

Sánchez De La Concha B.B<sup>a</sup>, Pacheco Vargas G<sup>a</sup>, y Agama Acevedo E<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Instituto Politécnico Nacional, CEPROBI, Km 8.5 carr. Yautepec-Jojutla, colonia San Isidro, C.P 62731, Yautepec, Morelos, México. \* betsebeth@gmail.com

### RESUMEN:

El objetivo de este trabajo fue producir y caracterizar nanocristales de almidón de plátano. Durante el primer día de hidrólisis los gránulos mostraron birrefringencia, pero después del día 3 se observó pérdida del arreglo de los componentes del almidón. El grado de hidrólisis se incrementó considerablemente al 7º día (65%) comparado con el 3º día (24%). Para alcanzar tamaños de partículas  $\geq 200$  nm, fue necesario 7 días de hidrólisis, incrementándose el porcentaje de estas partículas a los 10 días. El patrón de difracción de rayos X de los gránulos de almidón cambio del tipo B (en el nativo) al tipo A en los nanocristales. Los nanocristales presentaron altas temperaturas de transición térmica. Esta última característica podría ser de gran utilidad para industrias que requieran materiales que presenten estabilidad a las altas temperaturas.

### ABSTRACT:

The objective of this study was produces and characterizes banana starch nanocrystals. During the first day of hydrolysis, starch granules showed birrefringence, but after the 3 days arrangement of starch components was lost. Hydrolysis degree increased at the 7 days of hydrolysis (65%) compared to 3 days of hydrolysis (24%). It was necessary hydrolysis for 7 days to obtain particle size  $\geq 200$  nm. The X-ray diffraction pattern of starch granules changed from type B (native) to type A (nanocrystals). Banana starch nanocrystals had high thermal transition temperatures; this feature could be useful in industries requiring materials with stability at high temperatures.

### Palabras clave:

Almidón, hidrólisis acida, nanocristales.

### Keyword:

Starch, acid hydrolysis, nanocrystals.

**Área:** Desarrollo de nuevos productos.

## INTRODUCCIÓN

El plátano es una fuente de almidón no convencional con un contenido de almidón del 75% en base seca (Rosales-Reynoso et al., 2014). El almidón está contenido en gránulos de tamaño variado (0.5 – 100  $\mu\text{m}$ ) dependiendo de la fuente botánica. Estos gránulos presentan una arquitectura interna de anillos concéntricos que crecen desde el centro y tienen diámetros de 100-400 nm (Tester, 2004). Estos círculos están separados por una región amorfa y una cristalina, compuestas de amilosa y amilopectina respectivamente.

A través de tratamientos ácidos se ha logrado fraccionar la estructura semi-cristalina del almidón, obteniéndose nanocristales, que de acuerdo a la fuente botánica presentan diferente tamaño, morfología, polimorfismo y características fisicoquímicas (Xu et al., 2014; Dufresne, 2014). Actualmente la producción de nanomateriales se encuentra en búsqueda constante de procesos y fuentes de material nanoparticulado, ya que su aplicación está revolucionando diversas industrias.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Producción de nanocristales de almidón de plátano mediante hidrólisis ácida.

Se pesaron 15 g de almidón nativo y se mezclaron con 100 mL de ácido sulfúrico [3.16 M], se mantuvieron en agitación y temperatura (40°C) constante durante 1, 3, 7 y 10 días. Se centrifugó a 12000 rpm por 15 minutos y se realizaron lavados sucesivos (Kim et al., 2012).

### Grado de hidrólisis del almidón.

Se determinó a partir de una alícuota del sobrenadante obtenida a 1, 3, 7 y 10 días de hidrólisis, (H-1, H-3, H.7, H-10, respectivamente). Se cuantificó el contenido de carbohidratos totales mediante el método de fenol-ácido sulfúrico (Dubois et al., 1956). El grado de hidrólisis se determinó en base al peso de la muestra inicial.

### Caracterización de los nanocristales del almidón de plátano.

Para conocer el efecto de la hidrólisis ácida sobre la morfología de los gránulos y nanocristales de almidón estos fueron observados bajo luz normal y luz polarizada. El tamaño del gránulo de almidón y los nanocristales fue determinado por análisis de difracción de rayo láser (Malvern Instruments, 2000). El tamaño de partícula se expresó como diámetro medio D (v, 0.5) y distribución de volumen.

Para determinar el patrón de difracción de rayos X de las muestras y porcentaje de cristalinidad se utilizó un difractómetro de la marca PANalytical modelo X Pert PRO MRD y la ecuación siguiente:

$$\text{Cristalinidad (\%)} = \frac{A_c}{(A_c + A_a)} \times 100$$

Dónde:

$A_c$  = Área cristalina bajo el difractograma de rayos X

$A_a$  = Área amorfa bajo el difractograma de rayos X

### Calorimetría diferencial de barrido.

Se pesó 1 mg de hidrolizados de almidón (debido a su alta porosidad), sobre una charola de aluminio y posteriormente se selló. Se utilizó un programa de calentamiento de 10 a 250 °C a una velocidad de 10 °C/min.

## RESULTADOS

El grado de hidrólisis del almidón se incrementó en función de los días de hidrólisis. Del día 1 al 7, el grado de hidrólisis aumento de 9.9% hasta 24%, del día 7 al 10, alcanzó un 65%, esto indica que la estructura molecular del almidón después de los 7 días queda debilitada y

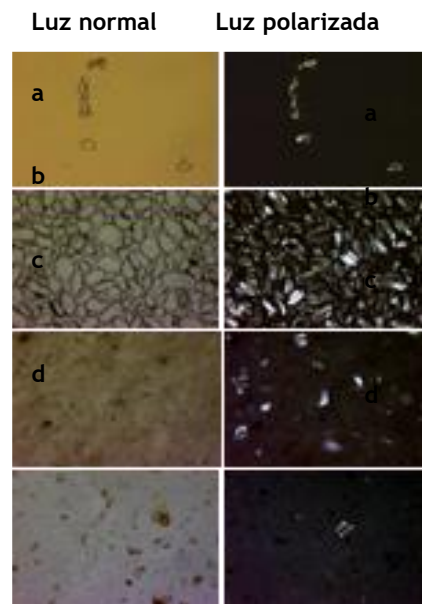
propensa a ser hidrolizada por el ácido. Estudios enfocados a producir nanocristales de almidón de distintas fuentes han requerido entre 5 y 7 días de hidrólisis para producir nanocristales (Xu et al., 2014; Kim et al., 2012). A los 7 días de hidrólisis reportaron un grado de hidrólisis de 91%, 85%, 62%, 90% y 73% respectivamente, para almidón de maíz waxy, normal y alto en amilosa, papa y chícharo. Como puede observarse el almidón de plátano alcanzó un grado de hidrólisis menor comparado con los almidones reportados por Kim et al., 2012. El grado de hidrólisis acida del almidón es influenciado por la fuente botánica y sobre todo por la organización molecular dentro de la estructura granular, aunque este tema no es totalmente conocido y podría diferir para cada almidón.

### **Cambios morfológicos en la estructura granular durante la producción de nanocristales.**

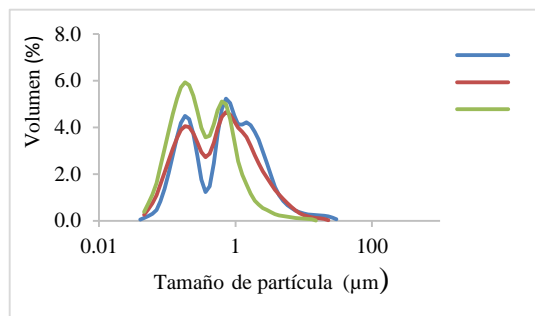
El primer día de hidrólisis se observó que el residuo contenía una cantidad considerable de gránulos de almidón y que bajo luz polarizada presentaban birrefringencia (Figura 1). Esto indica que la organización molecular del almidón no fue afectada considerablemente por el ácido sulfúrico, lo cual concuerda con el bajo porcentaje de hidrólisis (9%). Sin embargo, el tamaño de los gránulos se redujo de su contraparte nativa. Se sabe que el tratamiento con ácido ataca primero las zonas amorfas (LeCorre et al., 2011), es decir a las moléculas de amilosa las cuales se encuentran en su mayoría en la superficie del gránulo de almidón (Jane et al., 1993). A los 3 días de hidrólisis la cantidad de gránulos birrefringentes disminuyó. Después de 7 días de hidrólisis no se observó ningún gránulo de almidón.

### **Distribución de tamaño de partícula.**

El tamaño promedio del almidón nativo de plátano es aproximadamente 40  $\mu\text{m}$ . El primer día de hidrólisis se encontraron tres distribuciones de tamaños de partículas de 5  $\mu\text{m}$ , 1  $\mu\text{m}$  y 200 nm (Figura 2). Al tercer día solo aparecieron dos distribuciones de tamaños 900 y 200 nm. A partir del 7° día se observó que la proporción de estos tamaños se invirtió, incrementando la población de tamaño de partícula de 200 nm y en consecuencia disminuyendo los de 900 nm. No se encontraron diferencias en el tamaño de partícula entre el 7° y 10° día. El tamaño de los nanocristales producidos por hidrólisis acida durante 5 días, fue relacionado con el patrón de difracción de rayos X de los almidones: se encontró que los del almidón de papa con patrón de difracción de tipo B produjo nanocristales de tamaño de 110 nm, los almidones tipo C (chícharo) entre 81-62 nm y los tipo A (maíz y cebada) 47 y 55 (Xu et al., 2014). En controversia un trabajo reportado por (Kim et al., 2012) encontraron que la hidrólisis acida durante 7 días, con el almidón de papa se produjeron nanocristales con tamaños de 43 nm muy similar a los producidos por almidones de maíz normal y waxy (41 nm), sin embargo, con el almidón alto en amilosa con patrón de difracción tipo B, produjeron nanocristales de 70 nm. Aunque cabe señalar que en estos dos trabajos el tamaño lo obtuvieron de manera subjetiva a través de las microfotografías y no por un análisis de tamaño de partícula propiamente.



**Figura 1.** Micrografías del almidón de plátano: a) nativo, b) 1, c) 3 y d) 7 días de hidrólisis.



**Figura 2.** Distribución de tamaño de partícula de almidón de plátano hidrolizado: 1, 3, y 7 días de hidrólisis (línea azul, roja y verde, respectivamente).

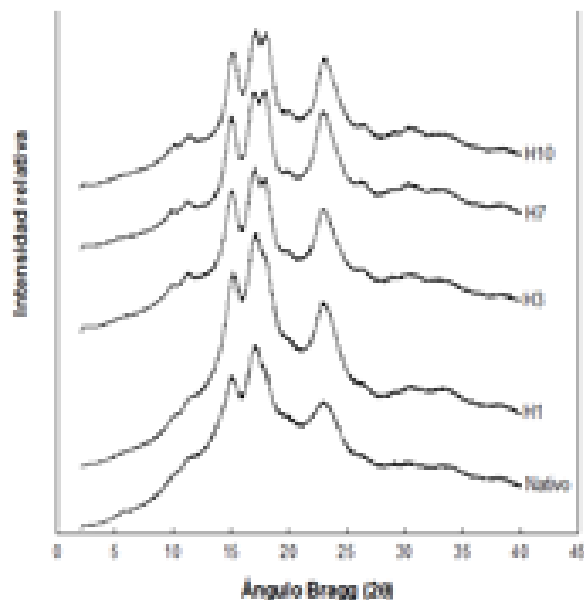
### Difracción de Rayos X

El patrón de difracción de rayos X del almidón nativo de plátano fue del tipo B, con picos a  $2\theta = 5, 15, 17$  y  $23$  (este último de menor intensidad) (Figura 4). A medida que los días de hidrólisis se incrementaron el pico a  $2\theta = 5$  desapareció, el de  $15$  y el de  $23$  se intensificaron y apareció un pico definido en  $18$ . Estos resultados indican que la cristalinidad tipo B cambió a tipo A. La diferencia entre estos dos tipos de cristal es la cantidad de agua que se encuentra dentro de la estructura de las 6 dobles hélices que lo forman, el B tiene 36 moléculas de agua mientras que el A 4; por lo que en el almidón de plátano la hidrólisis ácida no solo podría disminuir el tamaño

sino que podría compactar los cristales por una posible deshidratación. El porcentaje de cristalinidad de los nanocristales del almidón de plátano fue mayor (49-78%) que el almidón nativo (27%), lo cual era de esperarse ya que, el ácido remueve el material amorfo (la amilosa) y posteriormente las zonas amorfas de la amilopectina (Hoover, 2000), dejando las estructuras ordenadas (cristales más perfectos y pequeños).

### Estabilidad térmica de los nanocristales

Las muestras hidrolizadas de 1 y 3 días mostraron variación en su temperatura de fusión, esto puede deberse a la gran heterogeneidad de tamaños de partícula. Las muestras de 7 y 10 días tuvieron una transición de temperatura de fusión de 207.8°C y 231.6°C respectivamente. Estas temperaturas fueron mayores a las reportadas por Xu et al., 2014, en nanocristales producidos de distintas fuentes botánicas, las cuales estuvieron en un intervalo de 128-134°C. Kim et al., 2012 reportaron temperaturas de fusión menores, 89-92°C en nanocristales producidos de almidón de maíz waxy y normal, mientras que los producidos de papa, frijol y maíz alto en amilosa no tuvieron ninguna transición térmica. Por lo que concluyen que los almidones tipo B son más susceptibles a la hidrólisis ácida que los tipo A. En este estudio se encontró que la entalpía de los nanocristales de 7 y 10 días de hidrólisis fue de 14 J/g y 10 J/g respectivamente, las cuales fueron bajas comparadas con el en maíz (37 J/g). Cabe señalar que el comportamiento térmico de los nanocristales depende si el análisis se realiza con agua o en seco, pues se encontró que la transición fue menor en presencia de agua (debajo de 100°C) y sin agua entre 150°C y 200°C (LeCorre et al., 2011). En este estudio los nanocristales producidos del almidón fueron analizados secos por lo que si son utilizados en procesos que no involucren agua serán estables a temperaturas menores a 200°C.



**Figura 4. Patrones de difracción de rayos X de almidón de plátano nativo e hidrolizado 1, 3, 7 y 10 días (H-1, H-3, H-7 y H-10, respectivamente).**

## CONCLUSIONES

La hidrólisis del almidón de plátano fue un proceso gradual que permitió obtener nanopartículas cuyo tamaño y cantidad están en relación con el tiempo de hidrólisis, estructura y patrón de difracción del almidón. La obtención de nanocristales de almidón de plátano requirió mayor tiempo de hidrólisis, pero presentaron alta estabilidad a la temperatura.

## BIBLIOGRAFIA

- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28:350-356.
- Dufresne A. 2014. Crystalline starch based nanoparticles. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 19:397-408.
- Hoover R. 2000. Acid-Treated Starches. *Food Review International* 16:369-392.
- Jane JL and Shen JJ. 1993. *Carbohydrate Research* 247:279-290.
- Kim HY, Lee JH, Kim JY, Lim WJ, Lim ST. 2012. Characterization of nanoparticles prepared by acid hydrolysis of various starches. *Starch/Stärke* 64:367-373.
- LeCorre D, Bras J, Dufresne A. 2011. Evidence of Micro-and Nanoscaled Particles during Starch Nanocrystals Preparation and Their Isolation. *Biomacromolecules* 12:3039-3046.
- Rosales-Reynoso OL, Agama-Acevedo E, Aguirre-Cruz A, Bello-Perez LA, Dufour D, Gibert O. 2014. Physicochemical Evaluation of Cooking and Desert Banana (*Musa sp.*) Varieties. *Agrociencia* 48:387-401.
- Tester RF, Karkalas, J, Qi X. 2004. Starch composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science* 39:151-165.
- Xu Y, Sismour EN, Grizzard C, Thomas M, Pestov D, Huba Z, Wang T, Bhardwaj HL. 2014. Morphological, structural, and thermal properties of starch nanocrystals affected by different botanic origins. *Cereal Chemistry* 91:383-388.