobre la estructura de los biomateriales (Kong *et al.* 2010); en este estudio, la naturaleza viscoelástica de los geles de almidón se evaluó en el rango de 0,01 a 10 Hz. Los espectros mecánicos

dinámicos de los geles de almidón OSA y US-OSA fueron típicos de una red de gel de biopolímero (Achayuthakan y Supphantharika 2008). El módulo de almacenamiento G' (17,88–144 Pa) mostró ligera tendencia a incrementar a medida que aumentaba la frecuencia; y se observó un patrón similar para el módulo de pérdida G'' (5,34–44,3 Pa). Se comprobó el comportamiento viscoelástico de los geles de almidones esterificados debido a que los valores de G' fueron mayores a los de G'' ($G' > G''$), es decir, se observó un predominio del carácter elástico sobre el viscoso. No se observó ningún cruce entre ambos módulos en todo el rango de frecuencia estudiado, lo que refleja la estabilidad de estos almidones y la dependencia de los módulos G' y G'' respecto de la frecuencia (Figura 25a, b). Estos resultados presentaron un comportamiento similar a lo reportados por Martínez *et al.* (2015) para los geles de almidón de papa nativa de la especie *Solanum phureja*.

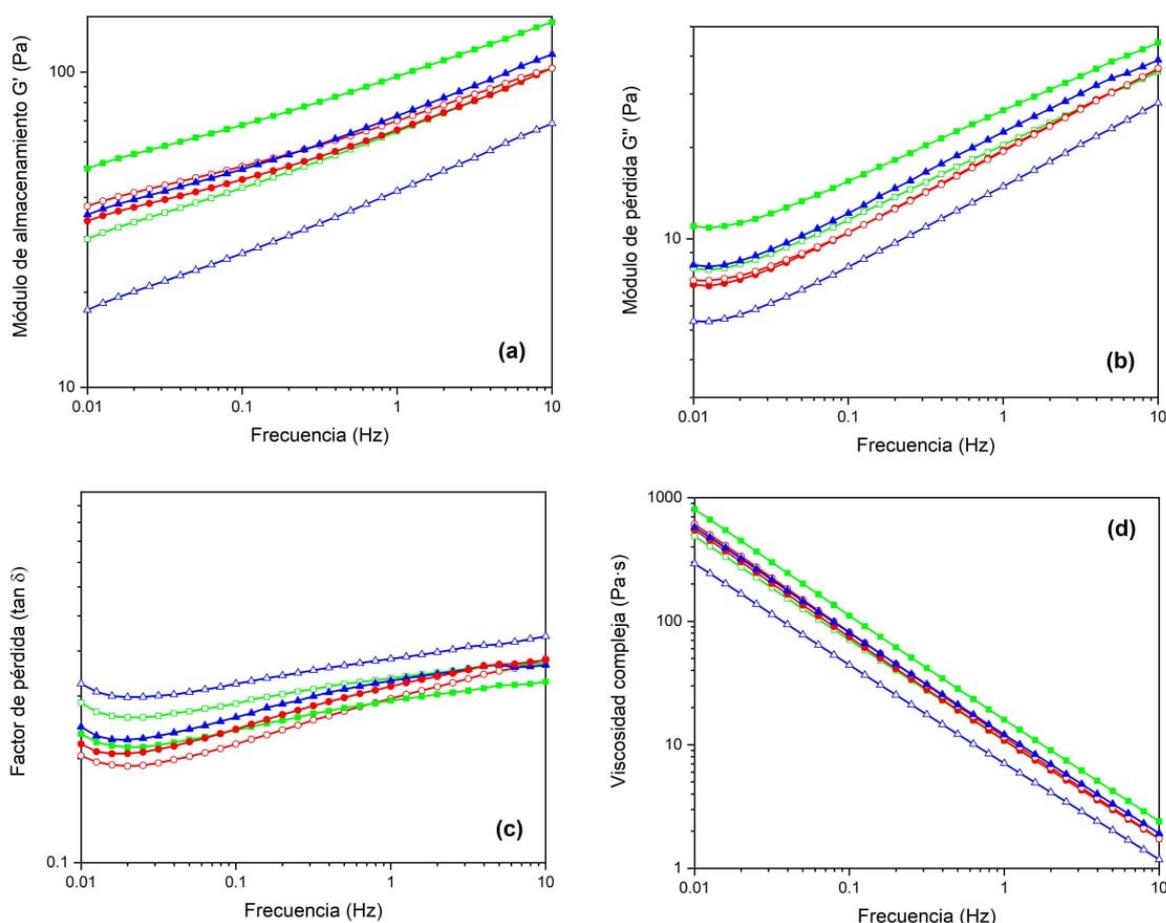


Figura 25: (a) Módulo G' como función de la frecuencia, (b) Módulo G'' como función de la frecuencia, (c) $\tan \delta$ como función de la frecuencia, (d) η^* como función de la frecuencia medidos a 25 °C para los geles de almidón modificados: ■- IB-OSA, □- IB-US-OSA, ●- IN-OSA, ○- IN-US-OSA, ▲- LK-OSA, △- LK-US-OSA

Los valores de $\tan \delta$ (G''/G') de los geles de almidones OSA y US-OSA variaron entre 0,18 y 0,44; es decir, fueron inferiores a 1, lo que indica que presentaron un comportamiento de naturaleza elástica. Estos valores fueron similares que los reportados para almidones de papa (0,208–0,325) (Cruz *et al.* 2016), y mayores que para almidón de trigo esterificado con OSA (0,06) (Punia *et al.* 2019a), almidones de frijol mungo esterificado con OSA (0,09–0,13) (Punia *et al.* 2019b), almidones de mijo perla (0,05–0,1) (Sandhu y Siroha 2017) y almidones de trigo (0,08–0,17) (Yousefi y Razavi 2015). Los valores de $\tan \delta$ obtenidos indican que los geles de almidón no pueden almacenar la energía dinámica aplicada, que se pierde parcialmente; por tanto, los geles no son fuertes a la concentración evaluada (4 por ciento). Un valor alto de G' y bajo de $\tan \delta$ están asociados con una mayor elasticidad y una estructura de gel más rígida; mientras que, un aumento de $\tan \delta$ durante el barrido de frecuencia indica un debilitamiento de la fuerza del gel (Li y Zhu 2017). Esta tendencia se observó en todos los almidones esterificados, que mostraron una estructura de gel más rígida hasta 0,025 Hz y un debilitamiento de este a partir de la frecuencia mencionada (Figura 25c). Respecto a la viscosidad compleja (η^*) (Figura 25d), los almidones OSA y US-OSA muestra una disminución de η^* con el aumento de la frecuencia (Kumar *et al.* 2019). Los almidones OSA y US-OSA presentaron valores de η^* (1,18–805,57 Pa·s) mayores que los de su contraparte nativa (0,674–138,47 Pa·s) (Peña 2017); por lo que, el proceso de esterificación tuvo un efecto sobre la estructura de los almidones nativos.

El Cuadro 17 presenta los valores de G' (16,71–28,27 Pa), G'' (7,35–10,21 Pa), $\tan \delta$ (0,35–0,44) y η^* (7,08–15,98) de los almidones esterificados obtenidos durante el barrido de frecuencia (evaluados a 1 Hz). Los valores de G' y G'' mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los almidones (IB, IN, LK) y tratamientos OSA y US-OSA (Anexo 15, Cuadro O, O.1), lo que se debería al tratamiento con ultrasonido. Además, en ambos tratamientos se observó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Anexo 15, Cuadro O.2) para los valores de $\tan \delta$ (< 1), lo que indicaría el comportamiento elástico de los geles. Es decir, los almidones OSA no pueden almacenar la energía dinámica aplicada, que se pierde en parte; por lo que, sus geles no son fuertes a la concentración evaluada (4 por ciento). Los valores de viscosidad compleja (η^*) a 1 Hz fueron mayores en los almidones OSA comparados con los US-OSA, observándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Anexo 15, Cuadro O.3) entre los

almidones (IB, IN, LK) y tratamientos; lo que indicaría que, los almidones OSA presentaron mayor resistencia total a la cizalla dinámica.

Cuadro 17: Módulo G' , módulo G'' , $\tan \delta$ y η^* a 1 Hz para los geles de almidones OSA y US-OSA

Almidón	Tratamiento	Parámetros viscoelásticos			
		G' (Pa)	G'' (Pa)	$\tan \delta$	η^* (Pa·s)
IB	OSA	26,11 ± 0,33 ^{b,y}	10,21 ± 0,03 ^{b,y}	0,39 ± 0,00 ^{b,x}	15,98 ± 0,11 ^{c,y}
	US-OSA	18,79 ± 0,43 ^{b,x}	7,90 ± 0,17 ^{b,x}	0,42 ± 0,00 ^{b,y}	10,88 ± 0,06 ^{b,y}
IN	OSA	28,27 ± 1,08 ^{c,y}	9,97 ± 0,21 ^{ab,y}	0,35 ± 0,01 ^{a,x}	12,09 ± 0,04 ^{a,y}
	US-OSA	21,41 ± 0,28 ^{c,x}	7,76 ± 0,17 ^{ab,x}	0,36 ± 0,01 ^{a,y}	10,80 ± 0,13 ^{c,x}
LK	OSA	25,07 ± 0,40 ^{a,y}	10,02 ± 0,10 ^{a,y}	0,40 ± 0,01 ^{c,x}	11,57 ± 0,05 ^{b,x}
	US-OSA	16,71 ± 0,31 ^{a,x}	7,35 ± 0,05 ^{a,x}	0,44 ± 0,01 ^{c,y}	7,08 ± 0,13 ^{a,x}

Valores promedio ± desviación estándar seguidos de las letras a, b, c, indican diferencias significativas entre los almidones IB, IN, LK ($p < 0,05$); las letras x, y indican diferencia significativa entre los tratamientos OSA y US-OSA ($p < 0,05$)

La tendencia creciente de G' y G'' con la frecuencia permitió modelar ambos módulos con la Ley de la Potencia (con las Ec. (4) y (5)). En el Cuadro 18 se presentan los valores de k' , k'' , n' y n'' para cada almidón esterificado. Los valores de k' y k'' variaron entre 16,94–29,13 Pa sⁿ y 0,07–0,24 Pa sⁿ, respectivamente. Los valores de k' fueron mayores a los reportados por Martínez *et al.* (2022) (7,58–18,01 Pa sⁿ); mientras que, los de k'' fueron menores a los reportados por Martínez *et al.* (2022) (7,58–18,01 Pa sⁿ) para geles de almidón de papas nativas y de Tuntas. Para estos dos parámetros se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Anexo 16, Cuadro P, P.2) entre los almidones (IB, IN, LK). Por otro lado, los valores de n' y n'' estuvieron en el rango de 0,20–0,25 a 1,22–1,55, respectivamente. Los valores de n' fueron menores que los de n'' , lo que sugiere que, el comportamiento viscoso de los geles de almidón OSA y US-OSA se volvió más importante en las frecuencias altas. Para estos dos parámetros se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Anexo 16, Cuadro P.1, P.3) entre los almidones (IB, IN, LK).

Cuadro 18: Parámetros de la Ley de Potencia para los módulos G' y G'' de los geles de almidones OSA y US-OSA

Almidón	Tratamiento	G'		G''			
		k' (Pa.s ⁿ)	n'	R^2	k'' (Pa.s ⁿ)	n''	R^2
IB	OSA	26,37 ± 0,34 ^{b,y}	0,22 ± 0,00 ^{b,x}	0,9991	0,16 ± 0,00 ^{b,x}	1,27 ± 0,00 ^{a,x}	0,9969
	US-OSA	18,73 ± 0,35 ^{b,x}	0,23 ± 0,01 ^{b,x}	0,9988	0,17 ± 0,02 ^{b,x}	1,33 ± 0,05 ^{a,x}	0,9969
IN	OSA	29,13 ± 1,23 ^{c,y}	0,20 ± 0,00 ^{a,x}	0,9934	0,07 ± 0,00 ^{a,x}	1,47 ± 0,01 ^{b,x}	0,9945
	US-OSA	22,12 ± 0,03 ^{c,x}	0,20 ± 0,02 ^{a,x}	0,9913	0,07 ± 0,04 ^{a,x}	1,55 ± 0,20 ^{b,x}	0,9936
LK	OSA	25,43 ± 0,78 ^{a,y}	0,23 ± 0,00 ^{c,x}	0,9979	0,17 ± 0,01 ^{c,x}	1,28 ± 0,04 ^{a,x}	0,9965
	US-OSA	16,94 ± 0,54 ^{a,x}	0,25 ± 0,00 ^{c,x}	0,9985	0,24 ± 0,01 ^{c,x}	1,22 ± 0,03 ^{a,x}	0,9971

Valores promedio ± desviación estándar seguidos de las letras a, b, c, indican diferencias significativas entre los almidones IB, IN, LK ($p < 0,05$); las letras x, y indican diferencia significativa entre los tratamientos OSA y US-OSA ($p < 0,05$)

4.2.2 Esterificación del almidón *Loc'ka* con ácido cítrico

a. Optimización de los parámetros del proceso de esterificación

En el Cuadro 19 se presenta la matriz experimental con 10 corridas realizadas según el diseño factorial 3^2 y los resultados obtenidos para las respuestas del estudio (experimental y predicha). El análisis de regresión lineal múltiple de los datos experimentales produjo modelos polinomiales de segundo orden para predecir los valores de viscosidad (Y_1 , mPa·s) y solubilidad (Y_2 , porcentaje), que se describen con las Ec. (21) y (22), respectivamente, como funciones de los factores en estudio (X_1 y X_2).

Los modelos de predicción para la viscosidad aparente y la solubilidad del almidón citrato son los siguientes:

$$\text{Viscosidad (mPa} \cdot \text{s)} = 7,2139 + 0,0658205 * X_1 - 0,524234 * X_2 - 0,00458116 * X_1^2 + 0,012239 * X_2^2 \quad (21)$$

$$\text{Solubilidad (\%)} = 11,0849 - 0,075411 * X_1 - 0,891603 * X_2 + 0,0139039 * X_1^2 - 0,00877778 * X_1 * X_2 + 0,0251571 * X_2^2 \quad (22)$$

Cuadro 19: Matriz de diseño experimental factorial con variables reales y resultados experimentales

Corrida	Factores		Respuestas			
	X ₁	X ₂	Y ₁ (Experimental)	Y ₁ (Predicha)	Y ₂ (Experimental)	Y ₂ (Predicha)
1	1	10	3,180 ± 0,182	3,257	4,738 ± 0,234	4,534
2	1	15	2,254 ± 0,148	2,165	3,271 ± 0,111	3,177
3	1	20	1,674 ± 0,071	1,686	2,783 ± 0,049	3,079
4	8.5	10	3,534 ± 0,098	3,423	3,694 ± 0,163	4,303
5	8.5	15	2,329 ± 0,146	2,332	2,710 ± 0,100	2,616
6	8.5	15	2,245 ± 0,050	2,332	2,742 ± 0,180	2,616
7	8.5	20	1,833 ± 0,114	1,852	2,575 ± 0,121	2,188
8	16	10	3,042 ± 0,089	3,075	6,039 ± 0,485	5,634
9	16	15	1,985 ± 0,167	1,984	3,303 ± 0,098	3,617
10	16	20	1,536 ± 0,059	1,504	2,768 ± 0,100	2,859

Factores: X₁ = Tiempo de reacción (h), X₂ = Concentración de ácido cítrico (porcentaje)

Respuestas: Y₁ = Viscosidad aparente (mPa·s), Y₂ = Solubilidad (porcentaje)

En el Cuadro 20 se presenta el análisis de varianza, con los coeficientes de los modelos propuestos y las significancias estadísticas de todos los efectos principales calculados para cada respuesta (viscosidad y solubilidad del almidón citrato optimizado). Los valores del punto central en las pruebas por triplicado fueron cercanos entre sí, lo que indica que los experimentos fueron reproducibles. Se puede apreciar los efectos cuadráticos para las variables respuestas; sin embargo, no se mostraron efectos de interacción de las variables concentración de ácido cítrico y tiempo de reacción en la respuesta viscosidad ($p > 0,05$). Asimismo, se mostró una falta de ajuste significativa ($p > 0,05$) en la variable respuesta viscosidad, lo que indicaría que el modelo propuesto fue insuficientemente exacto para predecir estas variables. La calidad de los modelos propuestos se investigó analizando los coeficientes de determinación (R^2) y los resultados de la prueba F (Cuadro 19). Los valores de R^2 (0,9685 y 0,8942 para la viscosidad aparente y la solubilidad, respectivamente) representan la proporción de la variabilidad experimental que es explicada por el modelo estadístico (ecuación de regresión) dentro de la región en estudio. La bondad del ajuste también fue confirmada por la prueba de falta de ajuste, como lo indica la falta de significancia ($p > 0,05$) para la respuesta viscosidad. Sin embargo, para la respuesta

solubilidad, el valor p estuvo muy próximo al nivel de significancia. Por lo que, dado que los valores de R^2 fueron ~ 1 , se puede afirmar que los modelos propuestos describen adecuadamente el proceso y predicen con relativa seguridad el comportamiento de las variables de respuesta para obtener almidón citrato óptimo (LKC) mediante esterificación.

Cuadro 20: Análisis de varianza y los coeficientes de regresión de los modelos cuadráticos para la viscosidad y la solubilidad del almidón citrato

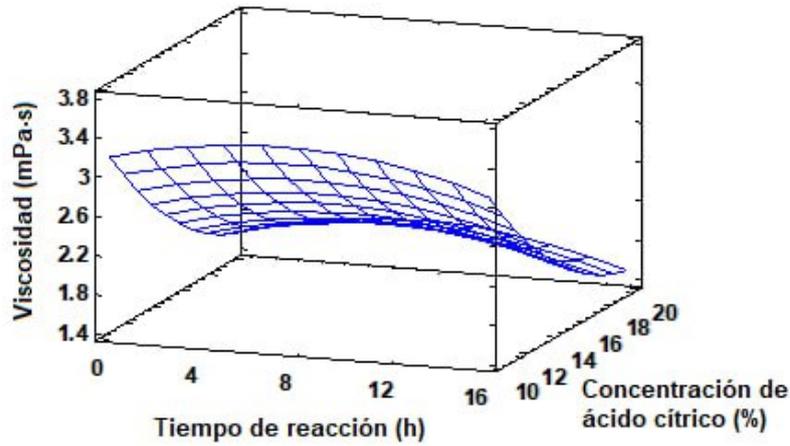
Fuente	gl	Viscosidad			Solubilidad		
		Coefficiente	F	p	Coefficiente	F	P
X_1	1	0,0658	15,42	0,0294*	-0,0754	46,30	0,0065*
X_2	1	-0,5242	1150,11	0,0001*	-0,8916	1073,04	0,0001*
X_{11}	1	-0,0046	48,14	0,0061*	0,0139	228,24	0,0006*
X_{12}	1	0,0000	0,00	0,9957	-0,0088	69,31	0,0036*
X_{22}	1	0,0122	67,87	0,0037*	0,0252	147,60	0,0012*
Falta de ajuste	19		2,00	0,3127		10,04	0,0408
Error puro	3						
Intercepto		7,2139			11,0849		
R^2		0,96857			0,89454		

X_1 – Tiempo de reacción (h), X_2 – Concentración de ácido cítrico (porcentaje), X_{12} – interacción de variables, gl – grados de libertad

*Significancia al nivel $p < 0,05$

Según el gráfico de superficie de respuesta, el mayor tiempo de reacción y concentración de ácido cítrico condujo a obtener un almidón citrato óptimo con menor viscosidad (Figura 26a); sin embargo, la solubilidad se incrementa cuando la concentración de ácido cítrico es menor y el tiempo de reacción es mayor (Figura 26b). La Figura 27 muestra la superficie de respuesta estimada según la función deseabilidad de las variables respuestas (viscosidad aparente y solubilidad) en función al tiempo de reacción (X_1) (h) y a la concentración de ácido cítrico (X_2) (porcentaje) en la optimización del proceso de obtención de almidón citrato óptimo. La deseabilidad es la combinación de las variables respuesta que resultan en un valor óptimo.

(a)



(b)

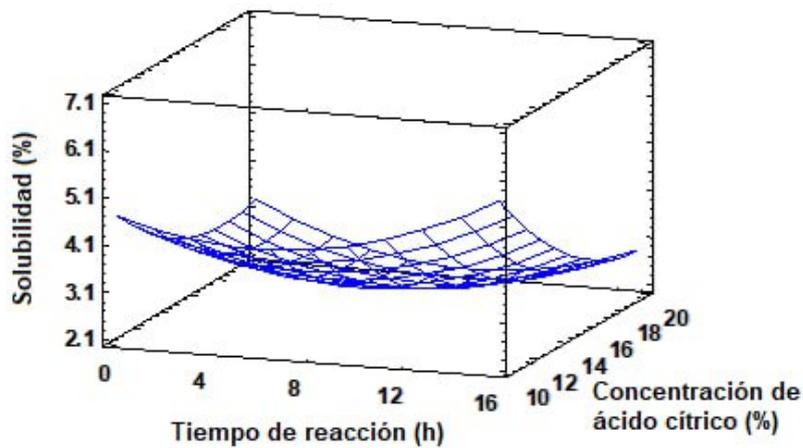


Figura 26: Superficie de respuesta para la viscosidad (a) y la solubilidad (b) en función al tiempo de reacción y concentración de ácido cítrico en la optimización de la obtención del almidón citrato

La función deseabilidad permitió determinar los óptimos de las variables respuesta: viscosidad y solubilidad, y las variables independientes: concentración de ácido cítrico y tiempo de reacción (Cuadro 21). Esta función evaluó diferentes niveles de las variables independientes para optimizar las variables respuesta, y obtener sus valores óptimos. Los valores óptimos de las variables independientes permitieron obtener el almidón citrato que presentó menor viscosidad y mayor solubilidad para que pueda ser usado como material de pared en la microencapsulación de extracto de semilla de palta concentrado (ESPC).

Cuadro 21: Comparación entre los valores experimentales y predichos por la función deseabilidad

Condiciones optimizadas	Valores
Concentración de ácido cítrico (porcentaje)	12,3373
Tiempo de reacción (h)	16
Valores predichos	Respuestas
Viscosidad (mPa·s)	2,48864
Solubilidad (porcentaje)	4,5342
Valores experimentales	Promedio \pm desviación estándar ^a
Viscosidad (mPa·s)	2,42 \pm 0,01
Solubilidad (porcentaje)	5,53 \pm 0,51

^a Basado en 6 repeticiones (n = 6)

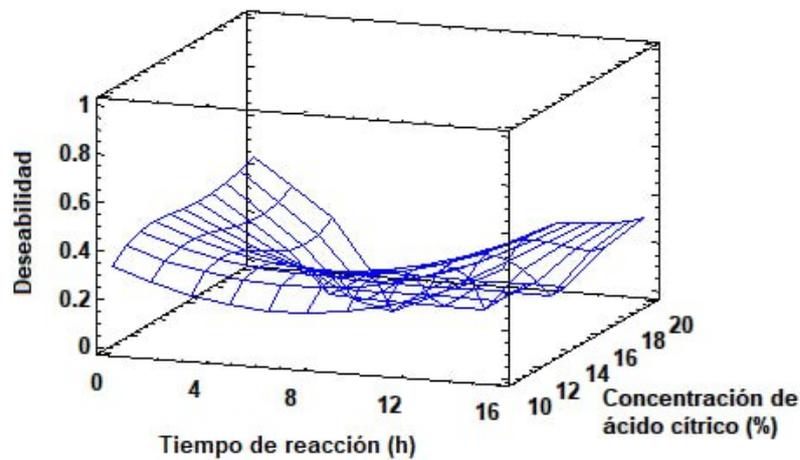


Figura 27: Representación de la superficie de respuesta estimada para la función deseabilidad de las respuestas viscosidad y solubilidad, en función al tiempo de reacción y concentración de ácido cítrico, para la optimización de la obtención del almidón citrato óptimo (LKC)

Las gráficas de los residuos versus la respuesta predicha para la viscosidad y la solubilidad se muestran en la Figura 28a y b, respectivamente; y se observa que no tienen un patrón obvio. Esto implica que los modelos propuestos son adecuados y no hay razón para sospechar ninguna violación del supuesto de independencia o varianza constante.

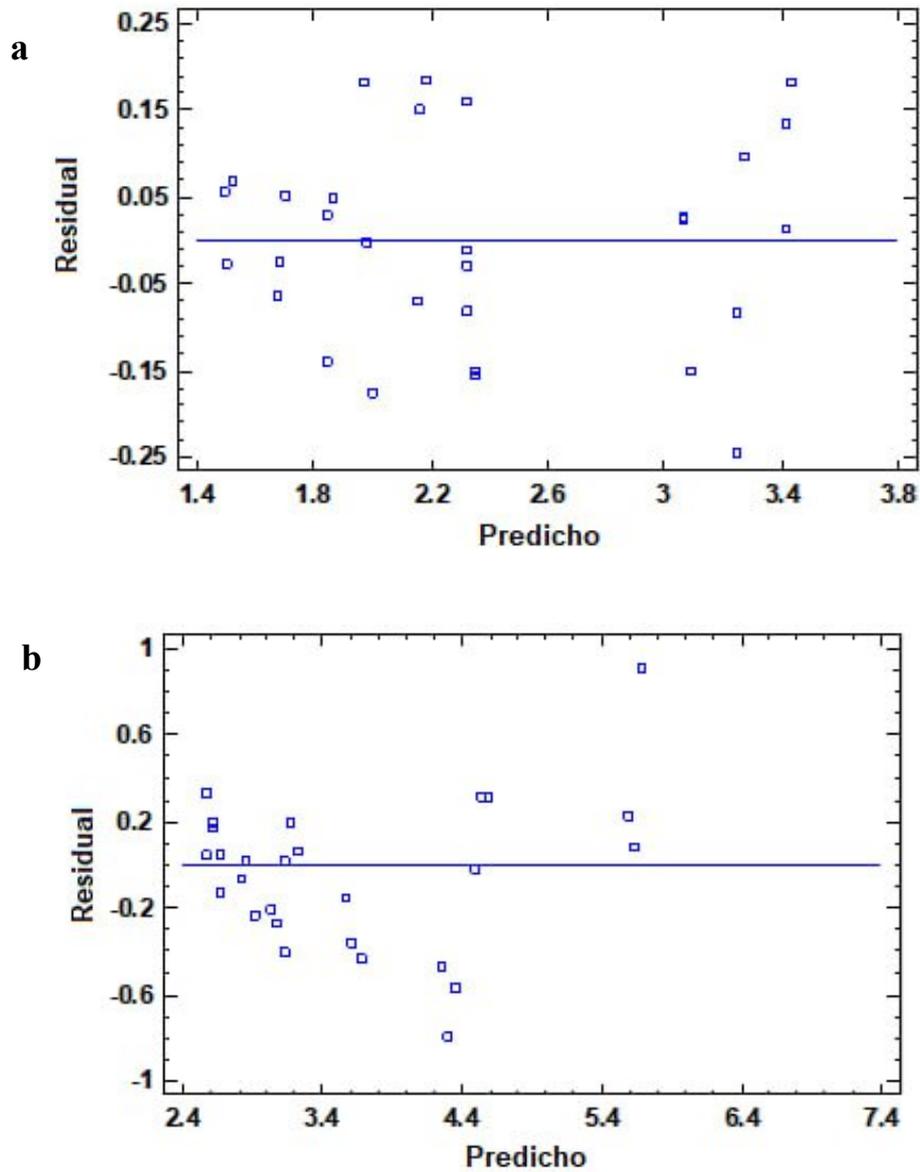


Figura 28: Ploteo de residuos versus respuesta predicha para la viscosidad (a) y solubilidad (b) del almidón citrato

4.2.3 Caracterización del almidón citrato óptimo (LKC)

a. Contenido de amilosa aparente, grado de sustitución (GS) y parámetros de color

El contenido de amilosa aparente del almidón LKC se determinó con el método espectrofotométrico, pero no formó el complejo yodo-amilosa de color azul que permite su cuantificación indirecta (Cuadro 22). Según Wing (1996), el ácido cítrico se deshidrata cuando se calienta, y forma especies de anhídrido muy reactivas; que, al reaccionar con el almidón, en condiciones de baja humedad, forma el almidón citrato. El ácido cítrico y sus especies de anhídrido pueden penetrar los gránulos de almidón a través de canales y

cavidades, alterando las regiones cristalina y amorfa de los gránulos; por lo que, se podría afirmar que la región amorfa se alteró completamente por este proceso de esterificación. Shin *et al.* (2007) encontraron que el tratamiento de almidón de arroz con ácido cítrico podría destruir parcialmente la amilopectina y la amilosa, y formar almidones de cadena corta.

Cuadro 22: Contenido de amilosa, grado de sustitución y parámetros de color del almidón citrato óptimo (LKC)

Parámetro analizado	LKC
Contenido de amilosa aparente (porcentaje)	No detectado
Grado de sustitución (GS)	0,046 ± 0,001
a*	0,08 ± 0,01
b*	2,24 ± 0,01
L*	96,09 ± 0,00
W (porcentaje)	95,50 ± 0,00

donde, a*, b*, L* and W son los parámetros de color
Valores promedio ± desviación estándar

Vikram *et al.* (2012) y Lv *et al.* (2022) sostienen que el grado de esterificación, que se cuantifica en términos GS, depende de la concentración de ácido cítrico y la temperatura, cuyo efecto principal es la introducción de grupos químicos en reemplazo de los grupos hidroxilo en las cadenas del almidón (Xie y Liu 2004; Lv *et al.* 2022). El GS del almidón esterificado está estrechamente relacionado con su estructura y propiedades, y su valor no está relacionado con el contenido de amilosa, esto indicaría que el proceso de esterificación ocurrió en los dominios amorfos, pues son más accesibles que los dominios cristalinos (Wing 1996). En este estudio, la esterificación del almidón LK presentó un GS de 0,046 (Cuadro 22). Este valor está en el rango de valores reportados por Jyothi *et al.* (2007) (0,005–0,063) para almidón citrato de yuca obtenido con asistencia de microondas y por Lv *et al.* (2022) (0,033–0,124) para almidón esterificado de chufa (*Cyperus esculentus*) con soluciones de ácido cítrico de 10 al 50 por ciento. Sin embargo, fue mayor a los reportados por Shin *et al.* (2007) (0,027) para almidón citrato de arroz y por Butt *et al.* (2019a, b) (0,018–0,022) para almidón citrato de arroz modificados con soluciones de ácido cítrico al 20 y 40 por ciento, respectivamente. Además, fue menor al reportado por Mei *et al.* (2015) (0,058–0,178) para almidón citrato de yuca modificado con soluciones de ácido cítrico de 10 al 30 por ciento. Los distintos valores de GS reportados podrían atribuirse a la diferencia de tipos de almidón

esterificados (Li *et al.* 2019). Al tratarse de una modificación con ácido cítrico, no existe un límite establecido por la FDA para el GS, pues el ácido cítrico es nutricionalmente inocuo y seguro para su consumo (GRAS) (Butt *et al.* 2019a, b).

Respecto a los parámetros de color del almidón LKC (Cuadro 22), este almidón mostró una alta luminosidad (L^*) que indicaría que es blanco y brillante (Wang *et al.* 2000). La blancura fue confirmada con el valor de W (95,5 por ciento). El valor de L^* se encuentra en el rango reportado para almidón citrato de ñame blanco (L^* 80,8–98,3) (Falade y Ayetigbo 2015). Por otro lado, los valores de a^* y b^* del almidón LKC indicarían menor intensidad de los colores rojo (a^*) y amarillo (b^*). Los valores encontrados en esta investigación fueron menores que los reportados por Falade y Ayetigbo (2015) para cuatro almidones citrato de ñame (a^* 2,3–3,8; b^* 4,7–9,4). Además, el almidón LKC presentó parámetros de color similares a los de su contraparte nativa ($L^* = 96,5$; $a^* = -0,18$; $b^* = 1,66$) que fueron reportados por Peña (2017); por lo que, se podría afirmar que la esterificación con ácido cítrico no alteró el color del almidón nativo (Alimi y Workneh 2018).

b. Microscopía electrónica de barrido (MEB) y de luz polarizada (MLP)

La Figura 29 (columna A) muestra las micrografías de MEB del almidón citrato óptimo (LKC). Los gránulos del almidón citrato presentaron diferentes morfologías con predominio de formas ovaladas (gránulos grandes) y redondeadas (gránulos pequeños), y algunos con superficies lisas y otras ásperas. Sin embargo, se observaron algunos detritos agregados en la superficie. Los gránulos conservaron su morfología sin fracturas, pero con erosión externa que parecía contener huecos pequeños después del tratamiento con calor y ácido cítrico. Liu *et al.* (2014) y Sánchez-Rivera *et al.* (2017) reportaron características similares en gránulos de almidón de maíz y de plátano inmaduro, respectivamente, tratados con ácido cítrico. Esta observación podría indicar que los tratamientos con calor y ácido cítrico solo modificaron la microestructura interna, junto con posibles cambios en la porosidad de la superficie de los gránulos (Sánchez-Rivera *et al.* 2017). Por otro lado, en las micrografías de MLP (Figura 29, columna B) de este almidón no se observa la cruz de Malta, que es el símbolo de la birrefringencia de los gránulos de almidón. Con estos resultados se corrobora que el tratamiento de esterificación alteró la estructura interna. Por esto, el efecto principal de la modificación por esterificación fue la introducción de grupos químicos en las cadenas del almidón, que se cuantificó en términos del grado de sustitución (Xie y Liu 2004).

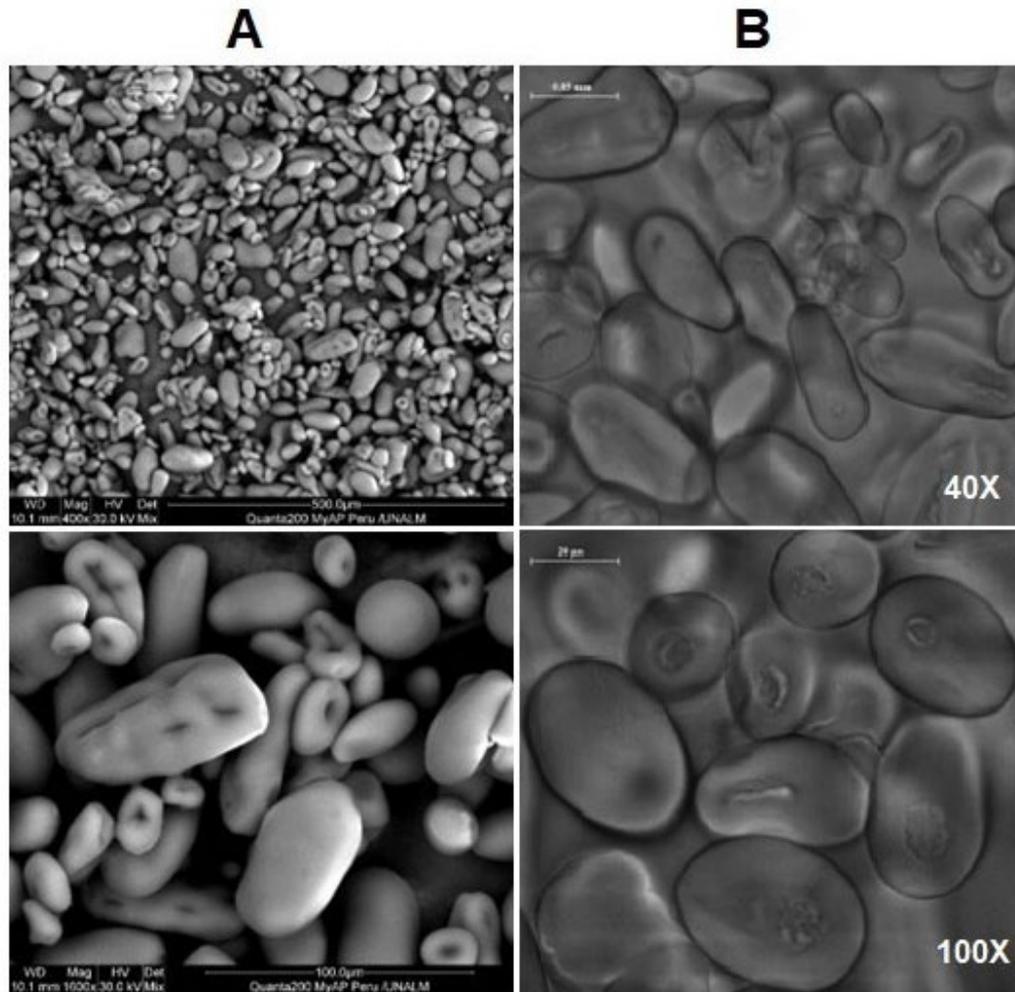


Figura 29: Micrografías de MEB (columna A) y de MLP (columna B) del almidón citrato óptimo (LKC)

c. Distribución de tamaño de partícula

El tamaño de los gránulos del almidón LKC mostró una distribución aproximadamente unimodal (0,6-111 μm) pero con dos poblaciones de gránulos muy pequeñas (0,6-3,6 μm y 3,6-12,7 μm) y poco definidas (flechas rojas). En la Figura 30, se puede comparar la distribución de tamaño del almidón LK con el de su contraparte nativa (LK) (11,2–51,8 μm) (Sección 4.1.3). La presencia de estas dos poblaciones pequeñas de gránulos podría deberse a una fragmentación de gránulos grandes durante el proceso de esterificación. Alimi y Workneh (2018) encontraron que la fuente de almidón y el método de modificación no afectaron el tamaño de los gránulos de los almidones de acha e iburu modificados con ácido cítrico; sin embargo, en este estudio se observa el efecto antes mencionado.

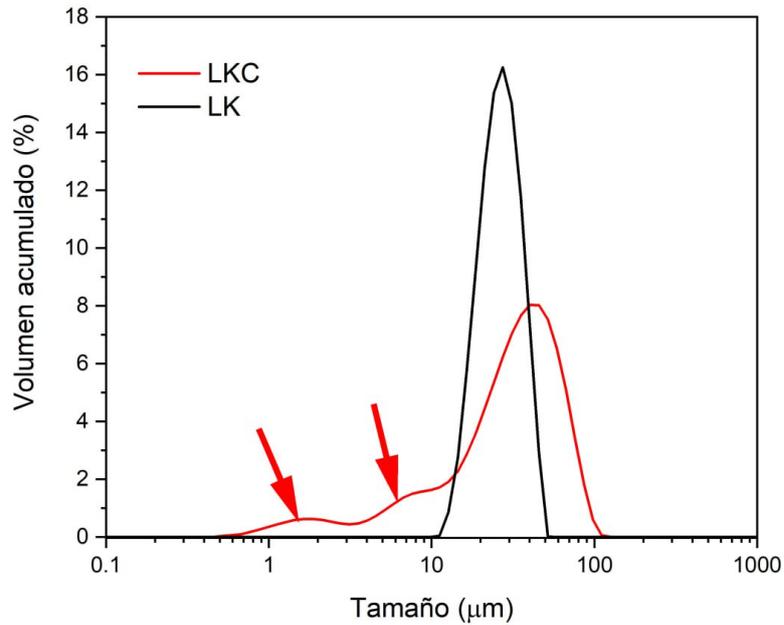


Figura 30: Distribución de tamaño de partícula del almidón citrato óptimo (LKC) y de su contraparte nativa (LK)

d. Cristalinidad

El patrón de difracción de rayos X y la cristalinidad relativa del almidón LKC se muestra en la Figura 31, y se observa un patrón de difracción tipo B con picos importantes en $2\theta = 5,7^\circ$, 15° , 17° , $22,2^\circ$ y $24,1^\circ$. Los picos cristalinos del almidón citrato se hicieron mucho más pequeños o incluso desaparecieron comparados con su contraparte nativa (Sección 4.1.5); es decir, la esterificación con ácido cítrico cambió el patrón de cristalinidad del almidón modificado. El tratamiento térmico ocasionó que el almidón LKC presentara un aumento de intensidad de pico de $5,6^\circ$ a $5,7^\circ$ y disminuyó la cristalinidad relativa a 6,3 por ciento, valor mucho menor que el de su contraparte nativa LK (33,4 por ciento). Esta disminución evidencia que el tratamiento térmico interrumpió la cristalinidad del almidón citrato, un efecto que puede atribuirse a la redistribución del agua unida. Durante el tratamiento combinado de calor y ácido cítrico, las moléculas del ácido se transportan al interior de los gránulos a través de cavidades y canales, alterando así la estructura cristalina de los mismos (Mei *et al.* 2015; Sánchez-Rivera *et al.* 2017). Esto podría deberse a que la incorporación de las especies de citrato en las cadenas de almidón permite la formación de arreglos moleculares altamente cruzados, que afectan tanto a las regiones cristalina como amorfa (Mei *et al.* 2015).

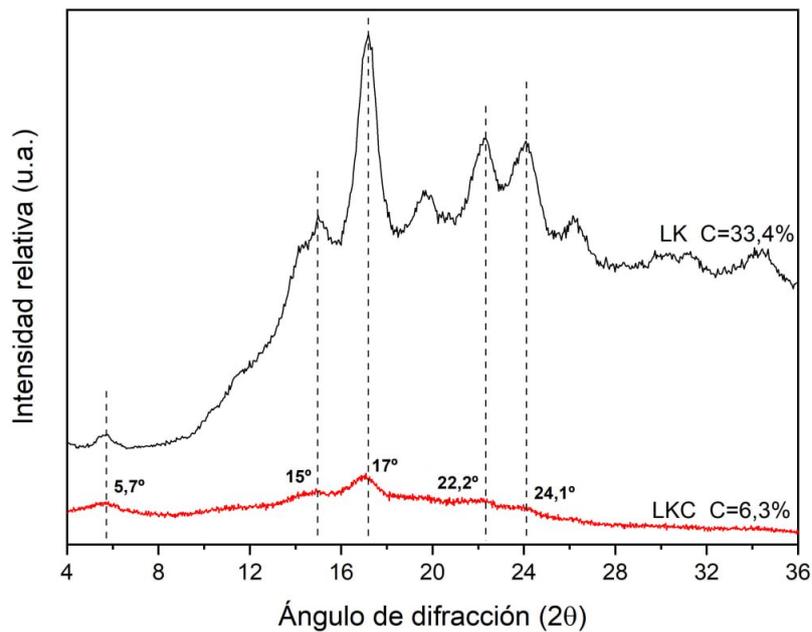


Figura 31: Diffractogramas del almidón citrato óptimo (LKC) y de su contraparte nativa (LK)

Según Mei *et al.* (2015), la cristalinidad del almidón está influenciada por: el contenido de amilopectina, la longitud promedio de la cadena de amilopectina, la orientación de las dobles hélices (dentro de los cristalitos) al haz de rayos X, y el tamaño de los cristalitos. Cuando el ácido cítrico penetra en los gránulos de almidón a través de canales y cavidades, podría alterar la estructura cristalina de los gránulos debido a una alta concentración. La reacción podría ocurrir tanto en la región amorfa como en la región cristalina. La sustitución de grupos citrato en las cadenas de almidón podría formar un almidón altamente reticulado y, por lo tanto, limitar la movilidad de la cadena de almidón.

e. Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)

Un espectro FT-IR está sujeto a cambios estructurales a nivel molecular como la helicidad, la conformación de la cadena de almidón, el contenido de agua y el proceso de retrogradación. FT-IR determina cuantitativamente el orden molecular de corto alcance en el almidón (Butt *et al.* 2019b). La Figura 32 muestra los espectros FT-IR del almidón citrato óptimo y de su contraparte nativa.

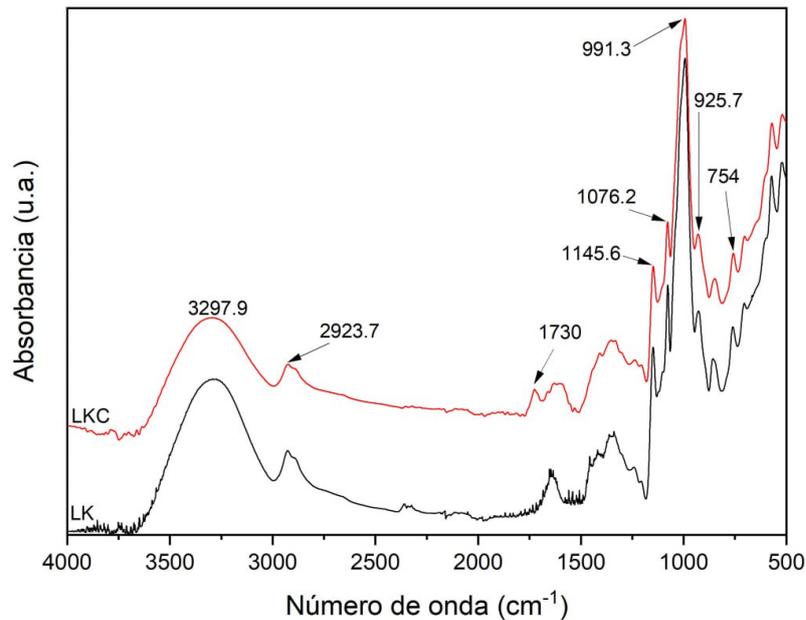


Figura 32: Espectros infrarrojos por Transformada de Fourier del almidón citrato óptimo (LKC) y de su contraparte nativa (LK)

La banda de absorción 754 cm^{-1} se asignó a las vibraciones del anillo C–O–C en el almidón (Shi *et al.* 2008, Sánchez-Rivera *et al.* 2017). Las bandas de absorción de $991,3\text{ cm}^{-1}$ y $925,7\text{ cm}^{-1}$ podrían asignarse a la flexión C–H (Xie *et al.*, 2006; Sánchez-Rivera *et al.* 2017). La banda de absorción a $1145,6$ y a $1076,2\text{ cm}^{-1}$ se asignaron como el acoplamiento del estiramiento, flexión y estiramiento asimétrico de los enlaces C–O, C–C y O–H del puente glicosídico C–O–C (Xie *et al.* 2006; Sánchez-Rivera *et al.* 2017). Una banda de absorción amplia a $3297,9\text{ cm}^{-1}$ y a $2923,7\text{ cm}^{-1}$ puede atribuirse al estiramiento de los enlaces O–H y C–H, respectivamente (Xie *et al.* 2006). La absorbancia a 1730 cm^{-1} (vibración de estiramiento del enlace C=O) es característica del almidón citrato y puede atribuirse al grupo éster característico del ácido cítrico (Xie *et al.* 2006; Butt *et al.* 2019b). La esterificación generalmente sustituye el grupo hidroxilo del almidón con un grupo carboxilo identificado en el espectro FT-IR del almidón LKC (1730 cm^{-1}) (Figura 33). Por lo que, la presencia de esta banda confirmó los enlaces químicos entre el ácido cítrico y el almidón (Reddy *et al.* 2010), que a su vez confirmó que, los grupos hidroxilo y carboxilo del ácido cítrico formaron enlaces covalentes con los grupos C–O en el almidón (Jiugao *et al.* 2005; Sánchez-Rivera *et al.* 2017). La Figura 33a muestra los resultados de deconvolución para el pico de la huella dactilar del almidón citrato óptimo.

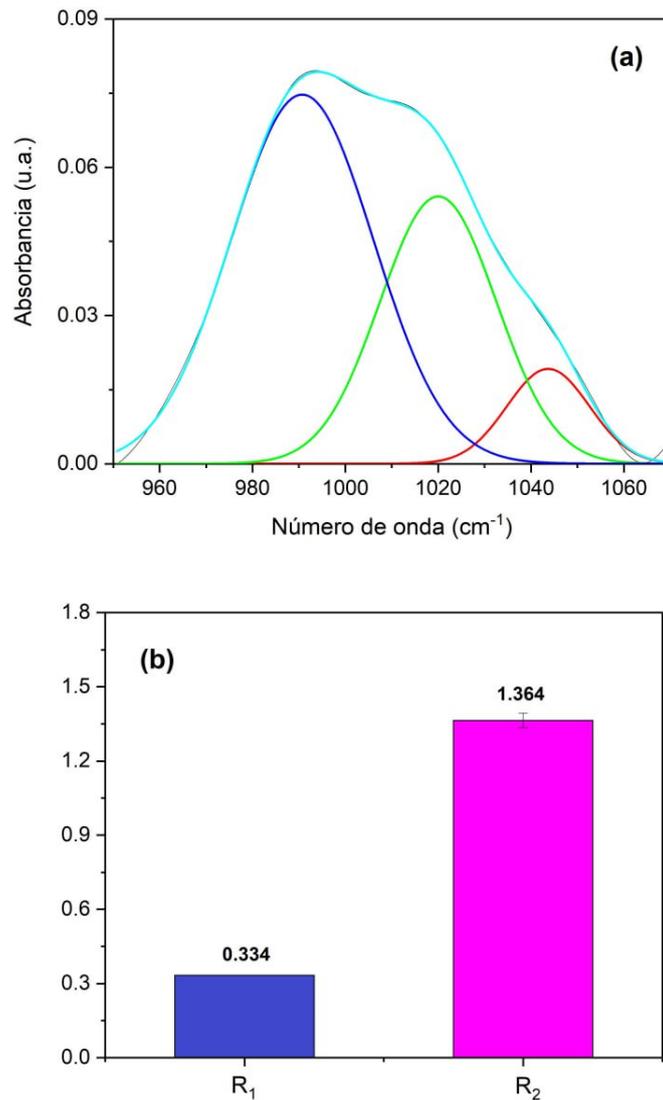


Figura 33: Deconvolución de espectro FT-IR del almidón citrato óptimo (LKC)

La relación de intensidad de 1047/1022 (R_1 = relación entre estructuras ordenadas y amorfas) y de 995/1022 (R_2 = relación entre estructuras hidratadas y amorfas) se muestran en la Figura 33b. Se observa que R_1 disminuyó y R_2 aumentó para el LKC en comparación con su contraparte nativa (LK). Esta diferencia puede deberse a un orden modificado de la estructura de doble hélice debido a la incorporación de los grupos carboxilo; la pérdida de este orden en los almidones esterificados en comparación con sus homólogos nativos podría estar relacionada con la reducción de las propiedades de gelatinización (Zhang *et al.* 2011).

f. Propiedades térmicas

En el Cuadro 23 se presentan las temperaturas y la entalpía de gelatinización del almidón citrato óptimo, las cuales disminuyeron en comparación con su contraparte nativa (Cuadro 1), luego del proceso de esterificación (Sánchez-Rivera *et al.* 2017). Las temperaturas de gelatinización (T_o , T_p y T_c) del almidón citrato LKC disminuyeron significativamente en comparación con el almidón LK, observándose transiciones endotérmicas entre 41 y 55 °C; lo que se debió a la ruptura de las dobles hélices durante la gelatinización, ocasionando la fusión de los cristalitos y, por tanto, requirió energía (Butt *et al.* 2019a). Se podría afirmar que la esterificación con ácido cítrico debilita la estructura interna del gránulo de almidón, lo que posteriormente provocó que estos se gelatinizaran a temperaturas más bajas. Este debilitamiento fue causado por grupos funcionales presentes en las cadenas poliméricas después de la modificación (Butt *et al.* 2019a).

Cuadro 23: Temperaturas y entalpía de gelatinización del almidón citrato óptimo (LKC)

Almidón	T_o (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	ΔH (J/g)*
LKC	41,2 ± 0,45	48,13 ± 0,05	54,71 ± 0,01	3,32 ± 0,12

Valores promedio ± desviación estándar

La entalpía de gelatinización del almidón citrato LKC disminuyó a 3,32 J/g porque el almidón esterificado fue capaz de resistir el hinchamiento y la gelatinización (Xie y Liu 2004). En comparación con su contraparte nativa (LK) (Cuadro 1), el almidón LKC mostró un pico endotérmico pequeño (Figura 34). Este resultado mostraría una ligera desorganización en la estructura interna de los gránulos de almidón LKC. Esto sería consistente con la disminución de la cristalinidad relativa obtenida en el análisis de DRX (Mei *et al.* 2015); similar comportamiento fue reportado por Sánchez-Rivera *et al.* (2017) y Mei *et al.* (2015) para harina de plátano y almidones esterificados de maíz y de yuca, respectivamente.

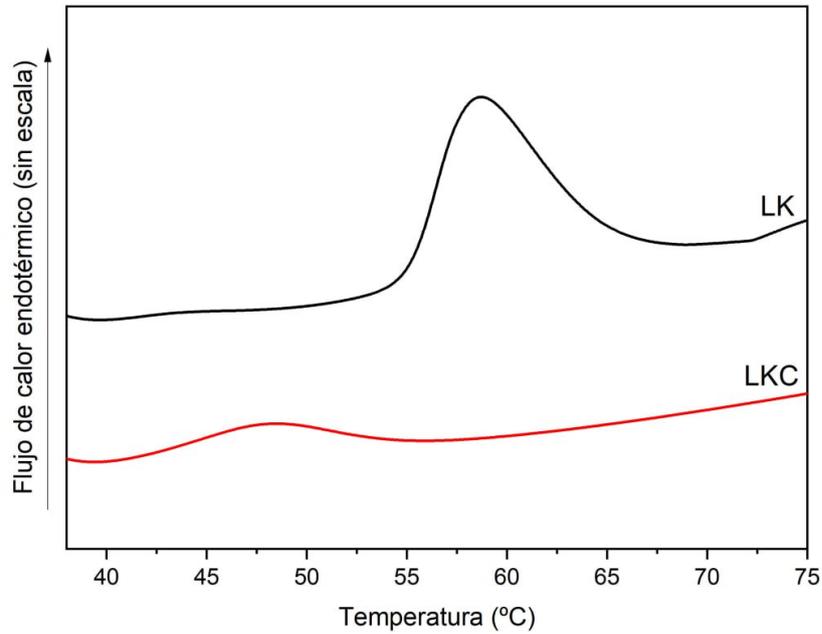


Figura 34: Pico endotérmico del almidón citrato óptimo (LKC) y de su contraparte nativa (LK) (Peña 2017)

La entalpía de gelatinización refleja la cantidad de hélices dobles en las regiones cristalinas que se funden durante la gelatinización (Cooke y Gidley 1992). Los resultados mostraron que la esterificación con ácido cítrico ocasionó una gran alteración de la disposición de las dobles hélices, un efecto que se puede atribuir a la formación de enlaces covalentes de citrato (Mei *et al.* 2015); es decir, se alteró el empaquetamiento de la cadena, lo que ocasionó el aumento de las regiones amorfas. De acuerdo con Xie y Liu (2004), los resultados indicarían que la estabilidad térmica del almidón citrato puede estar relacionada con el contenido de amilopectina y/o la estructura del almidón. Con la incorporación del citrato, la estructura de los gránulos del almidón puede alterar las asociaciones entre la amilosa y la amilopectina, y cada componente consigo mismo en los gránulos, lo que evita que los gránulos de almidón se hinchen (Xie y Liu 2004).

g. Propiedades de formación de pasta

Las propiedades de formación de pasta del almidón citrato óptimo (LKC) y el perfil de formación de pasta se presentan en el Cuadro 24 y Figura 35, respectivamente. La pasta del almidón citrato óptimo mostró una viscosidad pico baja (208 mPa·s); sin embargo, Xie y Liu (2004) reportaron 0 RVU para almidón citrato de yuca empleando un analizador rápido de viscosidad. El almidón citrato absorbió menos agua porque tendría un mayor contenido de

almidón resistente, y, en consecuencia, una menor viscosidad (Xie y Liu 2004); por lo que, el almidón citrato resiste el hinchamiento granular. El resultado obtenido sugiere que los gránulos de almidón citrato LKC resistirían la hinchazón granular, aunque mostraron un cierto grado de formación de pasta. En la Figura 35 se compara el perfil de formación de pasta, del almidón LKC (B) que mostró un pico de baja viscosidad comparado con su contraparte nativa (LK) (A); esto indicaría que, los gránulos del almidón citrato óptimo mostraron una gelatinización mínima.

Cuadro 24: Propiedades de formación de pasta del almidón citrato óptimo (LKC)

Almidón	TP (°C)	VP (mPa·s)	VI (mPa·s)	VR (mPa·s)	VF (mPa·s)
LKC	45,7 ± 0,26	208 ± 13	179 ± 13	17 ± 0	44 ± 0

donde, TP – temperatura de formación de pasta; VP – viscosidad pico; VI – viscosidad de inestabilidad; VF – viscosidad final; VR – viscosidad de retrogradación. Valores promedio ± desviación estándar

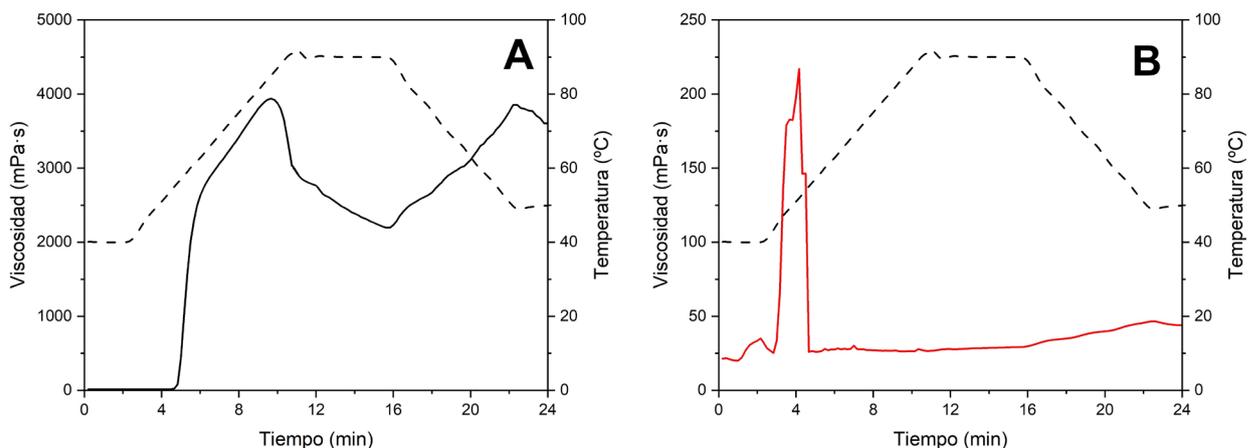


Figura 35: Perfil de formación de pasta del almidón nativo (LK) (A) y del almidón citrato (LKC) (B)

h. Propiedades reológicas

Comportamiento al flujo

Las curvas de comportamiento al flujo del almidón LKC y de su contraparte nativa (LK) se presentan en la Figura 36. Se observa que el almidón LKC presentó un valor de esfuerzo de corte mucho más bajo a diferentes velocidades de corte en comparación a su contraparte nativa (LK) (Peña 2017). El almidón LKC, al 4 por ciento (p/p), luego de la gelatinización, no formó gel como con el almidón LK; por lo que, los gránulos de mayor tamaño se

separaron del agua. Según Xie y Liu (2004) los gránulos del almidón citrato no forman geles durante el proceso de calentamiento debido a la sustitución del citrato en la cadena del almidón. Por otro lado, la esterificación del almidón LK con ácido cítrico tuvo un impacto diferente al de la esterificación con OSA sobre las propiedades reológicas del almidón, pues el almidón LKC presentó un comportamiento newtoniano, lo que se comprobó con el ajuste al modelo de la Ley de Potencia ($\eta \sim 1$) (Cuadro 25).

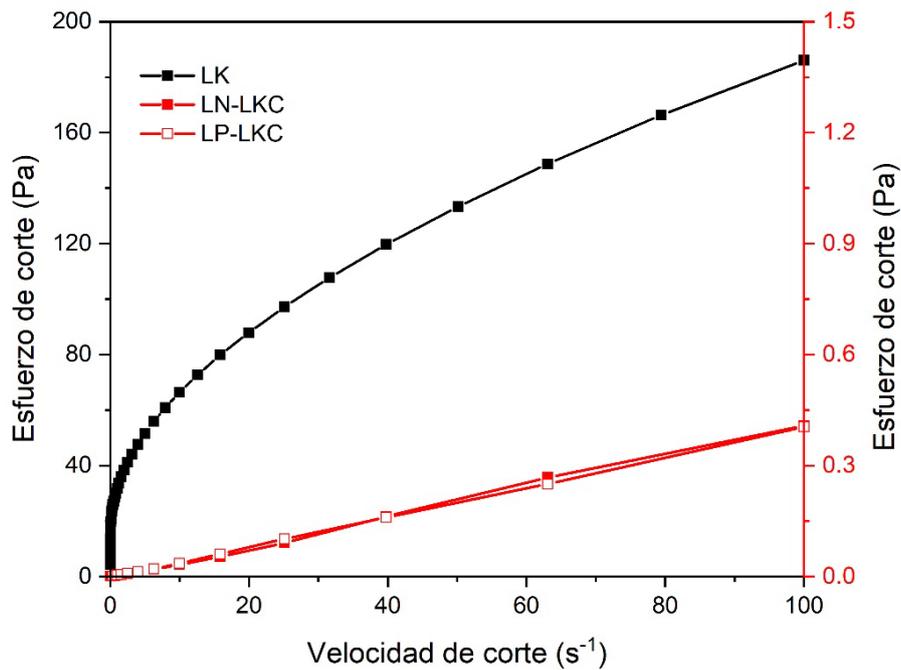


Figura 36: Comportamiento al flujo del almidón citrato óptimo ajustado a la Ley de Newton (LN-LKC) y Ley de la Potencia (LP-LKC) en comparación con su contraparte nativa (LK)

Cuadro 25: Parámetros de los modelos de Ley de Newton y Ley de la Potencia que describen el comportamiento al flujo del almidón citrato óptimo (LKC)

Modelo	μ (Pa·s)	n	k (Pa·s ⁿ)	R ²
Ley de Newton	0,0041 ± 0,0001	--	--	0,9958
Ley de la Potencia	--	0,9801 ± 0,06	0,0039 ± 0,0004	0,9901

Valores promedio ± desviación estándar (n=2)

Viscoelasticidad

Barrido de amplitud

Steffe (1996) señala que el barrido de amplitud se emplea para definir la resistencia estructural de un material. Para el caso de geles, se considera que un gel es fuerte cuando los módulos viscoelásticos (G' y G'') permanecen lineales por más tiempo en la región viscoelástica lineal (RVL) en comparación con un gel débil; lo que significa que los geles fuertes pueden soportar mayores esfuerzos de deformación. En este estudio, la región RVL se definió hasta una deformación de 0,01 Pa (Figura 37A, no mostrado), que fue menor que la de su contraparte nativa (1 Pa) (Peña 2017). Con este valor de esfuerzo, la estructura de la muestra no se rompió, lo que fue informado por Butt *et al.* (2019b) para almidones citrato de arroz y maíz y por Onyango *et al.* (2010) para almidón de yuca. Como se observa en la Figura 37A, el esfuerzo de limitación de la región RVL (límite de linealidad) del almidón LKC fue menor (0,5 Pa) que el de su contraparte nativa (5 Pa). En la Figura 37A se observa que G'' alcanza un valor máximo (~ 3 Pa), que indicaría la formación de algunas microgrietas (que no se extienden por todo el material). A medida que el esfuerzo de deformación se incrementa, las microgrietas forman una macrogrieta que se extiende a través de toda la muestra; por lo que, el comportamiento del material fue viscoso ($G'' > G'$) (Figura 37A).

Barrido de frecuencia

El barrido de frecuencia (espectro mecánico) del almidón LKC, muestra que los valores de G' fueron mayores que G'' ($G' > G''$) (Figura 37B); lo que sugiere que el componente elástico fue dominante. Además, se puede afirmar que el almidón LKC no mostró valores crecientes de G' y G'' con el incremento de la frecuencia, es decir, su módulo de almacenamiento no mostró cambios significativos con la frecuencia, lo que también fue informado por Butt *et al.* (2019b). La modificación del almidón con ácido cítrico reemplazó los grupos OH por citratos (grupos funcionales), lo que resultó en nuevos atributos funcionales del almidón. No se observó la intersección de estos módulos para el almidón LKC; y ambos presentaron menores valores que los de su contraparte nativa (LK). Butt *et al.* (2019b) reportaron altos valores de G' y G'' para los geles de almidón de arroz citrato modificados con 40 por ciento de ácido cítrico y modificados con un alcohol en medio alcalino, e indicaron que fueron más estructurados y fuertes, probablemente debido a un mayor grado de esterificación. En este estudio, durante todo el rango de frecuencia, la curva G' está por encima de la curva G'' , esto indicaría que el almidón LKC tiene una estructura

sólida; sin embargo, sus valores de G' (3,645–3,805 Pa) y G'' (0,1498–0,3722 Pa) fueron menores a los de su contraparte nativa (LK).

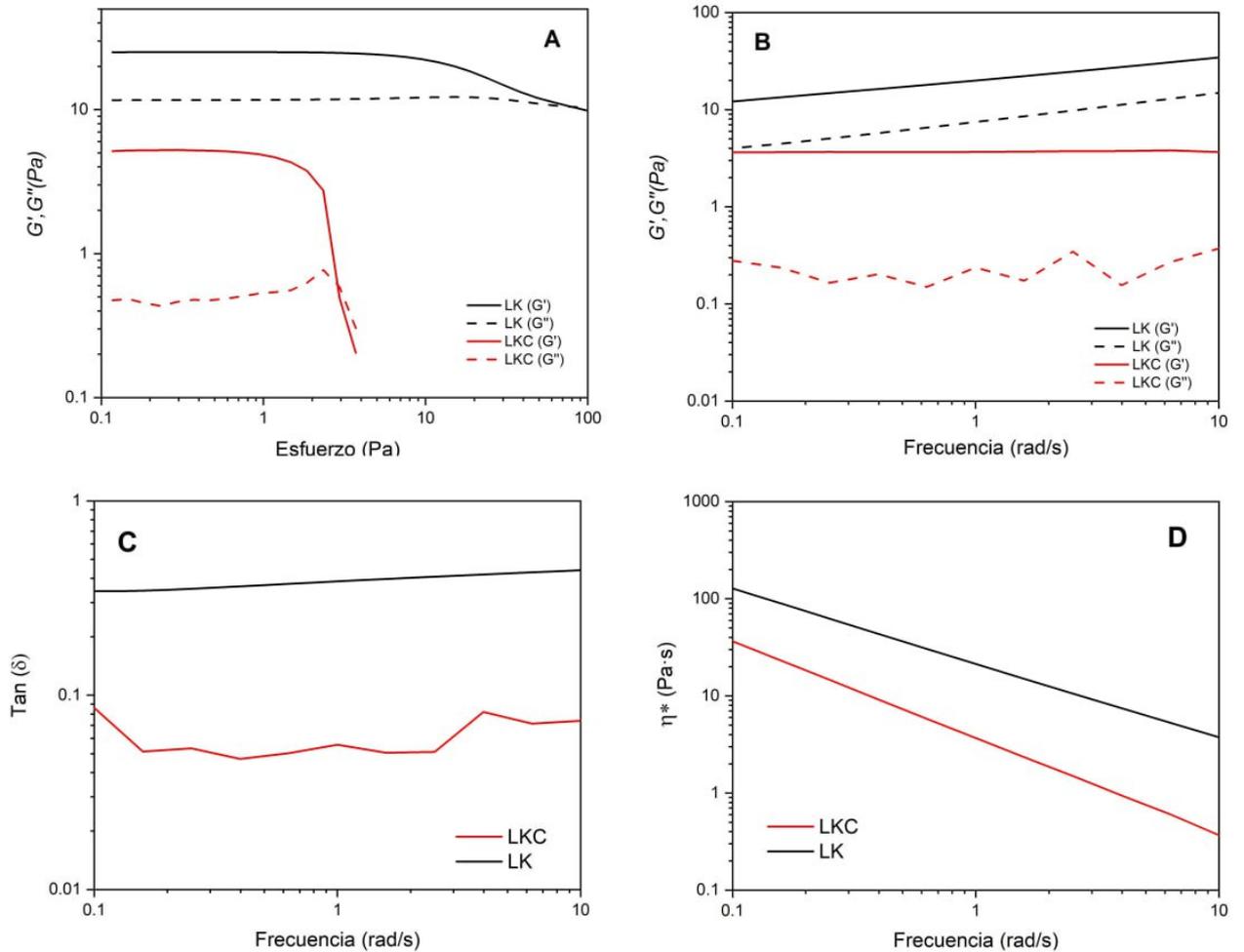


Figura 37: Barrido de amplitud (A), barrido de frecuencia (B), $\tan \delta$ (C) y η^* (D) para el almidón citrato óptimo (LKC) comparado con su contraparte nativa (LK) (Peña 2017)

El factor de pérdida ($\tan \delta$) estuvo en el rango de 0,047–0,086 (Figura 37C), lo que indicaría que el almidón LKC presenta un comportamiento de gel más débil en comparación con su contraparte nativa (LK), un comportamiento similar fue reportado por Butt *et al.* (2019b) para almidones citrato de arroz. Según Sang *et al.* (2008), los factores de pérdida constante respecto de la frecuencia generalmente se muestran en geles ideales, lo que indica pocos reordenamientos moleculares dentro de la red. Sin embargo, en este estudio se observó que los valores de $\tan \delta$ aumentaron con el incremento de la frecuencia, y que disminuyen a frecuencias progresivamente más altas. Este cambio en $\tan \delta$ con la frecuencia (Hz)

implicaría que se han producido reordenamientos moleculares en el rango de frecuencia aplicada (Onyango *et al.* 2011; Butt *et al.* 2019b). En la Figura 37D se presenta el comportamiento de la viscosidad compleja (η^*) del almidón LKC, la que disminuye con el aumento de la frecuencia (Kumar *et al.* 2019). El almidón LKC mostró menores valores de η^* (0,37–36,57 Pa·s) que los de su contraparte nativa (0,99–181,37 Pa·s) (Peña 2017) y los esterificados OSA y US-OSA (1,18–805,57 Pa·s); por lo que, el proceso de esterificación tuvo un efecto sobre la estructura del almidón. En el Cuadro 25 se presentan los valores de G' , G'' , $\tan \delta$ y η^* a 1 Hz (6,28 rad/s) para el almidón LKC cuyos valores son menores a los encontrados para los almidones OSA y US-OSA (Cuadro 16).

Cuadro 26: Módulo G' , módulo G'' , $\tan \delta$ y η^* a 1 Hz para el almidón citrato óptimo (LKC)

Almidón	Parámetros viscoelásticos			
	G' (Pa)	G'' (Pa)	$\tan \delta$	η^* (Pa·s)
LKC	$3,81 \pm 1,89$	$0,27 \pm 0,18$	$0,07 \pm 0,00$	$0,61 \pm 0,30$

donde, G' – módulo de almacenamiento; G'' – módulo de pérdida; $\tan \delta$ – factor de pérdida, η^* – viscosidad compleja. Valores promedio \pm desviación estándar.

i. Peso molecular

Yoo y Jane (2002) afirman que las diferencias entre los valores de M_w de la amilosa y la amilopectina se pueden atribuir a los diferentes tipos de almidones, el método de preparación de las dispersiones de almidón y el método de ajuste de los datos. Un valor alto de M_w de la amilopectina en el almidón indicaría que tiene moléculas altamente polimerizadas (Zeng *et al.* 2016), y las diferencias en M_w de los almidones podría influir en sus propiedades fisicoquímicas (Patindol *et al.* 2009). En el Cuadro 27 se presenta la estructura conformacional de las cadenas en el almidón citrato óptimo. El peso molecular de la amilosa ($3,1 \times 10^7$ g/mol) fue mayor a los reportados por Kim *et al.* (2018) ($1,8$ – $3,4 \times 10^6$ g/mol) para almidones de leguminosas; mientras que, el peso molecular de la amilopectina ($6,2 \times 10^8$ g/mol) fue menor a los informados por Kim *et al.* (2018) ($0,66$ – $0,88 \times 10^8$ g/mol), y fueron mayores a los encontrados para su contraparte nativa (LK) (Cuadro 7).

Cuadro 27: Masa molar y radio de giro del almidón citrato óptimo (LKC)

Almidón	Amilosa		Amilopectina	
	M _w (× 10 ⁷ g/mol)	R _Z (nm)	M _w (× 10 ⁸ g/mol)	R _Z (nm)
LKC	3,1	185,7	6,2	361,4

donde, M_w: masa molecular promedio; R_Z: radio de giro

Liu *et al.* (2014) modificaron almidones de maíz con ácido cítrico y calor, y mediante HPSEC encontraron que los valores de M_w y R_Z del pico de amilopectina disminuyeron, lo que fue acompañado de un aumento de estos valores en el pico de amilosa. Esto indicaría que se produjo una degradación molecular en la fracción de amilopectina, la amilopectina hidrolizada se habría mezclado con la fracción de amilosa, por lo que, aumentó este pico. Es decir, luego del proceso de esterificación, el almidón modificado presenta dos fracciones, una para la amilopectina hidrolizada y otra para la combinación de amilopectina hidrolizada y amilosa, ambas altamente compactadas. Estos autores sugirieron que la amilosa podría no hidrolizarse a una baja concentración de ácido durante el tratamiento con ácido cítrico y calor; sin embargo, si la concentración de ácido aumentaría, la amilosa también se hidrolizaría. Asimismo, Liu *et al.* (2014) reportaron que el almidón de maíz tratado con ácido cítrico 1 M, presentaron muchos glóbulos pequeños en la superficie del gránulo de almidón, lo que podría atribuirse al hecho de que algunos fragmentos pequeños que consistían en cadenas hidrolizadas altamente entrecruzadas no se combinarían entre sí y permanecerían fuera.

4.2.4 Caracterización del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC)

Las características del ESPC utilizado para el proceso de microencapsulación por atomización se presentan en el Cuadro 27. El extracto acuoso obtenido de la harina de semilla de palta fue concentrado hasta 8,1 por ciento de sólidos totales, y presentó un contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) de 21,4 mg AGE/g de harina (b.s.). Este valor fue mayor al reportado por Soong y Barlow (2004) (88,2 mg AGE/100 g de harina (b.s.)), pero menor a los reportados por Rodríguez-Carpena *et al.* (2011) (4164 mg AGE/100 g de harina (b.s.) y 6912 mg AGE/100 g de harina (b.s.) para extractos de semilla de palta variedad 'Fuerte' obtenidos con metanol y acetona, respectivamente). Las diferencias encontradas con los resultados de esta investigación se deben al solvente de extracción, pues se realizó con agua

destilada. Se eligió la extracción en medio acuoso porque para realizar la microencapsulación del extracto se realizaría en un atomizador que no cuenta con dispositivo para fluidos que contengan solventes orgánicos. La capacidad antioxidante (CA) del ESPC fue 19,3 mM TE/mL extracto, que fue menor a los reportados por Rodríguez-Carpena *et al.* (2011) (194,80 mmol TE/g (b.h.) y 121,61 mmol TE/g (b.h.) para extracto de semilla de palta variedad ‘Fuerte’ obtenidos con acetona y metanol, respectivamente).

Cuadro 28: Características del extracto de semilla de palta concentrado (ESPC)

Característica	Valor
Sólidos totales	8,1 ± 0,01 porcentaje
Fenólicos totales	13,6 ± 0,11 mg ácido gálico eq/mL extracto 21,4 ± 0,11 mg ácido gálico eq/g harina (b.s.)
Capacidad antioxidante	19,3 ± 0,36 mM Trolox eq/mL extracto 28,4 ± 0,11 mmol Trolox eq/g harina (b.s.)
pH	5,8 ± 0,001
C* (croma o saturación)	9,94 ± 0,06
h* (ángulo de matiz)	40,32 ± 0,89
Valores promedio ± desviación estándar (n=3)	

El ESPC presentó un pH de 5,8 que se encuentra en el rango ácido y neutro, que está en línea de lo mencionado por Cai *et al.* (2022), quienes sostienen que la solución se debe mantener en este rango de pH durante el proceso de extracción. Esto es debido a que ciertas moléculas no están ionizadas, y el coeficiente de distribución de extracción permanece prácticamente constante; mientras que, en el rango de pH alcalino, se produce la disociación por ionización de la mayoría de estas moléculas, la concentración de fenoles iónicos en solución acuosa aumenta, y el coeficiente de distribución de extracción disminuye. Respecto a los parámetros de color en el espacio CIE L*C*h*, el valor de ángulo de matiz (h* = 40,32°) del ESPC mostró que este contiene pigmentos coloreados (en la región +a*, color rojo); mientras que, el croma o saturación (C* = 9,94) fue bajo, lo que indicaría un color oscuro del ESPC.

4.2.5 Microencapsulación del ESPC por atomización

a. Selección del almidón esterificado para la microencapsulación del ESPC

La selección del material de pared para la encapsulación juega un papel crucial para un secado por aspersión eficiente (Ferrari *et al.* 2013, Tolun *et al.* 2016). Entre los diferentes materiales de microencapsulación, la maltodextrina (MD) es uno de los polímeros más adecuados debido a su nula toxicidad, biocompatibilidad excepcional, alta solubilidad y baja viscosidad (Tonon *et al.* 2010). Las maltodextrinas tienen las ventajas adicionales de ser de bajo costo, inodoras e insípidas (Tolun *et al.* 2020). Por esta razón, se realizó la comparación de las micropartículas obtenidas con los almidones esterificados respecto de las obtenidas con MD.

Las dispersiones preparadas con el ESPC y cada uno de los materiales de pared (almidones OSA, US-OSA y LKC) fueron alimentadas en el atomizador, según las condiciones de secado establecidas, y las micrografías de las micropartículas se tomaron con el microscopio óptico (Figura 38). Por un lado, las micropartículas formadas con MD (Figura 38A) fueron pequeñas con forma casi esférica (presencia de concavidades que fue comprobado con las micrografías por MEB). Por otro lado, las micropartículas formadas con el almidón LCK (Figura 38B) fueron similares a las formadas con MD, pero se observaron algunos gránulos de almidón LKC que no lograron formar pared para el núcleo (ESPC). Es decir, el almidón LKC logró formar parcialmente micropartículas con el ESPC debido a que la esterificación con AC alteró la estructura interna y el tamaño de los gránulos del almidón LK. Esto fue corroborado con los análisis de difracción láser (distribución de tamaño de partícula) y difracción de rayos X (cristalinidad).

Sin embargo, no se formaron micropartículas de ESPC con los almidones OSA y US-OSA (Figura 38C, D, E, F; G, H), lo que indicaría que el ESPC no fue encapsulado con estos materiales de pared. Es decir, al finalizar el proceso de secado solo quedaron los gránulos de almidón (observados en las micrografías) y los sólidos del extracto. Esto podría deberse a que los gránulos de almidón OSA y US-OSA fueron afectados únicamente en la parte amorfa (corroborado con los ensayos de microscopía electrónica de barrido y de difracción de rayos X). En la esterificación con OSA, los gránulos de almidón solo se afectaron ligeramente en su superficie, quedando intacta su estructura interna (cristalina).

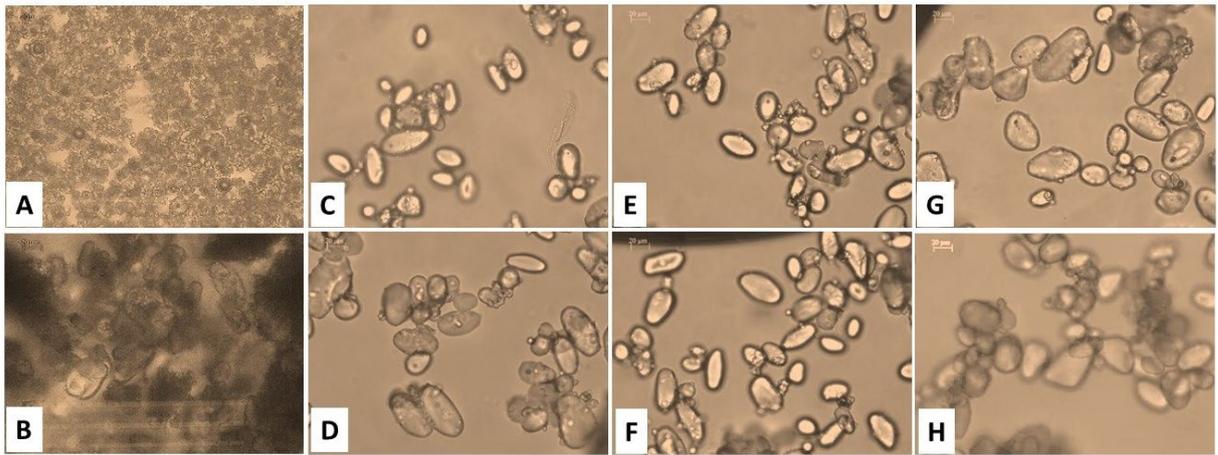


Figura 38: Micrografías de las micropartículas de ESPC formadas con los almidones esterificados: A) MD, B) LKC, C) IB-OSA, D) IN-OSA, E) LK-OSA, F) IB-US-OSA, G) IN-US-OSA, H) LK-US-OSA

b. Micropartículas de ESPC formadas con el almidón seleccionado (LKC)

Se prepararon dispersiones del ESPC con el almidón seleccionado (LKC), maltodextrina (MD) y la mezcla de ambos (MD-LKC) según el Cuadro 3 (Sección 3.6.3). Cada suspensión fue alimentada en el atomizador, y las micropartículas obtenidas fueron caracterizadas.

Estudio reológico de las dispersiones para la microencapsulación

En la Figura 39 se presenta el reograma de las dispersiones para la microencapsulación. El comportamiento al flujo de las tres dispersiones (MD, MD-LKC, LKC), preparadas con el ESPC y los materiales de pared, presentaron un buen ajuste al modelo de la Ley de Newton ($R^2 > 0,9997$). Los valores de la viscosidad (μ) de las dispersiones preparadas estuvieron en el rango 0,0094–0,1327 Pa·s (Cuadro 29) y se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las tres dispersiones ($p < 0,05$) (Anexo 18, Cuadro R). Se podría afirmar que estas dispersiones formadas son adecuadas para el secado por atomización, pues no sufren cambios significativos en la viscosidad cuando son sometidas a altas velocidades de cizallamiento, como en el proceso de atomización. Por otro lado, para comprobar que las dispersiones tienen un comportamiento newtoniano, se realizó el ajuste a la Ley de la Potencia ($R^2 > 0,9999$). Los valores del índice de flujo (n) (~ 1) mostraron que las dispersiones tuvieron un comportamiento newtoniano, y los valores del índice de consistencia (k) estuvieron en el rango 0,0103–0,1457 Pa·sⁿ (Cuadro 28), observándose

diferencias estadísticamente significativas entre las tres dispersiones ($p < 0,05$) (Anexo 18, Cuadro R.1, R.2).

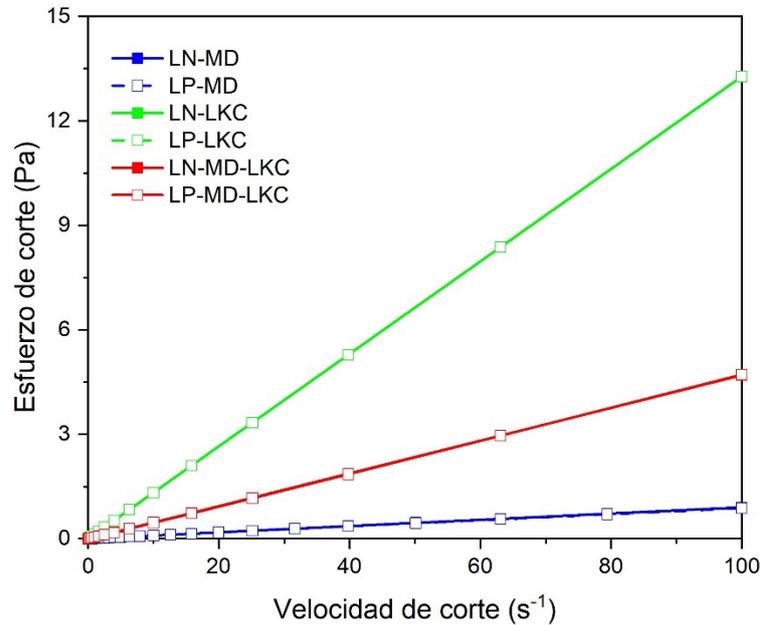


Figura 39: Comportamiento al flujo de las dispersiones para la microencapsulación

Cuadro 29: Parámetros del modelo de Ley de Newton y Ley de la Potencia que describen el comportamiento al flujo de las dispersiones para la microencapsulación

Suspensión	Ley de Newton		Ley de la Potencia		
	μ (Pa·s)	R^2	n	k (Pa·s ⁿ)	R^2
MD	0,0094 ± 0,0001 ^a	0,9998	0,979 ± 0,003 ^a	0,0103 ± 0,0000 ^a	0,9999
MD-LKC	0,0469 ± 0,0012 ^b	0,9999	1,013 ± 0,000 ^b	0,0445 ± 0,0011 ^a	0,9999
LKC	0,1327 ± 0,0111 ^c	0,9997	0,979 ± 0,024 ^a	0,1457 ± 0,0231 ^b	0,9999

donde: MD - Maltodextrina; MD-LKC – Maltodextrina-Almidón citrato; LKC – Almidón citrato; Valores promedio ± desviación estándar (n=2). Las letras a, b, c indican diferencias significativas entre las dispersiones a encapsular ($p < 0,05$)

Eficiencia de encapsulación (EE) y rendimiento del proceso (R)

La eficiencia de encapsulación (EE) se define como la cantidad de compuestos fenólicos totales efectivamente encapsulados y el rendimiento del proceso (R) como la relación entre la masa de polvo obtenida y la masa esperada (Valente *et al.* 2019). Los valores de EE y R (Cuadro 29) fueron determinados inmediatamente después del secado por atomización y

fueron influenciados por el material de pared empleado (EE: 24,43–44,38 por ciento y R: 36,8–56,7 por ciento) bajo las condiciones de proceso (Sección 3.5.3). Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las micropartículas obtenidas ($p < 0,05$) para EE (Anexo 19, Cuadro S) y R (Anexo 20, Cuadro T). El menor valor de EE para las micropartículas LKC podría deberse a pérdidas de compuestos fenólicos deshidratados pero que no fueron encapsulados, y que podrían quedar atrapados en el filtro del atomizador. Por otro lado, Valente *et al.* (2019) reportaron un rendimiento de proceso mayor (56,22 por ciento) para micropartículas de açaí formadas con almidón modificado de yuca y maltodextrina DE₂₀ en comparación con las micropartículas obtenidas con LKC.

Cuadro 30: Eficiencia de encapsulación, rendimiento del proceso, actividad de agua, contenido de humedad, higroscopicidad, parámetros de tamaño y de color para las micropartículas estabilizadas con maltodextrina (MD), maltodextrina-almidón citrato óptimo (MD-LKC) y almidón citrato óptimo (LKC)

Parámetro	Material de pared		
	MD	MD-LKC	LKC
Eficiencia de encapsulación (porcentaje)	44,38 ± 0,53 ^c	32,01 ± 2,00 ^b	24,43 ± 0,62 ^a
Rendimiento del proceso (porcentaje)	64,99 ± 3,43 ^b	60,95 ± 2,81 ^b	43,07 ± 1,73 ^a
Actividad de agua (a_w)	0,177 ± 0,15 ^a	0,178 ± 0,023 ^{ab}	0,200 ± 0,012 ^b
Contenido de humedad (porcentaje)	3,26 ± 0,02 ^a	4,75 ± 0,18 ^b	6,66 ± 0,00 ^c
Higroscopicidad (g/100 g)	14,14 ± 0,13 ^c	13,45 ± 0,47 ^b	12,10 ± 0,15 ^a
D[4,3] (μm)	8,44 ± 0,10 ^a	7,16 ± 0,23 ^a	36,67 ± 2,01 ^b
D ₁₀ (μm)	1,52 ± 0,04 ^a	1,23 ± 0,23 ^a	6,89 ± 0,42 ^b
D ₅₀ (μm)	6,72 ± 0,70 ^a	4,85 ± 0,35 ^a	34,63 ± 1,81 ^b
D ₉₀ (μm)	16,87 ± 0,74 ^a	15,23 ± 0,76 ^a	68,53 ± 3,95 ^b
Span	2,31 ± 0,37 ^b	2,89 ± 0,06 ^c	1,78 ± 0,02 ^a
C*	15,19 ± 0,05 ^a	16,13 ± 0,02 ^b	24,96 ± 0,15 ^c
h*	69,14 ± 0,04 ^a	71,77 ± 0,08 ^c	70,91 ± 0,11 ^b

Valores promedio ± desviación estándar (n=3)

Actividad de agua (a_w) y contenido de humedad

Los parámetros de actividad de agua y el contenido de humedad son críticos para mantener la calidad y la estabilidad de las micropartículas; cuanto mayor es el contenido de agua, mayor es la movilidad molecular dentro del alimento, lo que facilita las reacciones fisicoquímicas de degradación (Tonon *et al.* 2010). Los valores de a_w y contenido de

humedad de las micropartículas obtenidas estuvieron en el rango 0,177–0,200 y 3,26–6,66 por ciento, respectivamente (Cuadro 29); que son considerados aceptables para este tipo de materiales, pues facilitan el manejo y almacenamiento de los polvos. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) tanto para a_w (Anexo 21, Cuadro U) como para el contenido de humedad (Anexo 22, Cuadro V) de las micropartículas obtenidas. Estos valores son menores a los obtenidos por Andrade *et al.* (2018) (a_w de 0,13–0,36 y contenido de humedad de 5,84–9,96 por ciento) para micropartículas de propóleos marrón, verde y rojo brasileños formados por secado por aspersion con goma arábica y maltodextrina; pero similares a los reportados por Kuck y Noreña (2016) (a_w de 0,16–0,21 y contenido de humedad de 2,41–2,57 por ciento) para micropartículas de extractos de cáscara de uva formadas con mezclas de goma arábica, polidextrosa y goma guar hidrolizada. Por otro lado, Valente *et al.* (2019) optimizaron el proceso de obtención de micropartículas de açai formadas con almidón modificado de yuca mezclado con maltodextrina DE₂₀ que presentó un contenido de humedad de 2,71 por ciento.

Higroscopicidad

La adsorción de agua es un factor crítico para la vida útil de los polvos microencapsulados porque el agua influye en la oxidación de compuestos bioactivos y la pérdida de componentes nutricionales. Los valores de higroscopicidad promedio de las micropartículas obtenidas estuvieron en el rango 12,1–14,1 por ciento (Cuadro 29), que se pueden clasificar como ligeramente higroscópicos (10,1–15,0 por ciento) (GEA Niro Research Laboratory 2003). Se encontró que la higroscopicidad de las partículas obtenidas usando el almidón LKC como material de pared (12,1 g/100 g) fue menor en comparación con las obtenidas usando maltodextrina DE₁₀ (14,1 g/100 g); esto podría deberse al hecho de que la maltodextrina DE₁₀, que tiene un menor peso molecular, y podría contener más grupos hidroxilo (Cai y Corke 2000). Los resultados de este estudio son similares a los reportados por Kuck y Noreña (2016) (11,67–15 por ciento) para micropartículas de extractos de cáscara de uva formadas con mezclas de goma arábica, polidextrosa y goma guar hidrolizada. Sin embargo, Tolun *et al.* (2016) y Valente *et al.* (2019) reportaron valores de higroscopicidad menores (2,5–11,1 por ciento) para micropartículas de extractos de orujo de uva formadas con maltodextrina DE₁₇₋₂₀ y de 7,87 por ciento para micropartículas de açai formadas con almidón modificado de yuca mezclado con maltodextrina DE₂₀,

respectivamente. Tonon *et al.* (2010) afirmaron que la lenta degradación del material que se encapsula en el núcleo de la micropartícula puede estar relacionada con su baja higroscopicidad, lo que implica una menor adsorción de agua; y, por ende, una menor movilidad molecular, dificultando la ocurrencia de reacciones de oxidación. La matriz polimérica tiene un efecto crucial sobre las micropartículas secadas por atomización. En este estudio, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para la higroscopicidad entre las micropartículas obtenidas (Anexo 22, Cuadro V).

Morfología de las micropartículas

Las micropartículas producidas con los materiales de pared en estudio, observadas por MEB, mostraron diferencias en morfología y en tamaño, lo que se corrobora con la distribución de tamaño de partícula; sin embargo, la mayoría de ellas presentaba una forma esférica con algunas concavidades y superficie rugosa (Figura 40) (Ferrari *et al.* 2012, Bhusari *et al.* 2014, Kuck y Noreña 2016; Valente *et al.* 2019). Las concavidades en las micropartículas se forman debido a la rápida evaporación del agua en el proceso de secado por aspersión y la consiguiente contracción de estas (Kuck y Noreña 2016). Bhusari *et al.* (2014) realizaron el secado por aspersión de pulpa de tamarindo con goma arábiga, y sugirieron que las concavidades en las micropartículas formadas con goma arábiga se deben a la fracción proteica de la molécula.

En la Figura 40 se observa que la mayor proporción de almidón LKC formó micropartículas con una superficie más abollada y poco lisa (MD-LKC y LKC), y se observaron algunos gránulos de almidón LKC, es decir, los gránulos que presentaron mayor tamaño no lograron formar la pared que recubre el núcleo. Un comportamiento similar fue reportado por Tolun *et al.* (2020) para la mezcla de maltodextrina con goma arábiga, debido a que esta tiene propiedades de formación de película cuando se usa en concentraciones más altas, lo que puede provocar estructuras más abolladas debido a la pérdida repentina de humedad durante el proceso de secado. Esto provocó un aumento del contacto con el aire, por lo que puede hacer que las micropartículas sean más susceptibles a reacciones oxidativas.

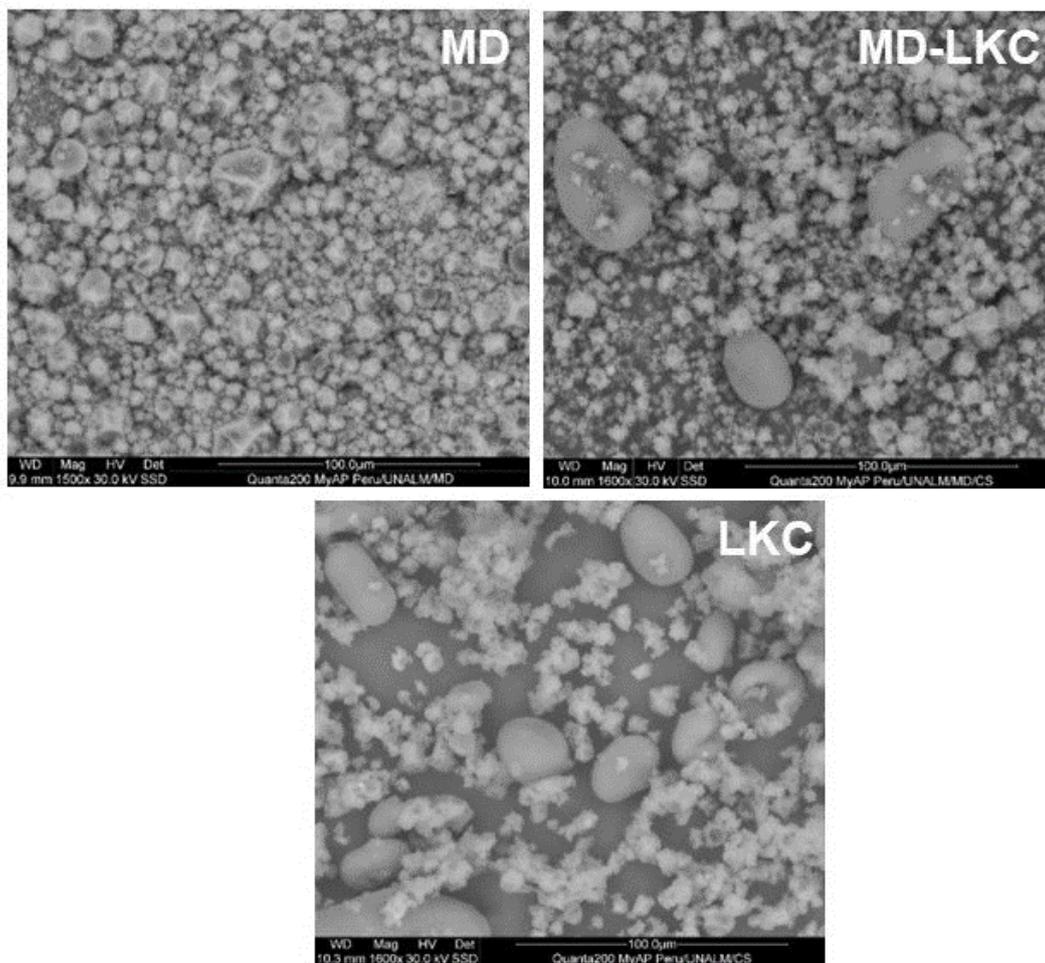


Figura 40: Morfología de las micropartículas obtenidas observadas bajo MEB

Distribución de tamaño

La Figura 41 muestra la distribución del tamaño de partículas del ESPC producidos con los diferentes materiales de pared. Las partículas exhibieron una amplia gama de tamaños, con diámetros que variaron de 0,113 a 111 μm aproximadamente. Se puede observar que las micropartículas formadas con maltodextrina (MD) presentaron una distribución bimodal (0,113–58,9 μm), es decir, una distribución con dos picos distintos, cada uno representando un tamaño predominante. Tonon *et al.* (2010) reportaron un rango menor para partículas de jugo de açaí con maltodextrina DE₁₀ (2–35 μm). Sin embargo, las micropartículas formadas con el almidón LKC y su mezcla con maltodextrina (MD-LKC) mostraron una distribución multimodal, cuyos rangos fueron 0,523–111 μm y 0,113–51,8 μm , respectivamente. Tonon *et al.* (2010) sostienen que la distribución bimodal es particularmente interesante en el caso de los polvos, pues la población de partículas más pequeñas puede penetrar en los espacios

entre las más grandes, ocupando así menos espacio. En la Figura 41 se puede observar que la distribución de tamaño de las micropartículas AC formadas con el almidón citrato óptimo es similar a la del almidón; es decir, los gránulos pequeños lograron formar micropartículas pequeñas con el ESPC.

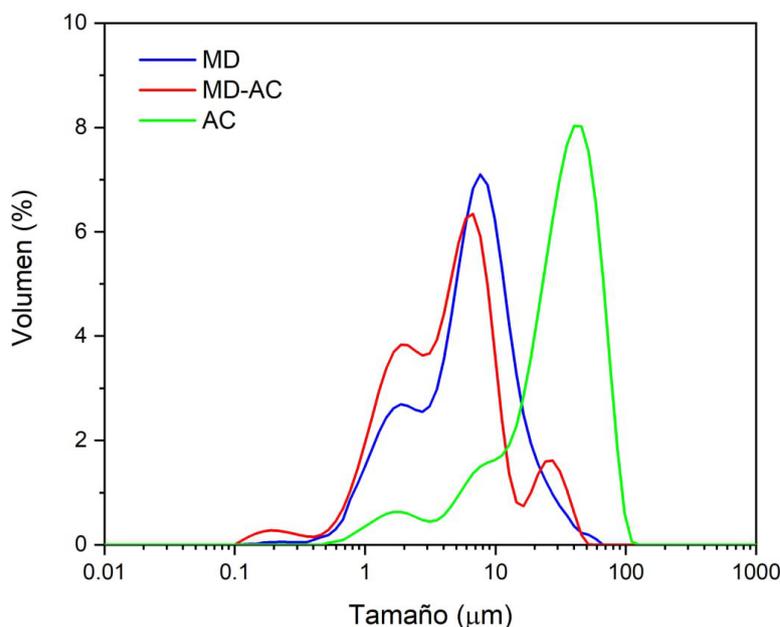


Figura 41: Distribución de tamaño de las micropartículas de ESPC obtenidas por atomización

El diámetro medio de las partículas se expresó como $D[4,3]$ (diámetro de Brouckere) así como los valores denominados D_{10} , D_{50} y D_{90} (Cuadro 29), que indican los diámetros alcanzados respectivamente en 10, 50 y 90 por ciento del volumen del grupo de partículas. El tamaño de partícula se vio afectado significativamente por la adición de diferentes materiales de pared al ESPC, presentando valores mayores las partículas formadas con el almidón citrato óptimo (AC). Abrahão *et al.* (2019) reportaron valores de $D[4,3]$ para micropartículas formadas con proteína de soya, maltodextrina, goma arábiga e inulina (16,62–19,12 µm) mayores a los encontrados en este estudio (8,44 y 7,16 µm para las micropartículas formadas con MD y MD-LKC, respectivamente). No obstante, las micropartículas LKC presentaron los mayores valores de $D[3,4]$ (36,67 µm), D_{10} (19,12 µm), D_{50} (34,63 µm) y D_{90} (68,53 µm) que fueron estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) en comparación con las micropartículas MD y MD-LKC (Anexo 24, Cuadro X, X.1, X.2, X.3). Este aumento en el tamaño de las partículas estaría relacionado con el tamaño de la molécula

del material de pared. Al respecto, Tonon *et al.* (2010) sostienen que cuanto mayor es el grado de hidrólisis de la maltodextrina, sus cadenas son más cortas, y el tamaño de las partículas formadas es más pequeño, en comparación con las producidas con almidón de citrato. Además, este comportamiento podría estar relacionado con la presencia de aglomerados de almidón modificado, que son menos solubles que la maltodextrina.

El efecto de la viscosidad de las dispersiones en el tamaño de partícula se puede identificar fácilmente debido a la distribución observada (Figura 41). Las micropartículas fueron obtenidas utilizando un secador por aspersion a escala de laboratorio equipado con una boquilla de 0,5 mm que produce gotas muy finas. Todas las variables que afectan el tamaño de las partículas, como son el flujo de alimentación de la suspensión, el tamaño del puerto de la boquilla, la posición de la boquilla rociadora y la presión del aire de secado, se mantuvieron constantes durante la microencapsulación, excepto la viscosidad de las dispersiones debido a los diferentes materiales de pared empleados (Cuadro 28, Figura 39). Las diferentes viscosidades de las dispersiones de alimentación generan gotas más grandes rociadas en la cámara de secado, durante el proceso de secado por aspersion, lo que resultaría en un aumento del tamaño medio de las micropartículas (Pang *et al.* 2014; Tonon, *et al.* 2010).

Respecto a la dispersión de las partículas (*span*) está directamente relacionada con la homogeneidad de la distribución del tamaño de las partículas. Los valores más bajos indican una distribución más homogénea, lo cual es deseable (Kuck y Noreña 2016, Abrahão *et al.* 2019). Los valores de *span* observados fueron ligeramente mayores a 2 para las partículas formadas con maltodextrina (MD) y su mezcla con almidón citrato (MD-LKC); mientras que, fue menor a 2 para las partículas formadas con almidón citrato (LKC), lo que indicaría una buena homogeneidad en la distribución de partículas (Abrahão *et al.* 2019). Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para el *span* entre las micropartículas obtenidas (Anexo 24, Cuadro X.4).

Parámetros de color

La forma en la que ser humano percibe el color es subjetiva; por lo que, para expresar el color, en la industria, se usa el espacio de color $L^*C^*h^*$ debido a la buena correlación entre este sistema y la percepción humana. Los parámetros de croma o saturación (C^*) y ángulo

de matiz (h^*) se presentan en el Cuadro 29. Las micropartículas LKC presentaron el valor de C^* más alto (Figura 42), esto indicaría que estas micropartículas tuvieron una mayor pureza de color, lo cual es una característica deseable (Kuck y Noreña 2016). Se observa también que, a mayor contenido de MD, el valor de C^* es menor en las micropartículas de ESPC. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para C^* entre las micropartículas obtenidas (Anexo 25, Cuadro Y). Por otro lado, las micropartículas MD tuvieron un valor h^* menor que las LKC y MD-LKC, cuyos valores estuvieron en el primer cuadrante ($69,14-71,77^\circ$) y cercanos a 90° ; lo que indicaría que, están cercanos al color amarillo. Los valores de h^* presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las micropartículas obtenidas (Anexo 25, Cuadro Y.1).



Figura 42: Micropartículas de ESPC formadas por atomización con los diferentes materiales de pared

V. CONCLUSIONES

1. El almidón nativo IN mostró la mayor viscosidad pico en la formación de pasta, mientras que, el almidón nativo LK presentó el índice de dispersión más bajo respecto al tamaño de sus gránulos, el más alto porcentaje de cadenas B1 de amilopectina (13 a 24 unidades de glucosa) y el mayor peso molecular de amilopectina.
2. Los análisis de difracción de rayos X y FT-IR mostraron que los almidones nativos tienen un orden molecular alto, lo que sugiere altos requerimientos de energía (entalpía) para su gelatinización.
3. En la obtención de almidones modificados con OSA, el pretratamiento con ultrasonido permitió obtener almidones esterificados con mayor grado de sustitución y mejoró su eficiencia de reacción, disminuyendo el tiempo de modificación.
4. Las propiedades estructurales (cristalinidad, tamaño de partícula, presencia de grupos funcionales) y algunas propiedades funcionales (gelatinización, propiedades de formación de pasta, viscoelasticidad) de los almidones US-OSA no se vieron afectadas por el pretratamiento con ultrasonido en comparación con los de OSA.
5. Para la obtención del almidón LK citrato se realizó la optimización de los parámetros de esterificación: concentración de la solución de ácido cítrico y tiempo de reacción. Lo que permitió obtener un almidón citrato con menor viscosidad y mayor solubilidad que el almidón nativo, características importantes en un material de pared para encapsulación.
6. Entre los almidones esterificados OSA, US-OSA y LKC, el que presentó mejor efecto encapsulante del extracto de semilla de palta concentrado por atomización fue el almidón LKC.
7. Aunque la eficiencia de encapsulación del almidón LKC fue menor que la de la maltodextrina, las micropartículas obtenidas con el almidón LKC presentaron la menor higroscopicidad, propiedad importante para su uso como aditivo para producción de suplementos en polvo.

8. Se demostró que el almidón de papa amarga del cultivar *Loc'ka* podría ser modificado con ácido cítrico y empleado como material de pared, en mezcla con maltodextrina (50:50), para la encapsulación de un extracto fenólico.

VI. RECOMENDACIONES

1. Evaluar el uso de la tecnología de ultrasonido variando la amplitud y el tiempo de homogeneización en las dispersiones de almidón, antes y durante el proceso de esterificación de los almidones.
2. Evaluar la liberación de los compuestos fenólicos a partir de las matrices formadas en la encapsulación con almidones modificados.
3. Optimizar el proceso de esterificación de almidones de papa con OSA empleando como pretratamiento una molienda por bolas, para reducir el tamaño de los gránulos y lograr un mayor grado de sustitución.
4. Evaluar la aplicación de los almidones esterificados con OSA como agentes microencapsulantes de sistemas oleosos.
5. Evaluar la aplicación de almidones esterificados con OSA y con ácido cítrico como agentes estabilizantes de emulsiones *Pickering* y en la producción de películas biodegradables.
6. Evaluar la estructura molecular de los almidones esterificados para comprender mejor sus propiedades fisicoquímicas, como la estabilidad térmica y la relación con el grado de sustitución en el almidón modificado.
7. Realizar el estudio de la estabilidad en el almacenamiento de las micropartículas obtenidas por la encapsulación del extracto de semilla de palta.
8. Ensayar la incorporación y estabilidad de las micropartículas obtenidas en matrices alimenticias como: jugos modelo o yogurt natural.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahão, F. R; Rocha, L. C. R; Santos, T. A; do Carmo, E. L; Pereira, L. A. S; Borges, S. V; ...; Botrel, D. A. 2019. Microencapsulation of bioactive compounds from espresso spent coffee by spray drying. *LWT-Food Science and Technology* 103: 116-124.
- Achayuthakan, P; Suphantharika, M. 2008. Pasting and rheological properties of waxy corn starch as affected by guar gum and xanthan gum. *Carbohydrate Polymers* 71: 9–17.
- Ahn, J. H; Kim, Y. P; Lee, Y. M., Seo, E. M; Lee, K. W; Kim, H. S. 2008. Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. *Food Chemistry* 107(1): 98–105.
- Alara O. R; Abdurahman N. H; & Olalere O. A. 2018. Optimization of microwave- assisted extraction of flavonoids and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using response surface methodology. *Food and Bioproducts Processing* 107: 36-48.
- Alimi, B; Workneh, T; Oke, M. 2016. Effect of hydrothermal modifications on the functional, pasting and morphological properties of South African cooking banana and plantain. *CyTA - Journal of Food* 14(3): 490–491.
- Alimi, B. A; Workneh, T. S. 2018. Structural and physicochemical properties of heat moisture treated and citric acid modified acha and iburu starches. *Food Hydrocolloids* 81: 449–455.
- Alvani, K; Qi, X; Tester, R. F; Snape, C. E. 2011. Physico-chemical properties of potato starches. *Food Chemistry* 125(3): 958–965.
- Ambigaipalan, P; Hoover, R; Donner, E; Liu, Q; Jaiswal, S; Chibbar, R; Nantanga, K. K. M; Seetharaman, K. 2011. Structure of faba bean, black bean and pinto bean starches at different levels of granule organization and their physicochemical properties. *Food Research International* 44(9): 2962–2974.
- Ambigaipalan, P; Hoover, R; Donner, E; Liu, Q. 2014. Starch chain interactions within the amorphous and crystalline domains of pulse starches during heat-moisture treatment at different temperatures and their impact on physicochemical properties. *Food Chemistry* 143: 175–184.
- Amini, A. M; Razavi, S. M. A; Mortazavi, S. A. 2015. Morphological, physicochemical, and viscoelastic properties of sonicated corn starch. *Carbohydrate polymers* 122: 282-292.

- Andrade, J. K. S; Denadai, M; Andrade, G. R. S; da Cunha Nascimento, C; Barbosa, P. F; Jesus, M. S; Narain, N. 2018. Development and characterization of microencapsules containing spray dried powder obtained from Brazilian brown, green and red propolis. *Food Research International* 109: 278-287.
- AOAC. (2005). Official method of analysis (18th ed.). Washington DC: Association of Officiating Analytical Chemists.
- Araújo, R. G; Rodriguez-Jasso, R. M; Ruiz, H. A; Govea-Salas, M; Pintado, M. E; Aguilar, C. N. 2020. Process optimization of microwave-assisted extraction of bioactive molecules from avocado seeds. *Industrial Crops and Products* 154: 112623.
- Arlene, A. A; Prima, K. A; Utama, L; Anggraini, S. A. 2015. The preliminary study of the dye extraction from the avocado seed using ultrasonic assisted extraction. *Procedia Chemistry* 16: 334-340.
- Arnao, M; Cano, A; Acosta, M. 2003. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry* 73: 239–244.
- Athaydes, B. R; Alves, G. M; de Assis, A. L. E. M; Gomes, J. V. D; Rodrigues, R. P; Campagnaro, B. P;... Gonçalves, R. D. C. R. 2019. Avocado seeds (*Persea americana* Mill.) prevents indomethacin-induced gastric ulcer in mice. *Food Research International* 119: 751-760.
- Atrous, H; Benbettaieb, N; Hosni, F; Danthine, S; Blecker, C; Attia, H; Ghorbel, D. 2015. Effect of γ -radiation on free radicals formation, structural changes and functional properties of wheat starch. *International Journal of Biological Macromolecules* 80: 64-76.
- Augusto, P. E; Cristianini, M; Ibarz, A. 2012. Effect of temperature on dynamic and steady-state shear rheological properties of siriguela (*Spondias purpurea* L.) pulp. *Journal of Food Engineering* 108(2): 283-289.
- Awad, T. S; Moharram, H. A; Shaltout, O. E; Askerd, D; Youssef, M. M. 2012. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: a review. *Food Research International* 48(2): 410–427.
- Avhad, M. R; Marchetti, J. M. 2015. Temperature and pretreatment effects on the drying of Hass avocado seeds. *Biomass and Bioenergy* 83: 467–473.
- Bai, Y; Kaufman, R. C; Wilson, J. D; Shi, Y.-C. 2014. Position of modifying groups on starch chains of octenylsuccinic anhydride-modified waxy maize starch. *Food Chemistry* 153: 193–199.

- Bai, W; Hébraud, P; Ashokkumar, M; Hemar, Y. 2017. Investigation on the pitting of potato starch granules during high frequency ultrasound treatment. *Ultrasonics Sonochemistry* 35: 547–555.
- Balasundram, N; Sundram, K; Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agro-industrial byproducts: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99(1): 191–203.
- Baltes, W. (2007). *Química de los alimentos*. Zaragoza, ES, Acribia. 476 p.
- Barraza-Jáuregui, G; Soriano-Colchado, J; Obregón, J; Martínez, P; Peña, F; Velezmoro, C;... Miano, A. 2020. Propiedades fisicoquímicas, funcionales y estructurales de almidones obtenidos de cinco variedades de papas nativas (*Solanum tuberosum* L.). In: *Engineering, Integration, and Alliances for a Sustainable Development. Hemispheric Cooperation for Competitiveness and Prosperity on a Knowledge-Based Economy: Proceedings of the 18th LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education and Technology*. Full paper #623.
- Bello-Flores, C. A; Nuñez-Santiago, M. C; San Martín-Gonzalez, M. F; BeMiller, J. N; Bello-Pérez, L. A. 2014. Preparation and characterization of octenylsuccinylated plantain starch. *International Journal of Biological Macromolecules* 70: 334–339.
- Bello-Perez, L. A; Sánchez-Rivera, M. M; Núñez-Santiago, C; Rodríguez-Ambriz, S. L; Román-Gutierrez, A. D. 2010. Effect of the pearled in the isolation and the morphological, physicochemical and rheological characteristics of barley starch. *Carbohydrate Polymers* 81(1): 63–69.
- Bello-Perez, L. A; Agama-Acevedo, E. 2017. Starch. In Villar, M; Barbosa, S; García, A; Castillo, L; López, O (eds.). *Starch-Based Materials in Food Packaging*. 1st ed. London, United Kingdom, Academic Press, 321 p.
- Bertoft, E. 2004. On the nature of categories of chains in amylopectin and their connection to the super helix model. *Carbohydrate Polymers* 57(2): 211-224.
- Bertoft, E; Blennow, A. 2016. Structure of Potato Starch. In Singh, J; Kaur, L (eds.). *Advances in Potato Chemistry and Technology*. 2nd ed. London, United Kingdom, Academic Press, 752 p.
- Bhosale, R; Singhal, R. 2006. Process optimization for the synthesis of octenyl succinyl derivative of waxy corn and amaranth starches. *Carbohydrate Polymers* 66: 521–527.

- Bhusari, S. N; Muzaffar, K; Kumar, P. 2014. Effect of carrier agents on physical and microstructural properties of spray dried tamarind pulp powder. *Powder technology* 266: 354-364.
- Bonto, A. P; Tiozon Jr, R. N; Sreenivasulu, N; Camacho, D. H. 2021. Impact of ultrasonic treatment on rice starch and grain functional properties: A review. *Ultrasonics Sonochemistry* 71: 105383.
- Butt, N. A; Ali, T. M; Hasnain, A. 2019a. Rice starch citrates and lactates: A comparative study on hot water and cold water swelling starches. *International Journal of Biological Macromolecules* 127: 107-117.
- Butt, N. A; Ali, T. M; Hasnain, A. 2019b. Rheological characterization of cold water soluble rice (*Oryza sativa*) starch lactates and citrates prepared via alcoholic-alkaline method. *International Journal of Biological Macromolecules* 123: 558-568.
- Cai, Y. Z; Corke, H. 2000. Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science* 65(7): 1248-1252.
- Cai, W; Wang, H; Yang, Q. G; Liu, T; Wang, Y. 2022. Extracting phenolic compounds from aqueous solutions by cyclohexanone, a highly efficient extractant. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 116: 393-399.
- Calderón-Oliver, M., Escalona-Buendía, H. B., Medina-Campos, O. N., Pedraza-Chaverri, J; Pedroza-Islas, R; Ponce-Alquicira, E. 2016. Optimization of the antioxidant and antimicrobial response of the combined effect of nisin and avocado byproducts. *LWT - Food Science and Technology* 65: 46–52.
- Carlos-Amaya, F; Osorio-Diaz, P; Agama-Acevedo, E; Yee-Madeira, H; Bello-Perez, L. A. 2011. Physicochemical and digestibility properties of double-modified banana (*Musa paradisiaca* L.) starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 1376–1382.
- Carmona-García, R; Bello-Pérez, L. A; Aguirre-Cruz, A; Aparicio-Saguilán, A; Hernández-Torres, J; Alvarez-Ramirez, J. 2016. Effect of ultrasonic treatment on the morphological, physicochemical, functional, and rheological properties of starches with different granule size. *Starch-Stärke* 68(9-10): 972-979.
- Çatal, H; İbanoğlu, Ş. 2012a. Ozonation of corn and potato starch in aqueous solution: effects on the thermal, pasting and structural properties. *International Journal of Food Science & Technology* 47(9): 1958–1963.

- Çatal, H; İbanoğlu, Ş. 2012b. Structure, physico-chemical and microbiological properties of ozone-oxidized wheat, corn, potato and rice starches. *Journal of Food Science and Engineering* 2(2): 196–205.
- Cavalcanti, R. N; Santos, D. T; Meireles, M.A.A. 2011. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems-An overview. *Food Research International* 44(2): 499-509.
- Chávez-Murillo, C. E; Wang, Y. J; Bello-Pérez, L. A. 2008. Morphological, physicochemical and structural characteristics of oxidized barley and corn starches. *Starch-Stärke* 60(11): 634-645.
- Cheetham, N. W; Tao, L. 1998. Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. *Carbohydrate Polymers* 36(4): 277–284.
- Chen, Z; Schols, H. A; Voragen, A. G. J. 2003. Starch granule size strongly determines starch noodle processing & noodle quality. *Journal of Food Science* 68: 1584-1589.
- Chen, Y. F; Kaur, L; Singh, J. 2018. Chemical modification of starch. In: *Starch in Food* (pp. 283-321). Woodhead Publishing.
- Chung, H.-J; Li, X.-Q; Kalinga, D; Lim, S.-T; Yada, R; Liu, Q. 2014. Physicochemical properties of dry matter and isolated starch from potatoes grown in different locations in Canada. *Food Research International* 57: 89–94.
- CIP International Potato Center. 2024. Potato Facts and Figures. Obtenido de <https://cipotato.org/potato/potato-facts-and-figures/>. Accesado el 04 de enero de 2024.
- Cooke, D; Gidley, M. J. 1992. Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition. *Carbohydrate research* 227: 103-112.
- Cruz, G; Ribotta, P. D; Ferrero, C; Iturriaga, L. B. 2016. Physicochemical and rheological characterization of Andean tuber starches: Potato (*Solanum tuberosum* ssp. *Andigenum*), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and Papalisa (*Ullucus tuberosus* Caldas). *Starch-Stärke* 68: 1084–1094.
- Dabas, D; Shegog, R; Ziegler, G; Lambert, J. 2013. Avocado (*Persea americana*) seed as a source of bioactive phytochemicals. *Current Pharmaceutical Design* 19(34): 6133-6140.
- Das, A. B; Goud, V. V; Das, C. 2019. Microencapsulation of anthocyanin extract from purple rice bran using modified rice starch and its effect on rice dough rheology. *International Journal of Biological Macromolecules* 124: 573-581.

- Del Castillo-Llamosas, A; del Río, P. G; Pérez-Pérez, A; Yáñez, R; Garrote, G; Gullón, B. 2021. Recent advances to recover value-added compounds from avocado by-products following a biorefinery approach. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* 28: 100433.
- Dome, K; Podgorbunskikh, E; Bychkov, A; Lomovsky, O. 2020. Changes in the crystallinity degree of starch having different types of crystal structure after mechanical pretreatment. *Polymers* 12(3): 641.
- Egúsqüiza, R. (2000). *La papa: Producción, Transformación y comercialización*. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. 192 p.
- Englyst, H. N; Kingman, S. M; Cummings, J. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition* 46: S33–S50.
- Falade, K. O; Ayetigbo, O. E. 2015. Effects of annealing, acid hydrolysis and citric acid modifications on physical and functional properties of starches from four yam (*Dioscorea* spp.) cultivars. *Food Hydrocolloids* 43: 529-539.
- Fang, J. M; Fowler, P. A; Tomkinson, J; Hill, C. A. S. 2002. The preparation and characterisation of a series of chemically modified potato starches. *Carbohydrate Polymers* 47(3): 245-252.
- Fang, Z; Bhandari, B. 2010. Encapsulation of polyphenols - a review. *Trends in Food Science & Technology* 21: 510-523.
- Ferrari, C. C; Germer, S. P. M; Alvim, I. D; Vissotto, F. Z; de Aguirre, J. M. 2012. Influence of carrier agents on the physicochemical properties of blackberry powder produced by spray drying. *International Journal of Food Science & Technology* 47(6): 1237-1245.
- Figüeroa, J. G; Borrás-Linares, I; Lozano-Sánchez, J; Segura-Carretero, A. 2018. Comprehensive identification of bioactive compounds of avocado peel by liquid chromatography coupled to ultra-high-definition accurate-mass Q-TOF. *Food Chemistry* 245: 707–716.
- Flores-Silva, P. C; Roldan-Cruz, C. A; Chavez-Esquivel, G; Vernon-Carter, E. J; Bello-Perez, L. A; Alvarez-Ramirez, J. 2017. In vitro digestibility of ultrasound-treated corn starch. *Starch-Stärke* 69(9-10): 1700040.
- Fries, A; Tapia, M. 2007. *Guía de campo de los cultivos andinos*. Lima, Perú, FAO. 209 p.
- Frost, K; Kaminski, D; Kirwan, G; Lascaris, E; Shanks, R. 2009. Crystallinity and structure of starch using wide angle X-ray scattering. *Carbohydrate polymers* 78(3): 543-548.

- Gao, Y; Wang, L; Yue, X; Xiong, G; Wu, W; Qiao, Y; Liao, L. 2014. Physicochemical properties of lipase-catalyzed laurylation of corn starch. *Starch-Stärke* 66: 450–456.
- GEA Niro Research Laboratory. 2003. Analytical methods dry milk products (Niro Analytical Methods, No. A14 a) [pdf file]. Retrieved from http://www.gea.com/en/binaries/A_14_a_-_Hygroscopicity_tcm11-30922.pdf
- Ghanbarzadeh, B; Almasi, H; Entezami, A. A. 2011. Improving the barrier and mechanical properties of corn starch-based edible films: Effect of citric acid and carboxymethyl cellulose. *Industrial Crops and products* 33(1): 229-235.
- Gomand, S.V; Lamberts, L; Visser, R. G. F; Delcour, J. A. 2010. Physicochemical properties of potato and cassava starches and their mutants in relation to their structural properties. *Food Hydrocolloids* 24: 424-433.
- Gómez, R; Roca, W; Ordinola, M; Manrique, K. 2008. *Papas nativas del Perú: catálogo de variedades y usos gastronómicos*. MINAGRI. Lima. Perú.
- Gonçalves, E. C. B. A; Lozano-Sanchez, J; Gomes, S; Ferreira, M. S. L; Cameron, L. C; Segura-Carretero, A. 2018. Byproduct Generated During the Elaboration Process of Isotonic Beverage as a Natural Source of Bioactive Compounds. *Journal of Food Science* 83(10): 2478-2488.
- Guo, Z; Zeng, S; Zhang, Y; Lu, X; Tian, Y; Zheng, B. 2015. The effects of ultra-high pressure on the structural, rheological and retrogradation properties of lotus seed starch. *Food Hydrocolloids* 44: 285-291.
- Gutiérrez, H; de la Vara, R. 2008. *Análisis y diseño de experimentos*. McGrwaw-Hill Interamericana, México D.F. 564 p.
- Gutiérrez, R; Valencia, C. 2010. *Las papas nativas de Canchis: un catálogo de biodiversidad*. Lima, PE, Soluciones Prácticas. 87 p.
- He, G.-Q; Song, X.-Y; Ruan, H; Chen, F. 2006. Octenyl succinic anhydride modified early Indica rice starches differing in amylose content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 2775–2779.
- Herrera, M. P; Vasanthan, T. 2018. Rheological characterization of gum and starch nanoparticle blends. *Food Chemistry* 243: 43-49.
- Hizukuri, S. 1986. Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins, and its significance. *Carbohydrate Research* 147(2): 342-347.

- Hoover, R; Ratnayake, W. 2001. Determination of total amylose content of starch. In: Current protocols in food analytical chemistry, N° 1, p. E2.3.1-E2.3.5, Chichester, UK, Editorial John Wiley & Sons.
- Hou, F; Mu, T; Ma, M; Blecker, C. 2019. Optimization of processing technology using response surface methodology and physicochemical properties of roasted sweet potato. *Food Chemistry* 278: 136-143.
- Hoyos-Leyva, J. D; Bello-Pérez, L. A; Alvarez-Ramirez, J; Agama-Acevedo, E. (2017). Structural characterization of aroid starches by means of chromatographic techniques. *Food Hydrocolloids* 69: 97-102.
- Hui, R; Qi-he, C; Ming-liang, F; Qiong, X; Guo-qing, H. 2009. Preparation and properties of octenyl succinic anhydride modified potato starch. *Food Chemistry* 114: 81–86.
- Iida, Y; Tuziuti, T; Yasui, K; Towata, A; Kozuka, T. 2008. Control of viscosity in starch and polysaccharide solutions with ultrasound after gelatinization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 9: 140–146.
- Izidoro, D. R; Sierakowski, M.-R; Haminiuk, C. W. I; de Souza, C. F; Scheer, A. de P. 2011. Physical and chemical properties of ultrasonically, spray-dried green banana (*Musa cavendish*) starch. *Journal of Food Engineering* 104: 639–648.
- Jambrak, A. R; Herceg, Z; Šubarić, D; Babić, J; Brnčić, M; Brnčić, S. R; Bosilijkov, T; Čvek, D; Tripalo, B; Gelo, J. 2010. Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydrate Polymers* 79(1): 91-100.
- Jane, J; Wong, K; McPherson, A. E. 1997. Branch-structure difference in starches of A- and B-type X-ray patterns revealed by their Naegeli dextrans. *Carbohydrate Research* 300(3): 219–227.
- Jin, Y; Li, J. Z; Nik, A. M. 2018. Starch-based microencapsulation. In Malin Sjöö, Lars Nilsson (eds.). *Starch in Food*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Second Edition, Woodhead Publishing (pp. 661-690).
- Jiugao, Y; Ning, W; Xiaofei, M. 2005. The effects of citric acid on the properties of thermoplastic starch plasticized by glycerol. *Starch-Stärke* 57(10): 494-504.
- Jyothi, A. N; Moorthy, S. N; Sreekumar, J. N; Rajasekharan, K. N. 2007. Studies on the properties of citrate derivatives of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch synthesized by microwave technique. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(5) 871-879.

- Karim, A. A; Toon, L. C; Lee, V. P. L; Ong, W. Y; Fazilah, A; Noda, T. 2007. Effects of Phosphorus Contents on the Gelatinization and Retrogradation of Potato Starch. *Journal of Food Science* 72(2): C132–C138.
- Kaur, L; Singh, N; Sodhi, N. S. 2002. Some properties of potatoes and their starches II. Morphological, thermal and rheological properties of starches. *Food Chemistry* 79(2): 183–192.
- Kaur, L; Singh, J; McCarthy, O; Singh, H. 2007. Physico-chemical, rheological and structural properties of fractionated potato starches. *Journal of Food Engineering* 82: 383-394.
- Kim, Y. Y; Woo, K. S; Chung, H. J. 2018. Starch characteristics of cowpea and mungbean cultivars grown in Korea. *Food Chemistry* 263: 104-111.
- Klaushofer, H; Berghofer, E; Pieber, R. 1979. Quantitative bestimmung von citronensaure in citratstärken. *Starch-Stärke* 31: 259-261.
- Kong, X; Kasapis, S; Bertoft, E; Corke, H. 2010. Rheological properties of starches from grain amaranth and their relationship to starch structure. *Starch-Stärke* 62: 302–308.
- Kosińska, A; Karamać, M; Estrella, I; Hernández, T; Bartolomé, B; Dykes, G. A. 2012. Phenolic Compound Profiles and Antioxidant Capacity of *Persea americana* Mill. Peels and Seeds of Two Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(18): 4613-4619.
- Kuck, L. S; Noreña, C. P. Z. 2016. Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food chemistry* 194: 569-576.
- Kumar, A; Punia, S; Kaur, M; Sing, K. 2019. A novel starch from *Pongamia pinnata* seeds: Comparison of its thermal, morphological and rheological behaviour with starches from other botanical sources. *International Journal of Biological Macromolecules* 143: 984-990.
- Kumar, Y; Saxena, D. C. 2021. Valorization of unpoped Foxnut starch in stabilizing Pickering emulsion using OSA modification. *International Journal of Biological Macromolecules* 191: 657-667.
- Li, D; Zhu, F. 2017. Physicochemical properties of kiwifruit starch. *Food Chemistry* 220: 129–136.

- Li, M. N; Xie, Y; Chen, H. Q; Zhang, B. 2019. Effects of heat-moisture treatment after citric acid esterification on structural properties and digestibility of wheat starch, A-and B-type starch granules. *Food Chemistry*, 272, 523-529.
- Liang, Q; Chen, X; Ren, X; Yang, X; Raza, H; Ma, H. 2021. Effects of ultrasound-assisted enzymolysis on the physicochemical properties and structure of arrowhead-derived resistant starch. *LWT-Food Science and Technology* 147: 111616.
- Lin, N; Huang, P; Anderson, D; Yu, J. 2011. Preparation, modification, and application of starch nanocrystals in nanomaterials: A review. *Journal of Nanomaterials* 20: 1-13.
- Liu, H; Liang, R; Antoniou, J; Liu, F; Shoemaker, C. F; Li, Y; Zhong, F. 2014. The effect of high moisture heat-acid treatment on the structure and digestion property of normal maize starch. *Food Chemistry* 159: 222-229.
- Liu, C; An, F; He, H; He, D; Wang, Y; Song, H. 2018. Pickering emulsions stabilized by compound modified areca taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) starch with ball-milling and OSA. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 556: 185–194.
- Lopez-Silva, M; Bello-Perez, L. A; Agama-Acevedo, E; Alvarez-Ramirez, J. 2019. Effect of amylose content in morphological, functional and emulsification properties of OSA modified corn starch. *Food Hydrocolloids* 97: 105212.
- Lovera, M; Pérez, E; Laurentin, A. 2017. Digestibility of starches isolated from stem and root tubers of arracacha, cassava, cush–cush yam, potato and taro. *Carbohydrate Polymers* 176: 50–55.
- Luo, Z; Fu, X; He, X; Luo, F; Gao, Q; Yu, S. 2008. Effect of ultrasonic treatment on the physicochemical properties of maize starches differing in amylose content. *Starch-Stärke* 60(11): 646-653.
- Lv, X; Guo, C; Ma, Y; Liu, B. 2022. Effect of citric acid esterification on the structure and physicochemical properties of tigernut starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 222, 2833-2842.
- Mahdavi, S. A; Jafari, S. M; Assadpour, E; Ghorbani, M. 2016. Storage stability of encapsulated barberry's anthocyanin and its application in jelly formulation. *Journal of Food Engineering* 181: 59-66.
- Malekjani, N; Jafari, S. M. 2020. Food process modeling and optimization by response surface methodology (RSM). In Sevda, S; Singh, A (eds.). In *Mathematical and Statistical Applications in Food Engineering*. CRC Press (pp. 181-203).

- Maniglia, B. C; Castanha, N; Le-Bail, P; Le-Bail, A; Augusto, P. E. 2020. Starch modification through environmentally friendly alternatives: A review. *Critical reviews in food science and nutrition* 61(15): 2482-2505.
- Maniglia, B. C; Castanha, N; Rojas, M. L; Augusto, P. E. 2021. Emerging technologies to enhance starch performance. *Current Opinion in Food Science* 37: 26-36.
- Martínez, P; Málaga, A; Betalleluz, I; Ibarz, A; Velezmoro, C. 2015. Functional characterization on native starch of Peruvian native potatoes (*Solanum phureja*). *Scientia Agropecuaria* 6(4): 291-301.
- Martínez, M. 2016. Residuos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.) variedad 'Lorca' como fuente de compuestos fenólicos y su aplicación como antioxidantes. Tesis para optar el Grado de *Magister Scientiae* en Ciencias Ambientales. Universidad Nacional La Molina. Perú. 87 p.
- Martínez, P; Vilcarromero, D; Pozo, D; Peña, F; Cervantes-Uc, J. M; Uribe-Calderón, J; Velezmoro, C. 2021. Characterization of starches obtained from several native potato varieties grown in Cusco (Peru). *Journal of Food Science* 86(3): 907-914.
- Martínez, P; Betalleluz-Pallardel, I; Cuba, A; Peña, F; Cervantes-Uc, J. M; Uribe-Calderón, J. A; Velezmoro, C. 2022. Effects of natural freeze-thaw treatment on structural, functional, and rheological characteristics of starches isolated from three bitter potato cultivars from the Andean region. *Food Hydrocolloids* 132: 107860.
- Megazyme International. 2017. Total starch Assay Procedure. Co. Wicklow, Ireland, 23 p.
- Mei, J; Zhou, D; Jin, Z; Xu, X; Chen, H. 2015. Effects of citric acid esterification on digestibility, structural and physicochemical properties of cassava starch. *Food Chemistry* 187: 378-384.
- Mhaske, P; Wang, Z; Farahnaky, A; Kasapis, S; Majzoobi, M. 2021. Green and clean modification of cassava starch—effects on composition, structure, properties and digestibility. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 62(28): 7801-7826.
- Mirabella, N; Castellani, V; Sala, S. 2014. Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. *Journal Cleaner Production* 65: 28-41.
- Monroy, Y; Rivero, S; García, M. A. 2018. Microstructural and techno-functional properties of cassava starch modified by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry* 42: 795-804.
- Montañez, M. 2014. Caracterización biológica tubérculos de papas nativas (*Solanum* spp) almacenados en luz difusa y oscuridad. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, PE. 86 p.

- Montgomery, D. (2017). *Diseño y análisis de experimentos*. Editorial Limusa S.A., México D.F., México. 686 p.
- Mutlu, S; Kahraman, K; Öztürk, S. 2017. Optimization of resistant starch formation from high amylose corn starch by microwave irradiation treatments and characterization of starch preparations. *International Journal of Biological Macromolecules* 95: 635-642.
- Mun, S. H; Shin, M. 2006. Mild hydrolysis of resistant starch from maize. *Food Chemistry* 96(1): 115-121.
- Nema, P; Ramayya, N; Duncan, E; Niranjana, K. 2008. Potato glycoalkaloids: formation and strategies for mitigation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88(11):1869-1881.
- No, J; Mun, S; Shin, M. 2019. Properties and digestibility of octenyl succinic anhydride-modified japonica-type waxy and non-waxy rice starches. *Molecules* 24: 765.
- Noda, T; Tsuda, S; Mori, M; Takigawa, S; Matsuura-Endo, C; Kim, S; Yamauchi, H. 2006. Determination of the phosphorus content in potato starch using an energy dispersive X-ray fluorescence method. *Food Chemistry* 95(4): 632-637.
- Olawoye, B; Fagbohun, O. F; Gbadamosi, S. O; Akanbi, C. T. 2020. Succinylation improves the slowly digestible starch fraction of cardaba banana starch. A process parameter optimization study. *Artificial Intelligence in Agriculture* 4: 219-228.
- Onyango, C; Mutungi, C; Unbehend, G; Lindhauer, M. G. 2010. Batter rheology and bread texture of sorghum-based gluten-free formulations modified with native or pregelatinised cassava starch and α -amylase, *International Journal of Food Science & Technology* 45(6): 1228-1235.
- Ovando-Martinez, M; Whitney, K; Ozsisli, B; Simsek, S. 2016. Physicochemical properties of octenyl succinic esters of cereal, tuber and root starches. *Journal of Food Processing and Preservation* 41(1): e12872.
- Pang, S. F; Yusoff, M. M; Gimbin, J. 2014. Assessment of phenolic compounds stability and retention during spray drying of *Orthosiphon stamineus* extracts. *Food Hydrocolloids* 37: 159-165.
- Páramos, P. R; Granjo, J. F; Corazza, M. L; Matos, H. A. 2020. Extraction of high value products from avocado waste biomass. *The Journal of Supercritical Fluids* 165: 104988.
- Patindol, J; Gu, X; Wang, Y. J. 2009. Chemometric analysis of the gelatinization and pasting properties of long-grain rice starches in relation to fine structure. *Starch-Stärke* 61(1): 3-11.

- Peña, E. 2017. Extracción y caracterización fisicoquímica y funcional de almidones de cinco variedades de papas nativas procedentes de Ilave (Puno). Tesis para optar el título profesional de Ingeniera en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional La Molina. Perú. 161 p.
- Pérez, S; Baldwin, P. M; Gallant, D. J. 2009. Structural features of starch granules I. In J. N. BeMiller, & R. L. Whistler (Eds.), *Starch: Chemistry and technology* (3rd ed., pp. 149-192). Amsterdam: Academic Press.
- Pietrzyk, S; Fortuna, T; Juszczak, L; Gałkowska, D; Bączkiewicz, M; Łabanowska, M; Kurdziel, M. 2018. Influence of amylose content and oxidation level of potato starch on acetylation, granule structure and radicals' formation. *International Journal of Biological Macromolecules* 106: 57-67.
- Punia, S; Sandhu, K. S; Dhull, S. B; Kaur, M. 2019a. Dynamic, shear and pasting behaviour of native and octenyl succinic anhydride (OSA) modified wheat starch and their utilization in preparation of edible films. *International Journal of Biological Macromolecules* 133: 110-116.
- Punia, S; Siroha, A. K; Sandhu, K. S; Kaur, M. 2019b. Rheological and pasting behavior of OSA modified mungbean starches and its utilization in cake formulation as fat replacer. *International Journal of Biological Macromolecules* 128: 230-236.
- Purohit, S. R; Rao, P. S. 2017. Optimization of paddy parboiling process for higher starch crystallinity by response surface methodology. *International journal of biological macromolecules* 104: 1091-1098.
- Qi, Y; Du, F; Jiang, Z; Qiu, B; Guan, Q; Liu, J; Xu, T. 2018. Optimization of starch isolation from red sorghum using response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology* 91: 242-248.
- Quintana, J; Beltrán, R. 2008. Experiencia en la implementación del proyecto piloto: Aprovechamiento de la papa de calidad tercera de las comunidades campesinas de la provincia de Andahuaylas par la producción de almidón. I Congreso Nacional de la Papa. Lima. Perú.
- Ramadoss, B. R; Gangola, M. P; Agasimani, S; Jaiswal, S; Venkatesan, T; Sundaram, G. R; Chibbar, R. N. 2019. Starch granule size and amylopectin chain length influence starch in vitro enzymatic digestibility in selected rice mutants with similar amylose concentration. *Journal of Food Science and Technology* 56: 391-400.

- Reddy, N; Yang, Y. 2010. Citric acid cross-linking of starch films. *Food Chemistry* 118(3): 702-711.
- Robert, P; Torres, V; García, P; Vergara, C; Sáenz, C. 2015. The encapsulation of purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) pulp by using polysaccharide-proteins as encapsulating agents. *LWT-Food Science and Technology* 60(2): 1039-1045.
- Rocha, J. D. C. G; de Barros, F. A. R; Perrone, Í. T; Viana, K. W. C; Tavares, G. M; Stephani, R; Stringheta, P. C. 2019. Microencapsulation by atomization of the mixture of phenolic extracts. *Powder Technology* 343: 317-325.
- Rodríguez-Carpena, J. G; Morcuende, D; Andrade, M. J; Kylli, P; Estévez, M. 2011. Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(10): 5625-5635.
- Rosero, J. C; Cruz, S; Osorio, C; Hurtado, N. 2019. Analysis of phenolic composition of byproducts (seeds and peels) of avocado (*Persea americana* Mill.) cultivated in Colombia. *Molecules* 24(17): 3209.
- Saavedra, J; Córdova, A; Navarro, R; Díaz-Calderón, P; Fuentealba, C; Astudillo-Castro, C; ... Galvez, L. 2017. Industrial avocado waste: Functional compounds preservation by convective drying process. *Journal of Food Engineering* 198: 81–90.
- Sablania, V; Bosco, S. J. D. 2018. Optimization of spray drying parameters for *Murraya koenigii* (Linn) leaves extract using response surface methodology. *Powder Technology* 335: 35-41.
- Saeaurng, K; Kuakpetoon, D. 2018. A comparative study of mango seed kernel starches and other commercial starches: the contribution of chemical fine structure to granule crystallinity, gelatinization, retrogradation, and pasting properties. *Journal of Food Measurement and Characterization* 12: 2444-2452.
- Salazar-López, N. J; Domínguez-Avila, J. A; Yahia, E. M; Belmonte-Herrera, B. H; Wall-Medrano, A; Montalvo-González, E; González-Aguilar, G. A. 2020. Avocado fruit and by-products as potential sources of bioactive compounds. *Food Research International* 138: 109774.
- Samborska, K; Boostani, S; Geranpour, M; Hosseini, H; Dima, C; Khoshnoudi-Nia, S; ... Jafari, S. M. 2021. Green biopolymers from by-products as wall materials for spray drying microencapsulation of phytochemicals. *Trends in Food Science & Technology* 108: 297-325.

- Sánchez-Rivera, M. M; Núñez-Santiago, M. D. C; Bello-Pérez, L. A; Agama-Acevedo, E; Alvarez-Ramirez, J. 2017. Citric acid esterification of unripe plantain flour: Physicochemical properties and starch digestibility. *Starch-Stärke* 69(9-10): 1700019.
- Sandhu, K. S; Sharma, L; Kaur, M. 2015. Effect of granule size on physicochemical, morphological, thermal and pasting properties of native and 2-octenyl-1-ylsuccinylated potato starch prepared by dry heating under different pH conditions. *LWT-Food Science and Technology* 61(1): 224-230.
- Sandhu, K. S; Siroha, A. K. 2017. Relationships between physicochemical, thermal, rheological and in vitro digestibility properties of starches from pearl millet cultivars. *LWT-Food Science and Technology* 83: 213-224.
- Sang, Y; Bean, S; Seib, P.A; Pedersen, J; Shi, Y.-C. 2008. Structure and functional properties of sorghum starches differing in amylose content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(15): 6680-6685.
- Segovia, F. J; Corral-Pérez, J. J; Almajano, M. P. 2016. Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds. *Industrial Crops and Products* 85: 213-220.
- Sevenou, O; Hill, S. E; Farhat, I. A; Mitchell, J. R. 2002. Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules* 31: 79- 85.
- Shannon, J. C; Garwood, D. L; Boyer, C. D. 2009. Genetics and Physiology of Starch Development. In Bemiller, J; Whistler, R (eds.). *Starch: chemistry and technology*. 3rd ed. Burlington, US, Academic Press. 879 p.
- Shi, R; Bi, J; Zhang, Z; Zhu, A; Chen, D; Zhou, X; ... Tian, W. 2008. The effect of citric acid on the structural properties and cytotoxicity of the polyvinyl alcohol/starch films when molding at high temperature. *Carbohydrate Polymers* 74(4): 763-770.
- Shin, S. I; Lee, Ch. J; Kim, D. I; Lee, H. A; Cheong, J. J; Chung, K. M; Baik, M. Y; Park, Ch. S; Kim, Ch. H; Moon, T. W. 2007. Formation, characterization, and glucose response in mice to rice starch with low digestibility produced by citric acid treatment. *Journal of Cereal Science* 45: 24-33.
- Shogren, R. L; Viswanathan, A; Felker, F; Gross, R. A. 2000. Distribution of octenyl succinate groups in octenyl succinic anhydride modified waxy maize starch. *Starch/Stärke* 52: 196–204.

- Silva, P. I; Stringheta, P. C; Teófilo, R. F; de Oliveira, I. R. N. 2013. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering* 117(4): 538-544.
- Silva, E. K; Anthero, A. G. D. S; Emerick, L. B; Zabot, G. L; Hubinger, M. D; Meireles, M. A. A. 2022. Low-frequency ultrasound-assisted esterification of *Bixa orellana* L. seed starch with octenyl succinic anhydride. *International Journal of Biological Macromolecules* 207: 1-8.
- Simsek, S; Ovando-Martinez, M; Marefati, A; Sjöo, M; Rayner, M. 2015. Chemical composition, digestibility and emulsification properties of octenyl succinic esters of various starches. *Food Research International* 75: 41–49.
- Simsek, S; Herken, E. N; Ovando-Martinez, M. 2016. Chemical composition, nutritional value and in vitro starch digestibility of roasted chickpeas. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96(8): 2896–2905.
- Singh, N; Kaur, L. 2004. Morphological, thermal, rheological and retrogradation properties of potato starch fractions varying in granule size. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84(10): 1241–1252.
- Singh, J; Kaur, L; Singh, N. 2004a. Effect of Acetylation on Some Properties of Corn and Potato Starches. *Starch-Stärke* 56(12): 586–601.
- Singh, N; Kaur, L; Singh, J. 2004b. Relationships between various physicochemical, thermal and rheological properties of starches separated from different potato cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84(7): 714–720.
- Singh, J; McCarthy, O. J; Singh, H; Moughan, P. J. 2008. Low temperature post-harvest storage of New Zealand Taewa (Maori potato): Effects on starch physico-chemical and functional characteristics. *Food Chemistry* 106(2): 583–596.
- Singh, J; Kaur, L. 2009. *Advances in potato chemistry and technology*. Burlington, US, Editorial Academic Press. 508 p.
- Singleton, V; Rossi, J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16(3): 144-158.
- Soldera-Silva, A; Seyfried, M; Campestrini, L. H; Zawadzki-Baggio, S. F; Minho, A. P; Molento, M. B; Maurer, J. B. B. 2018. Assessment of anthelmintic activity and bio-guided chemical analysis of *Persea americana* seed extracts. *Veterinary parasitology* 251: 34-43.

- Song, X; He, G; Ruan, H; Chen, Q. 2006. Preparation and properties of octenyl succinic anhydride modified early indica rice. *Starch-Stärke* 58(2): 109-117.
- Soong, Y. Y; Barlow, P. J. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry* 88(3): 411-417.
- Soria, A.C; Villamiel, M. 2010. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in Food Science and Technology* 21(7): 323–331.
- Steffe, J. 1996. *Rheological methods in food process engineering*. 2 ed. Michigan, US, Editorial Freeman press. 418p.
- Sun, Z; Chen, Z; Xu, B; Shi, Y.-C. 2019. Distribution of octenylsuccinate substituents within a single granule of modified waxy maize starch determined by Raman microspectroscopy. *Carbohydrate Polymers* 216: 282–286.
- Sweedman, M. C., Tizzotti, M. J., Schäfer, C., & Gilbert, R. G. (2013). Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: A review. *Carbohydrate Polymers* 92(1): 905–920.
- Tesfaye, T., Mebrate, M. A., Gibril, M., Ferede, E., Limeneh, D. Y., & Kong, F. (2022). Beneficiation of avocado processing industry by-product: A review on future prospect. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry* 5: 100253.
- Timgren, A; Rayner, M; Dejmek, P; Marku, D; Sjöo, M. 2013. Emulsion stabilizing capacity of intact starch granules modified by heat treatment of octenyl succinic anhydride. *Food Science & Nutrition* 1(2): 157–171.
- Tolun, A; Altintas, Z; Artik, N. 2016. Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. *Journal of biotechnology* 239: 23-33.
- Tolun, A; Artik, N; Altintas, Z. 2020. Effect of different microencapsulating materials and relative humidities on storage stability of microencapsulated grape pomace extract. *Food Chemistry* 302: 125347.
- Tonon, R; Brabet, C; Hubinger, M. 2010. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried acai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Research International* 43(3): 907-914.
- Tremocoldi, M. A; Rosalen, P. L; Franchin, M; Massarioli, A. P; Denny, C; Daiuto, É. R; ... Alencar, S. M. D. 2018. Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds. *PloS one* 13(2): e0192577.

- Uchenna, U. E; Shori, A. B; Baba, A. S. 2017. Inclusion of avocado (*Persea americana*) seeds in the diet to improve carbohydrate and lipid metabolism in rats. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo* 54(3): 140-148.
- Upadhyay, R; Chen, J. 2020. Rheology and tribology assessment of foods: A food oral processing perspective. In Pal, K; Banerjee, I; Sarkar, P; Kim, D; Deng, W. P; Dubey, N. K; Majumder, K (eds.). *Biopolymer-Based Formulations*. Elsevier (pp. 697-715)
- Valente, M. D. C. D. C; do Nascimento, R. A; Santana, E. B; Ribeiro, N. F. D. P; Costa, C. M; de Faria, L. J. 2019. Spray drying of extract from *Euterpe oleracea* Mart.: Optimization of process and characterization of the açai powder. *Journal of Food Process Engineering* 42(8): e13253.
- van Soest, J. J. G; Tournois, H; de Wit, D; Vliegthart, J. F. G. 1995. Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydrate Research* 279: 201–214.
- Vasanthan, T; Bergthaller, W; Driedger, D; Yeung, J; Sporns, P. 1999. Starch from Alberta potatoes: wet-isolation and some physicochemical properties. *Food Research International* 32(5): 355–365.
- Vicente, J; de Souza Cezarino, T; Pereira, L. J. B; da Rocha, E. P; Sá, G. R; Gamallo, O. D; ... Garcia-Rojas, E. E. 2017. Microencapsulation of sacha inchi oil using emulsion-based delivery systems. *Food Research International* 99: 612-622.
- Vikram, A; Firoz, S; Kishore, D; Mouli, Y. C; Venkataramudu, T. 2012. Formulation and evaluation of mefenamic acid tablets by using modified starch. *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 2(2): 46-53.
- Wang, F. C; Chung, D. S; Seib, P. A; Kim, Y. S. 2000. Optimum steeping process for wet milling of sorghum. *Cereal chemistry* 77(4): 478-483.
- Wang, L; Xie, B; Shi, J; Xue, S; Deng, Q; Wei, Y; Tian, B. 2010. Physicochemical properties and structure of starches from Chinese rice cultivars. *Food Hydrocolloids* 24(2): 208-216.
- Wang, W; Bostic, T. R; Gu, L. 2010b. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry* 122(4): 1193–1198.
- Wang, X; Li, X; Chen, L; Xie, F; Yu, L; Li, B. 2011. Preparation and characterisation of octenyl succinate starch as a delivery carrier for bioactive food components. *Food Chemistry* 126(3): 1218-1225.

- Wang, C; He, X; Huang, Q; Fu, X; Luo, F; Li, L. 2013. Distribution of octenylsuccinic substituents in modified A and B polymorph starch granules. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61(51): 12492–12498.
- Wang, C; Tang, C.-H; Fu, X; Huang, Q; Zhang, B. 2016. Granular size of potato starch affects structural properties, octenylsuccinic anhydride modification and flowability. *Food Chemistry* 212: 453–459.
- Wang, H; Xu, K; Ma, Y; Liang, Y; Zhang, H; Chen, L. 2020. Impact of ultrasonication on the aggregation structure and physicochemical characteristics of sweet potato starch. *Ultrasonics sonochemistry* 63: 104868.
- Wang, J; Lan, T; Lei, Y; Suo, J; Zhao, Q; Wang, H; ... Ma, T. 2021. Optimization of ultrasonic-assisted enzymatic extraction of kiwi starch and evaluation of its structural, physicochemical, and functional characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry* 81: 105866.
- Warren, F. J; Gidley, M. J; Flanagan, B. M. 2016. Infrared spectroscopy as a tool to characterise starch ordered structure-a joint FTIR–ATR, NMR, XRD and DSC study. *Carbohydrate Polymers* 139: 35-42.
- Waterschoot, J; Gomand, S. V; Willebrords, J. K; Fierens, E; Delcour, J. A. 2014. Pasting properties of blends of potato, rice and maize starches. *Food hydrocolloids* 41: 298-308.
- Waterschoot, J; Gomand, S. V; Delcour, J. A. 2016. Impact of swelling power and granule size on pasting of blends of potato, waxy rice and maize starches. *Food Hydrocolloids* 52: 69–77.
- Wing, R. E. (1996). Starch citrate: preparation and ion exchange properties. *Starch-Stärke* 48(7-8): 275-279.
- Witek-Krowiak, A; Chojnacka, K; Podstawczyk, D; Dawiec, A; Pokomeda, K. 2014. Application of response surface methodology and artificial neural network methods in modelling and optimization of biosorption process. *Bioresource Technology* 160: 150–160.
- Won, C; Jin, Y. I; Kim, M; Lee, Y; Chang, Y. H. 2017. Structural and rheological properties of potato starch affected by degree of substitution by octenyl succinic anhydride. *International journal of food properties* 20(12): 3076-3089.
- Wurzburg, O. B. 1986. *Modified Starches: Properties and Uses*. CRC Press Inc., Boca Raton.
- Xie, X; Liu, Q. 2004. Development and physicochemical characterization of new resistant citrate starch from different corn starches. *Starch-Stärke* 56(8): 364-370.

- Xie, X. S; Liu, Q; Cui, S. W. 2006. Studies on the granular structure of resistant starches (type 4) from normal, high amylose and waxy corn starch citrates. *Food Research International* 39(3): 332-341.
- Xu, G. H; Chen, J. C; Liu, D. H; Zhang, Y. H; Jiang, P; Ye, X. Q. 2008. Minerals, Phenolic Compounds, and Antioxidant Capacity of Citrus Peel Extract by Hot Water. *Journal of Food Science* 73(1): C11–C18.
- Xu, Y; Grizzard, C; Sismour, E; Bhardwaj, H; Li, Z. 2013. Resistant starch content, molecular structure and physicochemical properties of starches in Virginia-grown corn, potato and mungbean. *Journal of Cereals and Oilseeds* 4(1): 10–18.
- Yang, Q. Y; Lu, X. X; Chen, Y. Z; Luo, Z. G; Xiao, Z. G. 2019a. Fine structure, crystalline and physicochemical properties of waxy corn starch treated by ultrasound irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry* 51: 350-358.
- Yang, W; Kong, X; Zheng, Y; Sun, W; Chen, S; Liu, D; Zhang, H; ... Ye, X. 2019b. Controlled ultrasound treatments modify the morphology and physical properties of rice starch rather than the fine structure. *Ultrasonics Sonochemistry* 59: 104709.
- Ye, J; Luo, S; Huang, A; Chen, J; Liu, C; McClements, D. J. 2019. Synthesis and characterization of citric acid esterified rice starch by reactive extrusion: A new method of producing resistant starch. *Food Hydrocolloids* 92: 135-142.
- Yolmeh, M; Jafari, S. M. 2017. Applications of response surface methodology in the food industry processes. *Food and Bioprocess Technology* 10(3): 413-433.
- Yoo, S. H; Jane, J. L. 2002. Molecular weights and gyration radii of amylopectins determined by high-performance size-exclusion chromatography equipped with multi-angle laser-light scattering and refractive index detectors. *Carbohydrate polymers* 49(3): 307-314.
- Yousefi, A. R; Razavi, S. M. 2015. Dynamic rheological properties of wheat starch gels as affected by chemical modification and concentration. *Starch-Stärke* 67(7-8): 567-576.
- Zeng, F; Gao, Q. Y; Han, Z; Zeng, X. A; Yu, S. J. 2016. Structural properties and digestibility of pulsed electric field treated waxy rice starch. *Food Chemistry* 194: 1313-1319.
- Zhang, B; Huang, Q; Luo, F; Fu, X; Jiang, H; Jane, J. 2011. Effects of octenylsuccinylation on the structure and properties of high-amylose maize starch. *Carbohydrate Polymers* 84(4): 1276–1281.
- Zhang, Y; Dai, Y; Yu, K; Ding, X; Hou, H; Wang, W; Zhang, H; Li, X; Dong, H. 2019. Preparation of octenyl succinic anhydride-modified cassava starch by the ultrasonic-

- assisted method and its influence mechanism. *Journal of Food Processing and Preservation* 43: e14222.
- Zhang, Y; Dai, Y; Hou, H; Li, X; Dong, H; Wang, W; Zhang, H. 2020. Ultrasound-assisted preparation of octenyl succinic anhydride modified starch and its influence mechanism on the quality. *Food chemistry: X* 5: 100077.
- Zhong, F; Yokoyama, W; Wang, Q; Shoemaker, C. F. 2006. Rice starch, amylopectin, and amylose: molecular weight and solubility in dimethyl sulfoxide-based solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(6): 2320-2326.
- Zhou, H; Wang, C; Shi, L; Chang, T; Yang, H; Cui, M. 2014. Effects of salts on physicochemical, microstructural and thermal properties of potato starch. *Food Chemistry* 156: 137-143.
- Zhou, F; Liu, Q; Zhang, H; Chen, Q; Kong, B. 2016. Potato starch oxidation induced by sodium hypochlorite and its effect on functional properties and digestibility. *International Journal of Biological Macromolecules* 84: 410–417.
- Zhu, F. 2015. Impact of ultrasound on structure, physicochemical properties, modifications, and applications of starch. *Trends Food Science and Technology* 43(1): 1–17.
- Zuorro, A. 2014. Response surface methodology analysis of polyphenol recovery from artichoke waste. *American Journal of Applied Science* 11(9): 1463-1471.
- Zuorro, A; Maffei, G; Lavecchia, R. 2016. Reuse potential of artichoke (*Cynara scolymus* L.) waste for the recovery of phenolic compounds and bioenergy. *Journal of Cleaner Production* 111: 279-284.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Análisis de varianza y prueba LSD para el contenido de almidón total de los almidones nativos

Cuadro A: ANOVA para el contenido de almidón total

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	13.5042	2	6.75208	2.12	0.1764
Within groups	28.701	9	3.189		
Total (Corr.)	42.2051	11			

ANEXO 2: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de distribución de tamaño de gránulo de los almidones nativos

Cuadro B: ANOVA para D₁₀

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	737.862	2	368.931	158982.03	0.0000
Within groups	0.027847	12	0.00232058		
Total (Corr.)	737.89	14			

Prueba de Múltiples Rangos para D₁₀ por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	Mean	Homogeneous Groups
IB	5	0.0560866	X
IN	5	4.20471	X
LK	5	16.5682	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
IB - IN	*	-4.14862	0.0663819
IB - LK	*	-16.5121	0.0663819
IN - LK	*	-12.3635	0.0663819

* indica una diferencia significativa

Cuadro B.1: ANOVA para D₅₀

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	80.7304	2	40.3652	2410.36	0.0000
Within groups	0.200958	12	0.0167465		
Total (Corr.)	80.9314	14			

Prueba de Múltiples Rangos para D₅₀ por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	Mean	Homogeneous Groups
IB	5	21.8371	X

LK	5	24.7592	X
IN	5	27.5189	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
IB - IN	*	-5.68185	0.178325
IB - LK	*	-2.9221	0.178325
IN - LK	*	2.75974	0.178325

* indica una diferencia significativa

Cuadro B.2: ANOVA para D₉₀

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	1530.93	2	765.466	5784.97	0.0000
Within groups	1.58784	12	0.13232		
Total (Corr.)	1532.52	14			

Prueba de Múltiples Rangos para D₉₀ por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
LK	5	35.4348	X
IN	5	42.7188	X
IB	5	59.5581	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
IB - IN	*	16.8394	0.50126
IB - LK	*	24.1234	0.50126
IN - LK	*	7.28404	0.50126

* indica una diferencia significativa

Cuadro B.3: ANOVA para span

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	10.0254	2	5.01271	80453.56	0.0000
Within groups	0.000747667	12	0.0000623056		
Total (Corr.)	10.0262	14			

Prueba de Múltiples Rangos para span por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
LK	5	0.761987	X
IN	5	1.39957	X
IB	5	2.72478	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
IB - IN	*	1.32521	0.0108771
IB - LK	*	1.96279	0.0108771
IN - LK	*	0.637579	0.0108771

* indica una diferencia significativa

ANEXO 3: Análisis de varianza y prueba LSD para la distribución de tamaño de cadenas de amilopectina de los almidones nativos

Cuadro C: ANOVA para la cadena A (GP 6 a 12) por variedad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	45.2067	2	22.6034	4.36	0.1295
Within groups	15.5538	3	5.18462		
Total (Corr.)	60.7606	5			

Prueba de Múltiples Rangos para la cadena A (GP 6 a 12) por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	Mean	Homogeneous Groups
LK	2	29.0357	X
IB	2	34.1382	X
IN	2	35.3788	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
IB – IN		-1.24068	7.24636
IB – LK		5.10247	7.24636
IN – LK		6.34315	7.24636

* indica una diferencia significativa

Cuadro C.1: ANOVA para la cadena B1 (GP 13 a 24) por variedad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	37.426	2	18.713	6.74	0.0777
Within groups	8.33253	3	2.77751		
Total (Corr.)	45.7585	5			

Prueba de Múltiples Rangos para la cadena B1 (GP 13 a 24) por variedad

Método: 95,0 porcentaje LSD

variedad	Count	Mean	Homogeneous Groups
IN	2	49.5417	X
IB	2	51.6331	XX
LK	2	55.5662	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
IB - IN		2.09142	5.30383
IB - LK		-3.93314	5.30383
IN - LK	*	-6.02456	5.30383

* indica una diferencia significativa

Cuadro C.2: ANOVA para la cadena B2 (GP 25 a 36) por variedad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	1.3274	2	0.663701	1.54	0.3465
Within groups	1.29242	3	0.430806		
Total (Corr.)	2.61982	5			

Prueba de Múltiples Rangos para la cadena B2 (GP 25 a 36) por variedad

Método: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	Mean	Homogeneous Groups
IN	2	8.43918	X
IB	2	8.46591	X
LK	2	9.45005	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
IB – IN		0.0267305	2.08883
IB – LK		-0.984139	2.08883
IN – LK		-1.01087	2.08883

* indica una diferencia significativa

Cuadro C.3: ANOVA para la cadena B3+ (>37) por variedad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0.79249	2	0.396245	8.23	0.0605
Within groups	0.144373	3	0.0481245		
Total (Corr.)	0.936863	5			

Prueba de Múltiples Rangos para la cadena B3+ (>37) por variedad

Método: 95,0 porcentaje LSD

variedad	Count	Mean	Homogeneous Groups
IB	2	5.81309	X
LK	2	5.89365	X
IN	2	6.62116	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
IB - IN	*	-0.808073	0.698143
IB - LK		-0.0805699	0.698143
IN - LK	*	0.727503	0.698143

* indica una diferencia significativa

ANEXO 4: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros R₁ y R₂ de la espectroscopía infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR)

Cuadro D: ANOVA para el parámetro R₁

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0.00171433	2	0.000857167	50.92	0.0048
Within groups	0.0000505	3	0.0000168333		
Total (Corr.)	0.00176483	5			

Pruebas de Múltiples Rangos para el parámetro R₁ por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

VARIEDAD	Count	Mean	Homogeneous Groups
IB	2	0.47	X
IN	2	0.4955	X

LK	2	0.511	X
----	---	-------	---

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
IB - IN	*	-0.0255	0.0130571
IB - LK	*	-0.041	0.0130571
IN - LK	*	-0.0155	0.0130571

* indica una diferencia significativa

Cuadro D.1: ANOVA para el parámetro R₂

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0.00474133	2	0.00237067	18.14	0.0211
Within groups	0.000392	3	0.000130667		
Total (Corr.)	0.00513333	5			

Pruebas de Múltiples Rangos para el parámetro R₂ por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

<i>VARIEDAD</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
IB	2	1.594	X
IN	2	1.648	X
LK	2	1.658	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
IB - IN	*	-0.054	0.0363784
IB - LK	*	-0.064	0.0363784
IN - LK		-0.01	0.0363784

* indica una diferencia significativa

ANEXO 5: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de formación de pasta de los almidones nativos

Cuadro E: ANOVA para temperatura inicial de formación de pasta – TP (°C) por variedad

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	9.96636	2	4.98318	145.52	0.0010
Within groups	0.102729	3	0.034243		
Total (Corr.)	10.0691	5			

Prueba de Múltiples Rangos temperatura inicial de formación de pasta – TP (°C) por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
LK	2	56.3322	X
IN	2	58.5913	X
IB	2	59.3715	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
-----------------	-------------	-------------------	-------------------

IB - IN	*	0.7802	0.588908
IB - LK	*	3.03929	0.588908
IN - LK	*	2.2591	0.588908

* indica una diferencia significativa

Cuadro E.1: ANOVA para viscosidad pico – VP (mPa·s) por Variedad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	5.61627E6	2	2.80813E6	817.73	0.0001
Within groups	10302.2	3	3434.06		
Total (Corr.)	5.62657E6	5			

Prueba de Múltiples Rangos para viscosidad pico – VP (mPa·s) por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	Mean	Homogeneous Groups
LK	2	3938.85	X
IB	2	5190.24	X
IN	2	6307.45	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
IB - IN	*	-1117.21	186.494
IB - LK	*	1251.39	186.494
IN - LK	*	2368.6	186.494

* indica una diferencia significativa

Cuadro E.2: ANOVA para viscosidad de inestabilidad - VI (mPa·s) por variedad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	119187.	2	59593.3	90.96	0.0021
Within groups	1965.4	3	655.133		
Total (Corr.)	121152.	5			

Prueba de Múltiples Rangos para viscosidad de inestabilidad - VI (mPa·s) por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	Mean	Homogeneous Groups
LK	2	1556.66	X
IB	2	1845.74	X
IN	2	1864.65	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
IB - IN		-18.915	81.4566
IB - LK	*	289.075	81.4566
IN - LK	*	307.99	81.4566

* indica una diferencia significativa

Cuadro E.3: ANOVA para viscosidad de retrogradación – VR (mPa·s) por Variedad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	2.37793E6	2	1.18897E6	707.49	0.0001
Within groups	5041.64	3	1680.55		
Total (Corr.)	2.38297E6	5			

Prueba de Múltiples Rangos para viscosidad de retrogradación – VR (mPa·s) por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	Mean	Homogeneous Groups
LK	2	1733.91	X
IB	2	2294.14	X
IN	2	3258.23	X

*Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
IB – IN	*	-964.09	130.463
IB – LK	*	560.235	130.463
IN – LK	*	1524.33	130.463

* indica una diferencia significativa

Cuadro E.4: ANOVA para viscosidad final – VF (mPa·s) por variedad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	1.11689E6	2	558443.	147.10	0.0010
Within groups	11389.3	3	3796.44		
Total (Corr.)	1.12828E6	5			

Prueba de Múltiples Rangos para viscosidad final – VF (mPa·s) por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	Mean	Homogeneous Groups
LK	2	3603.4	X
IB	2	4485.35	X
IN	2	4548.65	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
IB – IN		-63.295	196.087
IB - LK	*	881.95	196.087
IN - LK	*	945.245	196.087

* indica una diferencia significativa

ANEXO 6: Análisis de varianza y prueba LSD para el contenido de amilosa aparente de los almidones OSA y US-OSA

Cuadro F: ANOVA para el contenido de amilosa aparente– Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:VAR	24.0713	2	12.0357	47.55	0.0002

B:TRAT	9.2928	1	9.2928	36.72	0.0009
INTERACTIONS					
AB	2.56565	2	1.28283	5.07	0.0514
RESIDUAL	1.5186	6	0.2531		
TOTAL (CORRECTED)	37.4484	11			

Prueba de Múltiples Rangos para el contenido de amilosa aparente por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

TRAT	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	6	22.7217	0.205386	X
2	6	24.4817	0.205386	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	-1.76	0.71073

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para el contenido de amilosa aparente por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

VAR	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
3	4	21.605	0.251545	X
2	4	24.4625	0.251545	X
1	4	24.7375	0.251545	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2		0.275	0.870463
1 - 3	*	3.1325	0.870463
2 - 3	*	2.8575	0.870463

* indica una diferencia significativa

ANEXO 7: Análisis de varianza y prueba LSD para el grado de sustitución (GS) de los almidones OSA y US-OSA

Cuadro G: ANOVA para el grado de sustitución (GS) – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:VAR	0.0000190867	2	0.00000954333	116.86	0.0000
B:TRAT	0.0000246533	1	0.0000246533	301.88	0.0000
INTERACTIONS					
AB	0.00000392667	2	0.00000196333	24.04	0.0014
RESIDUAL	4.9E-7	6	8.16667E-8		
TOTAL (CORRECTED)	0.0000481567	11			

Prueba de Múltiples Rangos para grado de sustitución (GS) por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

VAR	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
3	4	0.0098	0.000142887	X
1	4	0.00985	0.000142887	X

2	4	0.0125	0.000142887	X
---	---	--------	-------------	---

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	-0.00265	0.000494455
1 - 3		0.00005	0.000494455
2 - 3	*	0.0027	0.000494455

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para grado de sustitución (GS) por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>TRAT</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
1	6	0.00928333	0.000116667	X
2	6	0.01215	0.000116667	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	-0.00286667	0.000403721

* indica una diferencia significativa

ANEXO 8: Análisis de varianza y prueba LSD para la eficiencia de reacción (ER) de los almidones OSA y US-OSA

Cuadro H: ANOVA para la eficiencia de reacción (ER) – Suma de cuadrados Tipo III

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A:VAR	189.93	2	94.965	73.93	0.0001
B:TRAT	311.916	1	311.916	242.81	0.0000
INTERACTIONS					
AB	36.7851	2	18.3926	14.32	0.0052
RESIDUAL	7.7076	6	1.2846		
TOTAL (CORRECTED)	546.339	11			

Prueba de Múltiples Rangos para la eficiencia de reacción (ER) por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>VAR</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
3	4	41.8175	0.566701	X
1	4	41.94	0.566701	X
2	4	50.3175	0.566701	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	-8.3775	1.96105
1 - 3		0.1225	1.96105
2 - 3	*	8.5	1.96105

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para la eficiencia de reacción (ER) por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>TRAT</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
-------------	--------------	----------------	-----------------	---------------------------

1	6	39.5933	0.462709	X
2	6	49.79	0.462709	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	-10.1967	1.60119

* indica una diferencia significativa

ANEXO 9: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de color de los almidones OSA y US-OSA

Cuadro I: ANOVA para el parámetro L* – Suma de cuadrados Tipo III

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A: Variedad	0.9841	2	0.49205	4.97	0.0268
B: Tratamiento	0.123339	1	0.123339	1.25	0.2863
INTERACTIONS					
AB	0.0362111	2	0.0181056	0.18	0.8352
RESIDUAL	1.1884	12	0.0990333		
TOTAL (CORRECTED)	2.33205	17			

Prueba de Múltiples Rangos para L* por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
1	9	94.4056	0.104899	X
2	9	94.5711	0.104899	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2		-0.165556	0.323225

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para L* por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
3	6	94.165	0.128474	X
1	6	94.59	0.128474	X
2	6	94.71	0.128474	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2		-0.12	0.395869
1 - 3	*	0.425	0.395869
2 - 3	*	0.545	0.395869

* indica una diferencia significativa

Cuadro I.1: ANOVA para el parámetro a* – Suma de cuadrados Tipo III

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					

A:Variedad	0.00403333	2	0.00201667	40.33	0.0000
B:Tratamiento	0.0186889	1	0.0186889	373.78	0.0000
INTERACTIONS					
AB	0.00467778	2	0.00233889	46.78	0.0000
RESIDUAL	0.0006	12	0.00005		
TOTAL (CORRECTED)	0.028	17			

Prueba de Múltiples Rangos para a* por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	9	-0.228889	0.00235702	X
2	9	-0.164444	0.00235702	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	-0.0644444	0.00726273

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para a* por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	6	-0.215	0.00288675	X
1	6	-0.196667	0.00288675	X
3	6	-0.178333	0.00288675	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	0.0183333	0.00889499
1 - 3	*	-0.0183333	0.00889499
2 - 3	*	-0.0366667	0.00889499

* indica una diferencia significativa

Cuadro I.2: ANOVA para el parámetro b* – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	0.0635444	2	0.0317722	5.15	0.0243
B:Tratamiento	0.220006	1	0.220006	35.64	0.0001
INTERACTIONS					
AB	0.150344	2	0.0751722	12.18	0.0013
RESIDUAL	0.0740667	12	0.00617222		
TOTAL (CORRECTED)	0.507961	17			

Prueba de Múltiples Rangos para b* por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	9	0.956667	0.0261878	X
1	9	1.17778	0.0261878	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
----------	------	------------	------------

1 - 2	*	0.221111	0.0806929
-------	---	----------	-----------

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para b* por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
2	6	1.01333	0.0320734	X
1	6	1.03833	0.0320734	X
3	6	1.15	0.0320734	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2		0.025	0.0988282
1 - 3	*	-0.111667	0.0988282
2 - 3	*	-0.136667	0.0988282

* indica una diferencia significativa

Cuadro I.3: ANOVA para el parámetro W – Suma de cuadrados Tipo III

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A:VARIEDAD	1.02991	2	0.514956	5.78	0.0175
B:TRATAMIENTO	0.1922	1	0.1922	2.16	0.1678
INTERACTIONS					
AB	0.0137333	2	0.00686667	0.08	0.9263
RESIDUAL	1.06993	12	0.0891611		
TOTAL (CORRECTED)	2.30578	17			

Prueba de Múltiples Rangos para W por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>TRATAMIENTO</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
1	9	94.2778	0.0995329	X
2	9	94.4844	0.0995329	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2		-0.206667	0.306692

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para W por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>VARIEDAD</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
3	6	94.05	0.121902	X
1	6	94.4867	0.121902	X
2	6	94.6067	0.121902	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2		-0.12	0.375619
1 - 3	*	0.436667	0.375619
2 - 3	*	0.556667	0.375619

* indica una diferencia significativa

ANEXO 10: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de distribución de tamaño de partícula de los almidones OSA y US-OSA

Cuadro J: ANOVA para el parámetro D₁₀ – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:VAR	26.8705	2	13.4353	229.82	0.0000
B:TRAT	97.7668	1	97.7668	1672.34	0.0000
INTERACTIONS					
AB	5.93898	2	2.96949	50.79	0.0000
RESIDUAL	0.701533	12	0.0584611		
TOTAL (CORRECTED)	131.278	17			

Prueba de Múltiples Rangos para D₁₀ por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

VAR	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	6	16.525	0.0987093	X
3	6	17.2483	0.0987093	X
1	6	19.4017	0.0987093	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 – 2	*	2.87667	0.304154
1 – 3	*	2.15333	0.304154
2 – 3	*	-0.723333	0.304154

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para D₁₀ por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

TRAT	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	9	15.3944	0.0805958	X
1	9	20.0556	0.0805958	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 – 2	*	4.66111	0.248341

* indica una diferencia significativa

Cuadro J.1: ANOVA para el parámetro D₅₀ – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:VAR	617.764	2	308.882	432.10	0.0000
B:TRAT	1660.8	1	1660.8	2323.34	0.0000
INTERACTIONS					
AB	281.648	2	140.824	197.00	0.0000
RESIDUAL	8.578	12	0.714833		

TOTAL (CORRECTED)	2568.79	17			
-------------------	---------	----	--	--	--

Prueba de Múltiples Rangos para D₅₀ por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>VAR</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
2	6	36.6533	0.345165	X
1	6	45.6333	0.345165	X
3	6	50.8367	0.345165	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	8.98	1.06356
1 - 3	*	-5.20333	1.06356
2 - 3	*	-14.1833	1.06356

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para D₅₀ por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>TRAT</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
2	9	34.7689	0.281826	X
1	9	53.98	0.281826	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	19.2111	0.868394

* indica una diferencia significativa

Cuadro J.2: ANOVA para el parámetro D₉₀ – Suma de cuadrados Tipo III

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A:VAR	8784.76	2	4392.38	17.54	0.0003
B:TRAT	39653.0	1	39653.0	158.37	0.0000
INTERACTIONS					
AB	1728.0	2	864.001	3.45	0.0655
RESIDUAL	3004.52	12	250.376		
TOTAL (CORRECTED)	53170.3	17			

Prueba de Múltiples Rangos para D₉₀ por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>VAR</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
2	6	99.7533	6.45983	X
1	6	107.48	6.45983	X
3	6	150.0	6.45983	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2		7.72667	19.9048
1 - 3	*	-42.52	19.9048
2 - 3	*	-50.2467	19.9048

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para D₉₀ por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

TRAT	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	9	72.1422	5.27443	X
1	9	166.013	5.27443	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 – 2	*	93.8711	16.2522

* indica una diferencia significativa

Cuadro J.3: ANOVA para el parámetro Span – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:VAR	0.858711	2	0.429356	18.09	0.0002
B:TRAT	6.52809	1	6.52809	275.00	0.0000
INTERACTIONS					
AB	0.397511	2	0.198756	8.37	0.0053
RESIDUAL	0.284867	12	0.0237389		
TOTAL (CORRECTED)	8.06918	17			

Prueba de Múltiples Rangos para Span por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

VAR	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	6	1.96667	0.0629006	X
2	6	2.19667	0.0629006	X
3	6	2.5	0.0629006	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 – 2	*	-0.23	0.193816
1 – 3	*	-0.533333	0.193816
2 – 3	*	-0.303333	0.193816

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para Span por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

TRAT	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	9	1.61889	0.0513581	X
1	9	2.82333	0.0513581	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 – 2	*	1.20444	0.15825

* indica una diferencia significativa

ANEXO 11: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de FT-IR de los almidones OSA y US-OSA

Cuadro K: ANOVA para el parámetro R₁ – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:VAR	0.001629	2	0.0008145	5.84	0.0169
B:TRAT	0.00576022	1	0.00576022	41.32	0.0000
INTERACTIONS					
AB	0.000690111	2	0.000345056	2.48	0.1259
RESIDUAL	0.00167267	12	0.000139389		
TOTAL (CORRECTED)	0.009752	17			

Prueba de Múltiples Rangos para R₁ por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

VAR	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	6	0.4455	0.0048199	X
2	6	0.4515	0.0048199	X
3	6	0.468	0.0048199	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2		-0.006	0.0148516
1 - 3	*	-0.0225	0.0148516
2 - 3	*	-0.0165	0.0148516

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para R₁ por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

TRAT	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	9	0.437111	0.00393544	X
1	9	0.472889	0.00393544	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	0.0357778	0.0121263

* indica una diferencia significativa

Cuadro K.1: ANOVA para R₂ - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:VARIEDAD	0.0116948	2	0.00584739	6.97	0.0098
B:TRATAMIENTO	0.0331102	1	0.0331102	39.48	0.0000
INTERACTIONS					
AB	0.00220011	2	0.00110006	1.31	0.3053
RESIDUAL	0.0100633	12	0.000838611		
TOTAL (CORRECTED)	0.0570684	17			

Pruebas de Múltiples Rangos para R₂ por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

VARIEDAD	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	6	1.5655	0.0118224	X
2	6	1.57833	0.0118224	X
3	6	1.62483	0.0118224	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2		-0.0128333	0.0364284
1 - 3	*	-0.0593333	0.0364284
2 - 3	*	-0.0465	0.0364284

* indica una diferencia significativa

Pruebas de Múltiples Rangos para el parámetro R₂ por tratamiento

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

TRATAMIENTO	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	9	1.54667	0.00965293	X
1	9	1.63244	0.00965293	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	0.0857778	0.0297437

* indica una diferencia significativa

ANEXO 12: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de gelatinización de los almidones OSA y US-OSA

Cuadro L: ANOVA para el parámetro To – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A: Variedad	23.7472	2	11.8736	875.20	0.0000
B: Tratamiento	0.0075	1	0.0075	0.55	0.4853
INTERACTIONS					
AB	2.02625	2	1.01312	74.68	0.0001
RESIDUAL	0.0814	6	0.0135667		
TOTAL (CORRECTED)	25.8624	11			

Prueba de Múltiples Rangos para To por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	6	53.9333	0.0475511	X
1	6	53.9833	0.0475511	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2		0.05	0.164549

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para To por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
3	4	52.0725	0.058238	X
2	4	54.3525	0.058238	X
1	4	55.45	0.058238	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	1.0975	0.201531
1 - 3	*	3.3775	0.201531
2 - 3	*	2.28	0.201531

* indica una diferencia significativa

Cuadro L.1: ANOVA para el parámetro Tp – Suma de cuadrados Tipo III

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	20.7939	2	10.397	889.26	0.0000
B:Tratamiento	0.00240833	1	0.00240833	0.21	0.6659
INTERACTIONS					
AB	1.30252	2	0.651258	55.70	0.0001
RESIDUAL	0.07015	6	0.0116917		
TOTAL (CORRECTED)	22.169	11			

Prueba de Múltiples Rangos para Tp por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
3	4	57.9275	0.054064	X
2	4	60.48	0.054064	X
1	4	60.91	0.054064	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	0.43	0.187087
1 - 3	*	2.9825	0.187087
2 - 3	*	2.5525	0.187087

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para Tp por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
1	6	59.7583	0.0441431	X
2	6	59.7867	0.0441431	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2		-0.0283333	0.152756

* indica una diferencia significativa

Cuadro L.2: ANOVA para el parámetro Tc – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	19.4066	2	9.70331	151.89	0.0000
B:Tratamiento	0.360533	1	0.360533	5.64	0.0551
INTERACTIONS					
AB	0.614517	2	0.307258	4.81	0.0567
RESIDUAL	0.3833	6	0.0638833		
TOTAL (CORRECTED)	20.765	11			

Prueba de Múltiples Rangos para Tc por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
3	4	64.96	0.126376	X
1	4	67.4775	0.126376	X
2	4	67.8075	0.126376	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 – 2		-0.33	0.437319
1 – 3	*	2.5175	0.437319
2 – 3	*	2.8475	0.437319

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para Tc por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	6	66.575	0.103185	X
2	6	66.9217	0.103185	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 – 2		-0.346667	0.357069

* indica una diferencia significativa

Cuadro L.3: ANOVA para el parámetro entalpía de gelatinización (ΔH) – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	10.8458	2	5.4229	27.26	0.0010
B:Tratamiento	1.5987	1	1.5987	8.04	0.0298
INTERACTIONS					
AB	0.1374	2	0.0687	0.35	0.7212
RESIDUAL	1.1936	6	0.198933		
TOTAL (CORRECTED)	13.7755	11			

Prueba de Múltiples Rangos para entalpía de gelatinización (ΔH) por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
-------------	-------	---------	----------	--------------------

1	6	12.97	0.182087	X
2	6	13.7	0.182087	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	-0.73	0.630105

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para entalpía de gelatinización (ΔH) por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
3	4	12.01	0.22301	X
2	4	13.8	0.22301	X
1	4	14.195	0.22301	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2		0.395	0.771717
1 - 3	*	2.185	0.771717
2 - 3	*	1.79	0.771717

* indica una diferencia significativa

ANEXO 13: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de formación de pasta para los almidones OSA y US-OSA

Cuadro M: ANOVA para el parámetro temperatura inicial de formación de pasta (TP)

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	21.5	2	10.75	126.47	0.0000
B:Tratamiento	0.653333	1	0.653333	7.69	0.0323
INTERACTIONS					
AB	1.60667	2	0.803333	9.45	0.0140
RESIDUAL	0.51	6	0.085		
TOTAL (CORRECTED)	24.27	11			

Prueba de Múltiples Rangos para TP por tratamiento

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	6	55.6167	0.119024	X
2	6	56.0833	0.119024	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	-0.466667	0.411878

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para TP por variedad

Método: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
3	4	54.1	0.145774	X

2	4	56.1	0.145774	X
1	4	57.35	0.145774	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	1.25	0.504445
1 - 3	*	3.25	0.504445
2 - 3	*	2.0	0.504445

* indica una diferencia significativa

Cuadro M.1: ANOVA para el parámetro viscosidad pico (VP)

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A: Variedad	2.43381E6	2	1.2169E6	429.70	0.0000
B: Tratamiento	127308.	1	127308.	44.95	0.0005
INTERACTIONS					
AB	134344.	2	67171.8	23.72	0.0014
RESIDUAL	16992.0	6	2832.0		
TOTAL (CORRECTED)	2.71245E6	11			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Prueba de Múltiples Rangos para VP por tratamiento

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
2	6	5000.0	21.7256	X
1	6	5206.0	21.7256	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	206.0	75.1805

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para VP por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
3	4	4475.75	26.6083	X
2	4	5321.0	26.6083	X
1	4	5512.25	26.6083	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	191.25	92.077
1 - 3	*	1036.5	92.077
2 - 3	*	845.25	92.077

* indica una diferencia significativa

Cuadro M.2: ANOVA para el parámetro viscosidad de inestabilidad (VI)

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					

A:Variedad	843096.	2	421548.	226.19	0.0000
B:Tratamiento	79381.3	1	79381.3	42.59	0.0006
INTERACTIONS					
AB	289791.	2	144896.	77.75	0.0001
RESIDUAL	11182.0	6	1863.67		
TOTAL (CORRECTED)	1.22345E6	11			

Prueba de Múltiples Rangos para VI por tratamiento

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
2	6	1274.0	17.6242	X
1	6	1436.67	17.6242	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	162.667	60.9878

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para VI por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
3	4	1008.25	21.5851	X
1	4	1406.25	21.5851	X
2	4	1651.5	21.5851	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	-245.25	74.6945
1 - 3	*	398.0	74.6945
2 - 3	*	643.25	74.6945

* indica una diferencia significativa

Cuadro M.3: ANOVA para el parámetro viscosidad final (VF)

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	1.17573E6	2	587865.	112.13	0.0000
B:Tratamiento	880208.	1	880208.	167.89	0.0000
INTERACTIONS					
AB	31920.7	2	15960.3	3.04	0.1223
RESIDUAL	31457.0	6	5242.83		
TOTAL (CORRECTED)	2.11932E6	11			

Prueba de Múltiples Rangos para VF por tratamiento

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
2	6	5235.83	29.5602	X
1	6	5777.5	29.5602	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	541.667	102.292

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para VF por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
3	4	5064.0	36.2037	X
2	4	5727.0	36.2037	X
1	4	5729.0	36.2037	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2		2.0	125.282
1 - 3	*	665.0	125.282
2 - 3	*	663.0	125.282

* indica una diferencia significativa

Cuadro M.4: ANOVA para el parámetro viscosidad de retrogradación (VR)

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	332953.	2	166476.	14.67	0.0049
B:Tratamiento	568545.	1	568545.	50.11	0.0004
INTERACTIONS					
AB	119369.	2	59684.3	5.26	0.0479
RESIDUAL	68076.0	6	11346.0		
TOTAL (CORRECTED)	1.08894E6	11			

Prueba de Múltiples Rangos para VR por tratamiento

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
2	6	1855.67	43.4856	X
1	6	2291.0	43.4856	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	435.333	150.48

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para VR por variedad

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
3	4	1918.5	53.2588	X
1	4	1997.0	53.2588	X
2	4	2304.5	53.2588	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	-307.5	184.3
1 - 3		78.5	184.3
2 - 3	*	386.0	184.3

* indica una diferencia significativa

ANEXO 14: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de comportamiento al flujo de los almidones OSA y US-OSA

Cuadro N: ANOVA para el parámetro k – Suma de cuadrados Tipo III (Modelado con la Ley de la Potencia)

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:variedad	23.9237	2	11.9619	20.62	0.0000
B:tratamiento	54.5715	1	54.5715	94.09	0.0000
INTERACTIONS					
AB	3.25843	2	1.62922	2.81	0.0867
RESIDUAL	10.4396	18	0.579979		
TOTAL (CORRECTED)	92.1933	23			

Prueba de Múltiples Rangos para el parámetro k por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	12	14.2717	0.219844	X
1	12	17.2875	0.219844	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 – 2	*	3.01583	0.653193

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para el parámetro k por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
3	8	14.3963	0.269253	X
2	8	16.2263	0.269253	X
1	8	16.7162	0.269253	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 – 2		0.49	0.799995
1 – 3	*	2.32	0.799995
2 – 3	*	1.83	0.799995

* indica una diferencia significativa

Cuadro N.1: ANOVA para el parámetro n – Suma de cuadrados Tipo III (Modelado con la Ley de la Potencia)

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:variedad	0.000233333	2	0.000116667	2.27	0.1321
B:tratamiento	0.000704167	1	0.000704167	13.70	0.0016
INTERACTIONS					
AB	0.0000333333	2	0.0000166667	0.32	0.7272
RESIDUAL	0.000925	18	0.0000513889		
TOTAL (CORRECTED)	0.00189583	23			

Prueba de Múltiples Rangos para el parámetro n por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	12	0.434167	0.0020694	X
2	12	0.445	0.0020694	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	-0.0108333	0.00614851

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para el parámetro n por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	8	0.43625	0.00253448	X
3	8	0.43875	0.00253448	X
2	8	0.44375	0.00253448	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2		-0.0075	0.00753036
1 - 3		-0.0025	0.00753036
2 - 3		0.005	0.00753036

* indica una diferencia significativa

Cuadro N.2: ANOVA para el parámetro esfuerzo inicial (σ_0)– Suma de cuadrados Tipo III (Modelado con el modelo de Herschel Bulkley)

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	9.04117	2	4.52058	10.88	0.0008
B:Tratamiento	3.25754	1	3.25754	7.84	0.0118
INTERACTIONS					
AB	0.818084	2	0.409042	0.98	0.3929
RESIDUAL	7.48023	18	0.415568		
TOTAL (CORRECTED)	20.597	23			

Prueba de Múltiples Rangos para esfuerzo inicial (σ_0) por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	12	4.79625	0.186093	X
1	12	5.53308	0.186093	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	0.736833	0.552912

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para esfuerzo inicial (σ_0) por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
----------	-------	---------	----------	--------------------

3	8	4.44513	0.227917	X
1	8	5.104	0.227917	X
2	8	5.94487	0.227917	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	-0.840875	0.677177
1 - 3		0.658875	0.677177
2 - 3	*	1.49975	0.677177

* indica una diferencia significativa

Cuadro N.3: ANOVA para el parámetro k – Suma de cuadrados Tipo III (Modelado con el modelo de Herschel Bulkley)

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	13.0293	2	6.51467	28.26	0.0000
B:Tratamiento	33.801	1	33.801	146.61	0.0000
INTERACTIONS					
AB	1.40974	2	0.704869	3.06	0.0719
RESIDUAL	4.1499	18	0.23055		
TOTAL (CORRECTED)	52.39	23			

Prueba de Múltiples Rangos para el parámetro k por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
2	12	11.0042	0.138609	X
1	12	13.3777	0.138609	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	2.3735	0.41183

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para k por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
3	8	11.309	0.169761	X
2	8	12.1512	0.169761	X
1	8	13.1125	0.169761	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	0.96125	0.504387
1 - 3	*	1.8035	0.504387
2 - 3	*	0.84225	0.504387

* indica una diferencia significativa

Cuadro N.4: ANOVA para el parámetro n – Suma de cuadrados Tipo III (Modelado con el modelo de Herschel Bulkley)

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	0.00086025	2	0.000430125	25.47	0.0000
B:Tratamiento	0.000748167	1	0.000748167	44.30	0.0000
INTERACTIONS					
AB	0.0000260833	2	0.0000130417	0.77	0.4767
RESIDUAL	0.000304	18	0.0000168889		
TOTAL (CORRECTED)	0.0019385	23			

Prueba de Múltiples Rangos para n por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	12	0.477167	0.00118634	X
2	12	0.488333	0.00118634	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	-0.0111667	0.00352481

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para el parámetro n por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	8	0.476625	0.00145297	X
3	8	0.48075	0.00145297	X
2	8	0.490875	0.00145297	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	-0.01425	0.00431699
1 - 3		-0.004125	0.00431699
2 - 3	*	0.010125	0.00431699

* indica una diferencia significativa

ANEXO 15: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros viscoelásticos de los almidones OSA y US-OSA a la frecuencia de 1 Hz

Cuadro O: ANOVA para el parámetro G' a la frecuencia de 1 Hz – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:variedad	31.6533	2	15.8266	52.40	0.0002
B:tratamiento	169.275	1	169.275	560.41	0.0000
INTERACTIONS					
AB	1.17727	2	0.588633	1.95	0.2228
RESIDUAL	1.81235	6	0.302058		
TOTAL (CORRECTED)	203.918	11			

Prueba de Múltiples Rangos para G' a la frecuencia de 1 Hz por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	6	18.97	0.224373	X
1	6	26.4817	0.224373	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	7.51167	0.776433

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para G' a la frecuencia de 1 Hz por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
3	4	20.8875	0.274799	X
1	4	22.4525	0.274799	X
2	4	24.8375	0.274799	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	-2.385	0.950933
1 - 3	*	1.565	0.950933
2 - 3	*	3.95	0.950933

* indica una diferencia significativa

Cuadro O.1: ANOVA para el parámetro G'' a la frecuencia de 1 Hz – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:variedad	0.273817	2	0.136908	6.84	0.0284
B:tratamiento	17.304	1	17.304	864.12	0.0000
INTERACTIONS					
AB	0.120717	2	0.0603583	3.01	0.1241
RESIDUAL	0.12015	6	0.020025		
TOTAL (CORRECTED)	17.8187	11			

Prueba de Múltiples Rangos para G'' a la frecuencia de 1 Hz por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
3	4	8.685	0.0707549	X
2	4	8.8675	0.0707549	XX
1	4	9.055	0.0707549	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2		0.1875	0.244845
1 - 3	*	0.37	0.244845
2 - 3		0.1825	0.244845

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para G'' a la frecuencia de 1 Hz por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	6	7.66833	0.0577711	X
1	6	10.07	0.0577711	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	2.40167	0.199915

* indica una diferencia significativa

Cuadro O.2: ANOVA para el parámetro $\tan \delta$ a la frecuencia de 1 Hz – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:variedad	0.00851667	2	0.00425833	56.78	0.0001
B:tratamiento	0.001875	1	0.001875	25.00	0.0025
INTERACTIONS					
AB	0.00065	2	0.000325	4.33	0.0685
RESIDUAL	0.00045	6	0.000075		
TOTAL (CORRECTED)	0.0114917	11			

Prueba de Múltiples Rangos para $\tan \delta$ a la frecuencia de 1 Hz por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	6	0.381667	0.00353553	X
2	6	0.406667	0.00353553	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	-0.025	0.0122346

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para $\tan \delta$ a la frecuencia de 1 Hz por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	4	0.3575	0.00433013	X
1	4	0.405	0.00433013	X
3	4	0.42	0.00433013	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	0.0475	0.0149843
1 - 3	*	-0.015	0.0149843
2 - 3	*	-0.0625	0.0149843

* indica una diferencia significativa

Cuadro O.3: ANOVA para el parámetro η^* a la frecuencia de 1 Hz – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	29.1398	2	14.5699	1551.36	0.0000
B:Tratamiento	30.1784	1	30.1784	3213.32	0.0000
INTERACTIONS					
AB	22.3253	2	11.1626	1188.57	0.0000
RESIDUAL	0.05635	6	0.00939167		
TOTAL (CORRECTED)	81.6998	11			

Prueba de Múltiples Rangos para el parámetro η^* a la frecuencia de 1 Hz

Método: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
3	4	9.5825	0.0484553	X
2	4	11.2225	0.0484553	X
1	4	13.3875	0.0484553	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 – 2	*	2.165	0.167678
1 – 3	*	3.805	0.167678
2 – 3	*	1.64	0.167678

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para el parámetro η^* a la frecuencia de 1 Hz

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
2	6	9.81167	0.0395636	X
1	6	12.9833	0.0395636	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	3.17167	0.136908

* indica una diferencia significativa

ANEXO 16: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de la Ley de Potencia para los módulos G' y G'' de los geles de almidones OSA y US-OSA

Cuadro P: ANOVA para el parámetro k' – Suma de cuadrados Tipo III

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	41.4655	2	20.7327	46.72	0.0002
B:Tratamiento	178.564	1	178.564	402.42	0.0000
INTERACTIONS					
AB	1.10255	2	0.551275	1.24	0.3536
RESIDUAL	2.66235	6	0.443725		
TOTAL (CORRECTED)	223.794	11			

Prueba de Múltiples Rangos para k' por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
2	6	19.26	0.271945	X
1	6	26.975	0.271945	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	7.715	0.941057

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para k' por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
3	4	21.18	0.333063	X
1	4	22.5475	0.333063	X
2	4	25.625	0.333063	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	-3.0775	1.15255
1 - 3	*	1.3675	1.15255
2 - 3	*	4.445	1.15255

* indica una diferencia significativa

Cuadro P.1: ANOVA para el parámetro n'– Suma de cuadrados Tipo III

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	0.00365	2	0.001825	21.90	0.0017
B:Tratamiento	0.000133333	1	0.000133333	1.60	0.2528
INTERACTIONS					
AB	0.000316667	2	0.000158333	1.90	0.2295
RESIDUAL	0.0005	6	0.0000833333		
TOTAL (CORRECTED)	0.0046	11			

Prueba de Múltiples Rangos para n' por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
1	6	0.216667	0.00372678	X
2	6	0.223333	0.00372678	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2		-0.00666667	0.0128964

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para n' por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
2	4	0.1975	0.00456435	X

1	4	0.2225	0.00456435	X
3	4	0.24	0.00456435	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	0.025	0.0157948
1 - 3	*	-0.0175	0.0157948
2 - 3	*	-0.0425	0.0157948

* indica una diferencia significativa

Cuadro P.2: ANOVA para el parámetro k''– Suma de cuadrados Tipo III

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	0.0358167	2	0.0179083	45.72	0.0002
B:Tratamiento	0.001875	1	0.001875	4.79	0.0713
INTERACTIONS					
AB	0.00305	2	0.001525	3.89	0.0824
RESIDUAL	0.00235	6	0.000391667		
TOTAL (CORRECTED)	0.0430917	11			

Prueba de Múltiples Rangos para k'' por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
1	6	0.131667	0.00807947	X
2	6	0.156667	0.00807947	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2		-0.025	0.0279587

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para K'' por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Variedad</i>	<i>Count</i>	<i>LS Mean</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
2	4	0.07	0.00989529	X
1	4	0.1625	0.00989529	X
3	4	0.2	0.00989529	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
1 - 2	*	0.0925	0.0342423
1 - 3	*	-0.0375	0.0342423
2 - 3	*	-0.13	0.0342423

* indica una diferencia significativa

Cuadro P.3: ANOVA para el parámetro n''– Suma de cuadrados Tipo III

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A:Variedad	0.155417	2	0.0777083	10.62	0.0107

B:Tratamiento	0.00213333	1	0.00213333	0.29	0.6087
INTERACTIONS					
AB	0.0103167	2	0.00515833	0.71	0.5309
RESIDUAL	0.0439	6	0.00731667		
TOTAL (CORRECTED)	0.211767	11			

Prueba de Múltiples Rangos para n'' por tratamiento

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1	6	1.33833	0.0349205	X
2	6	1.365	0.0349205	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2		-0.0266667	0.120841

* indica una diferencia significativa

Prueba de Múltiples Rangos para n'' por variedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Variedad	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
3	4	1.2475	0.0427688	X
1	4	1.2975	0.0427688	X
2	4	1.51	0.0427688	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
1 - 2	*	-0.2125	0.148
1 - 3		0.05	0.148
2 - 3	*	0.2625	0.148

* indica una diferencia significativa

Anexo 17: Análisis de optimización por el método de superficie de respuesta del proceso de modificación del almidón LK con ácido cítrico

Cuadro Q: ANOVA para viscosidad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:tiempo	0.148876	1	0.148876	8.26	0.0088
B:concen	11.1062	1	11.1062	616.07	0.0000
AA	0.464831	1	0.464831	25.78	0.0000
AB	3.33333E-7	1	3.33333E-7	0.00	0.9966
BB	0.65535	1	0.65535	36.35	0.0000
blocks	0.00343207	2	0.00171603	0.10	0.9096
Total error	0.396606	22	0.0180276		
Total (corr.)	12.6181	29			

R-squared = 96.8568 percent

R-squared (adjusted for d.f.) = 95.8567 percent

Standard Error of Est. = 0.134267

Mean absolute error = 0.0940261

Durbin-Watson statistic = 2.57326 (P=0.8136)
 Lag 1 residual autocorrelation = -0.299535

Regression coeffs. for viscosidad

<i>Coefficient</i>	<i>Estimate</i>
constant	7.2139
A:tiempo	0.0658205
B:concen	-0.524234
AA	-0.00458116
AB	-0.00000444444
BB	0.012239

The StatAdvisor

This pane displays the regression equation which has been fitted to the data. The equation of the fitted model is

$$\text{viscosidad} = 7.2139 + 0.0658205 * \text{tiempo} - 0.524234 * \text{concen} - 0.00458116 * \text{tiempo}^2 - 0.00000444444 * \text{tiempo} * \text{concen} + 0.012239 * \text{concen}^2$$

Optimize Response

Goal: maximize viscosidad
 Optimum value = 3.43157

<i>Factor</i>	<i>Low</i>	<i>High</i>	<i>Optimum</i>
tiempo	1.0	16.0	7.17967
concen	10.0	20.0	10.0

Cuadro Q.1: ANOVA para solubilidad

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
A:tiempo	0.868562	1	0.868562	5.27	0.0317
B:concen	20.1295	1	20.1295	122.04	0.0000
AA	4.28171	1	4.28171	25.96	0.0000
AB	1.30021	1	1.30021	7.88	0.0103
BB	2.76886	1	2.76886	16.79	0.0005
blocks	0.0498049	2	0.0249024	0.15	0.8608
Total error	3.62879	22	0.164945		
Total (corr.)	34.4094	29			

R-squared = **89.4541** percent
 R-squared (adjusted for d.f.) = **86.0986** percent
 Standard Error of Est. = **0.406134**
 Mean absolute error = **0.27294**
 Durbin-Watson statistic = 2.60565 (P=0.8365)
 Lag 1 residual autocorrelation = -0.316877

Regression coeffs. for solubilidad

<i>Coefficient</i>	<i>Estimate</i>
constant	11.0849
A:tiempo	-0.075411

B:concen	-0.891603
AA	0.0139039
AB	-0.00877778
BB	0.0251571

The StatAdvisor

This pane displays the regression equation which has been fitted to the data. The equation of the fitted model is

$$\text{solubilidad} = 11.0849 - 0.075411 * \text{tiempo} - 0.891603 * \text{concen} + 0.0139039 * \text{tiempo}^2 - 0.00877778 * \text{tiempo} * \text{concen} + 0.0251571 * \text{concen}^2$$

Optimize Response

Goal: maximize solubilidad

Optimum value = 5.63298

<i>Factor</i>	<i>Low</i>	<i>High</i>	<i>Optimum</i>
tiempo	1.0	16.0	16.0
concen	10.0	20.0	10.0

OPTIMIZACIÓN: Deseabilidad

Multiple Response Optimization

File name: superficie 2023 abril.sfx

Data variables:

solubilidad
viscosidad

	<i>Observed</i>	<i>Observed</i>
<i>Response</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
solubilidad	2.439	6.596
viscosidad	1.47	3.621

	<i>Desirability</i>	<i>Desirability</i>		<i>Weights</i>	<i>Weights</i>	
<i>Response</i>	<i>Low</i>	<i>High</i>	<i>Goal</i>	<i>First</i>	<i>Second</i>	<i>Impact</i>
solubilidad	2.439	6.596	Maximize	1.0		3.0
viscosidad	1.47	3.621	Minimize	1.0		3.0

			<i>Predicted</i>	<i>Observed</i>
<i>Row</i>	<i>solubilidad</i>	<i>viscosidad</i>	<i>Desirability</i>	<i>Desirability</i>
1	4.842	3.369	0.285736	0.260236
2	3.505	3.621	0.194612	0.0
3	5.711	2.939	0.435027	0.499561
4	3.369	2.366	0.343583	0.361288
5	2.81	2.192	0.155755	0.243497
6	2.78	2.196	0.155755	0.233117
7	3.254	1.822	0.461164	0.404934

8	2.798	1.752	0.368761	0.273931
9	2.615	1.918	0.0	0.183085
10	2.875	1.586	0.312097	0.315003
11	4.901	3.165	0.299536	0.354337
12	3.786	3.428	0.210289	0.170511
13	6.596	3.091	0.448856	0.496384
14	3.295	2.087	0.360134	0.383212
15	2.711	2.482	0.182469	0.186138
16	2.545	2.242	0.182469	0.127857
17	3.24	2.156	0.476131	0.362264
18	2.728	1.615	0.387986	0.254627
19	2.67	1.704	0.0	0.222539
20	2.678	1.551	0.335514	0.23522
21	4.47	3.005	0.291403	0.374055
22	3.79	3.552	0.203329	0.102104
23	5.81	3.096	0.440789	0.444886
24	3.15	2.31	0.336486	0.322869
25	2.61	2.314	0.13731	0.158098
26	2.9	2.296	0.13731	0.261365
27	3.416	1.976	0.456144	0.423955
28	2.823	1.655	0.358852	0.290568
29	2.439	1.876	0.0	0.0
30	2.75	1.47	0.298094	0.273521

The StatAdvisor

This procedure helps determine the combination of experimental factors which simultaneously optimize several responses. It does so by maximizing a desirability function. You may set various characteristics of the desirability function through the Analysis Options dialog box. The goals for each of the responses are currently set as:

- solubilidad - maximize
- viscosidad - minimize

Optimize Desirability

Optimum value = 0.515105

<i>Factor</i>	<i>Low</i>	<i>High</i>	<i>Optimum</i>
tiempo	1.0	16.0	16.0
concen	10.0	20.0	12.3373

<i>Response</i>	<i>Optimum</i>
solubilidad	4.5342
viscosidad	2.48864

The StatAdvisor

This table shows the combination of factor levels which maximize the desirability function over the indicated region. It also shows the combination of the factors at which that

optimum is achieved. Use the Analysis Options dialog box to indicate the region over which the optimization is to be performed.

Anexo 18: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de comportamiento al flujo de las dispersiones para microencapsular

Cuadro R: ANOVA para μ (Ley de Newton)

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0.0159798	2	0.00798992	190.67	0.0007
Within groups	0.000125714	3	0.0000419046		
Total (Corr.)	0.0161056	5			

Prueba de Múltiples Rangos para μ

Método: 95.0 porcentaje LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
MD	2	0.00942214	X
MD-CS	2	0.0469884	X
CS	2	0.132735	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
CS - MD	*	0.123313	0.0206012
CS - MD-CS	*	0.0857466	0.0206012
MD - MD-CS	*	-0.0375663	0.0206012

* indica una diferencia significativa

Cuadro R.1: ANOVA para el parámetro de n (Ley de la Potencia)

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0.00150098	2	0.000750492	7.09	0.0730
Within groups	0.000317693	3	0.000105898		
Total (Corr.)	0.00181868	5			

Prueba de Múltiples Rangos para n

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
MD	2	0.978576	X
CS	2	0.979437	X
MD-CS	2	1.01255	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
LKC - MD-LKC		0.0008605	0.0327495
LKC - MD	*	-0.0331135	0.0327495
MD-LKC - MD	*	-0.033974	0.0327495

* indica una diferencia significativa

Cuadro R.2: ANOVA para el parámetro de k (Ley de la Potencia)

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
--------	----------------	----	-------------	---------	---------

Between groups	0.0198144	2	0.00990718	55.34	0.0043
Within groups	0.000537045	3	0.000179015		
Total (Corr.)	0.0203514	5			

Prueba de Múltiples Rangos para k

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
MD	2	0.0103107	X
MD-LKC	2	0.0445187	X
LKC	2	0.145665	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
LKC - MD-LKC	*	0.135354	0.04258
LKC - MD	*	0.101146	0.04258
MD-LKC - MD		-0.034208	0.04258

* indica una diferencia significativa

Anexo 19: Análisis de varianza y prueba LSD para la eficiencia de encapsulación (EE) en las micropartículas

Cuadro S: ANOVA para EE por Tratamiento

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	608.498	2	304.249	195.66	0.0000
Within groups	9.33014	6	1.55502		
Total (Corr.)	617.828	8			

Prueba de Múltiples Rangos para EE por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje LSD

TRATAMIENTO	Count	Mean	Homogeneous Groups
LKC	3	24.4289	X
MD-LKC	3	32.0054	X
MD	3	44.3787	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
LKC - MD	*	-19.9498	2.49139
LKC - MD-LKC	*	-7.57653	2.49139
MD - MD-LKC	*	12.3733	2.49139

* indica una diferencia significativa

Anexo 20: Análisis de varianza y prueba LSD para el rendimiento del proceso (R) en la microencapsulación

Cuadro T: ANOVA para Rendimiento por Tratamiento

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	544.335	2	272.167	36.06	0.0080
Within groups	22.6429	3	7.54765		
Total (Corr.)	566.978	5			

Prueba de Múltiples Rangos para Rendimiento por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Count	Mean	Homogeneous Groups
LKC	2	43.065	X
MD-LKC	2	60.945	X
MD	2	64.985	X

Contrast	Sig	Difference	+/- Limits
LKC - MD	*	-21.92	8.74314
LKC – MD-LKC	*	-17.88	8.74314
MD – MD-LKC		4.04	8.74314

* indica una diferencia significativa

Anexo 21: Análisis de varianza y prueba LSD para la actividad de agua (a_w) de las micropartículas

Cuadro U: ANOVA para a_w

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0.00183678	2	0.000918389	3.07	0.0765
Within groups	0.00449433	15	0.000299622		
Total (Corr.)	0.00633111	17			

Prueba de Múltiples Rangos para a_w

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Col 1	Count	Mean	Homogeneous Groups
MD	6	0.177667	X
MD-LKC	6	0.1785	XX
LKC	6	0.1995	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
LKC - MD	*	0.0218333	0.0213011
LKC – MD-LKC		0.021	0.0213011
MD – MD-LKC		-0.000833333	0.0213011

* indica una diferencia significativa

Anexo 22: Análisis de varianza y prueba LSD para el contenido de humedad de las micropartículas

Cuadro V: ANOVA para humedad

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	11.5862	2	5.79312	144.29	0.0010
Within groups	0.12045	3	0.04015		
Total (Corr.)	11.7067	5			

Prueba de Múltiples Rangos para humedad

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

Col 1	Count	Mean	Homogeneous Groups
-------	-------	------	--------------------

MD	2	3.265	X
MD-LKC	2	4.75	X
LKC	2	6.66	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
LKC - MD	*	3.395	0.637682
LKC - MD-LKC	*	1.91	0.637682
MD - MD-LKC	*	-1.485	0.637682

* indica una diferencia significativa

Anexo 23: Análisis de varianza y prueba LSD para la higroscopicidad de las micropartículas

Cuadro W: ANOVA para higroscopicidad por Tratamiento

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	12.9456	2	6.47282	75.79	0.0000
Within groups	1.28115	15	0.0854099		
Total (Corr.)	14.2268	17			

Prueba de Múltiples Rangos para higroscopicidad por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
LKC	6	12.0956	X
MD-LKC	6	13.4503	X
MD	6	14.1368	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
LKC - MD	*	-2.04117	0.359641
LKC - MD-LKC	*	-1.35471	0.359641
MD - MD-LKC	*	0.68646	0.359641

* indica una diferencia significativa

Anexo 24: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de distribución de tamaño de las micropartículas

Cuadro X: ANOVA para D[4,3]

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	1669.41	2	834.706	610.05	0.0000
Within groups	8.2096	6	1.36827		
Total (Corr.)	1677.62	8			

Prueba de Múltiples Rangos para D[4,3]

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Col 1</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
MD-LKC	3	7.15667	X
MD	3	8.43667	X
LKC	3	36.6667	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
LKC - MD	*	28.23	2.337
LKC – MD-LKC	*	29.51	2.337
MD – MD-LKC		1.28	2.337

* indica una diferencia significativa

Cuadro X.1: ANOVA para D₁₀

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	60.9566	2	30.4783	502.67	0.0000
Within groups	0.3638	6	0.0606333		
Total (Corr.)	61.3204	8			

Prueba de Múltiples Rangos para D₁₀

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Col 1</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
MD-LKC	3	1.23333	X
MD	3	1.52333	X
LKC	3	6.89333	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
LKC - MD	*	5.37	0.49196
LKC – MD-LKC	*	5.66	0.49196
MD – MD-LKC		0.29	0.49196

* indica una diferencia significativa

Cuadro X.2: ANOVA para D₅₀

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	1669.31	2	834.657	640.50	0.0000
Within groups	7.8188	6	1.30313		
Total (Corr.)	1677.13	8			

Prueba de Múltiples Rangos para D₅₀

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Col 1</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
MD-LKC	3	4.85333	X
MD	3	6.72333	X
LKC	3	34.6333	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
LKC - MD	*	27.91	2.2807
LKC – MD-LKC	*	29.78	2.2807
MD – MD-LKC		1.87	2.2807

* indica una diferencia significativa

Cuadro X.3: ANOVA para D₉₀

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	5513.0	2	2756.5	494.29	0.0000
Within groups	33.46	6	5.57667		
Total (Corr.)	5546.46	8			

Prueba de Múltiples Rangos para D₉₀

Método: 95.0 porcentaje LSD

Col 1	Count	Mean	Homogeneous Groups
MD-LKC	3	15.2333	X
MD	3	16.8667	X
LKC	3	68.5333	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
LKC - MD	*	51.6667	4.71804
LKC - MD-LKC	*	53.3	4.71804
MD - MD-LKC		1.63333	4.71804

* indica una diferencia significativa

Cuadro X.4: ANOVA para span

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	1.84262	2	0.921312	19.47	0.0024
Within groups	0.283936	6	0.0473227		
Total (Corr.)	2.12656	8			

Pruebas de Múltiples Rangos para span

Metodo: 95,0 porcentaje LSD

MATERIAL	Count	Mean	Homogeneous Groups
LKC	3	1.7795	X
MD	3	2.30791	X
MD-LKC	3	2.88744	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
LKC - MD	*	-0.528413	0.434619
LKC - MD-LKC	*	-1.10795	0.434619
MD - MD-LKC	*	-0.579533	0.434619

* indica una diferencia significativa

Anexo 25: Análisis de varianza y prueba LSD para los parámetros de color de las micropartículas**Cuadro Y: ANOVA para el parámetro C***

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	174.37	2	87.1849	10046.34	0.0000
Within groups	0.0520696	6	0.00867827		
Total (Corr.)	174.422	8			

Prueba de Múltiples Rangos para C*

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>muestra</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
MD	3	15.1888	X
MD-LKC	3	16.1256	X
LKC	3	24.9592	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
LKC - MD	*	9.7704	0.186119
LKC – MD-LKC	*	8.83353	0.186119
MD – MD-LKC	*	-0.936867	0.186119

* indica una diferencia significativa

Cuadro Y.1: ANOVA para el parámetro h*

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	10.7646	2	5.3823	880.57	0.0000
Within groups	0.0366736	6	0.00611227		
Total (Corr.)	10.8013	8			

Prueba de Múltiples Rangos para h*

Métodos: 95,0 porcentaje LSD

<i>Muestra</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
MD	3	69.1405	X
LKC	3	70.9113	X
MD-LKC	3	71.7668	X

<i>Contrast</i>	<i>Sig.</i>	<i>Difference</i>	<i>+/- Limits</i>
LKC - MD	*	1.7708	0.156198
LKC – MD-LKC	*	-0.855433	0.156198
MD – MD-LKC	*	-2.62623	0.156198

* indica una diferencia significativa

Anexo 26: Fotografías



Figura 1: Análisis espectrofotométrico del contenido de amilosa en el almidón citrato óptimo en el que no se observó la formación del complejo yodo-amilosa de color azul