

## PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y DE DIGESTIBILIDAD DE HARINAS DE PLÁTANO ESTERIFICADAS CON ÁCIDO CÍTRICO

M. M. Sánchez-Rivera\*, R. A. González-Soto, Ma. Del C. Núñez-Santiago

Departamento de Desarrollo Tecnológico, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional, Yautepec, Morelos, México. \*msanchezri@ipn.mx.

### RESUMEN:

La harina de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) con alto contenido de almidón resistente (AR) se esterificó con ácido cítrico a 120°C y 140 °C durante 7 h para obtener AR térmicamente estable a la cocción. El AR es un tipo de fibra dietética (FD) con propiedades fisiológicas parecidas a esta. La HPV con ~80% de AR sin gelatinizar, disminuye a ~12% después de gelatinizada, perdiendo el efecto nutracéutico. El objetivo de este trabajo fue obtener harinas esterificadas (HES) de plátano y evaluar propiedades fisicoquímicas y de digestibilidad. El contenido de AR, grado de sustitución (GS), propiedades térmicas de gelatinización (Tp, ΔH), espectros de FT-IR, patrones de difracción de RX y la superficie de los gránulos por MEB, fueron evaluados. La HPV se utilizó como control. El contenido de AR de las harinas, antes y después de gelatinizar, fue de 75.86%-9.88% (HPV) y 77.84%-75.83% (harina esterificada, 140°C), respectivamente. Las HES presentaron GS de 0.087 (120°C) y 0.151 (140°C), un pico nuevo a 1724 cm<sup>-1</sup> y disminución de la Tp y ΔH, además el patrón de cristalinidad se modificó a 140 °C y se observaron agregados granulares. Las HES con AR estable a la cocción, podrían utilizarse en la formulación de alimentos nutracéuticos.

### ABSTRACT:

Unripe banana flour (UBF) with high content of resistant starch (RS) was esterified with citric acid to 120 °C and 140 °C during 7 h to obtain stable thermally RS to cooking. RS is a type of dietary fiber (DF) with physiological properties similar to this. The UBF with ~80% of RS without gelatinize; decrease to~12% after gelatinized, losseing their nutraceutic effect. The objective of this work was to obtain esterified flours (ESF) of plantain and to evaluate their physicochemical properties and digestibility. The content of RS, degree of substitution (DS), thermal properties of gelatinization (Tp, ΔH), FT-IR spectra, X-ray diffraction patterns, and the surface of the granules by SEM, were evaluated. The UBF was used as control. The RS content of the flours, before and after of gelatinize were 75.86%-9.88% (UBF), and 75.86%-9.88% (esterified, 140 °C), respectively. ESF presented DS of 0.087 (120°C) and 0.151 (140°C), a new peak to 1724 cm<sup>-1</sup> y decreased in the Tp and ΔH, besides the pattern of crystallinity was modified at 140 °C and was observed granular aggregates. The ESF with RS stable to cooking could be used in the formulation of nutraceutic foods.

**Palabras clave:** Esterificación, Harina, *Musa paradisiaca*.

**Keywords:** Esterification, Flour, *Musa paradisiaca*.

**Área:** Alimentos Funcionales

## INTRODUCCIÓN

La harina de plátano (*Musa paradisiaca* L.) inmaduro o verde (HPV) sin gelatinizar, presenta alto contenido de almidón resistente (AR) (~80%); sin embargo, después de gelatinizada, el AR disminuye sustancialmente (~12%) (Zhang y Hamaker, 2012) perdiendo sus efectos funcionales y nutraceuticos. En los últimos años, el AR ha recibido importancia en la formulación de productos alimenticios como ingrediente funcional debido a que actúa como fuente de fibra (Yue y Waring, 1998). El AR se define como “la suma del almidón y sus productos de degradación que no son hidrolizados ni absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos (Euresta, 1992) por lo que es fermentado en el colon por la microflora colónica. Es debido a su resistencia a la digestión y por ser fuente potencial de energía para la microflora benéfica, que es considerado importante en la nutrición humana (Björck y Asp, 1994; Langkilde *et al.*, 2002; Bello-Pérez y Paredes-López, 2009), ya que al igual que la fibra dietética (FD), su consumo en la dieta reduce la ingesta calórica, la respuesta glucémica, los niveles de azúcar en sangre (Asp, 1994; Eerlingen y Delcoour, 1995) y los niveles de colesterol y triglicéridos (Brouns *et al.*, 2007), también previene algunas enfermedades cardiovasculares (Lehman *et al.*, 2002). Los productos de su fermentación en el colon, son ácidos grasos de cadena corta con efectos benéficos para la salud (Annison *et al.*, 2003). La esterificación con ácido cítrico (AC), elevada temperatura (>100°C) y tiempo de reacción prolongado (>3 h) ha incrementado el contenido de AR en almidones de diferentes fuentes vegetales como trigo, papa y maíz (Wepner *et al.*, 1999; Xie y Liu, 2004). Almidones de maíz esterificados o almidones citratos, como se les conoce, presentaron incrementos de AR de 37.8% a ~78.8% al esterificarse por 7 h de reacción a 120 °C y 140 °C, respectivamente (Xiu y Liu, 2004). Los almidones citratos de maíz con ~78.8% de AR, disminuyeron a 68.3% después de que se gelatinizaron en agua a 100 °C durante 30 minutos. Los objetivos del trabajo fueron obtener harinas esterificadas de plátano con AC, temperaturas elevadas y tiempo de reacción prolongado, y evaluar el contenido de AR antes y después de gelatinizar, el grado de sustitución, los patrones de FTIR y de difracción de rayos X así como la superficie de los gránulos por microscopía electrónica de barrido (MEB). Se obtuvo harina esterificada (HE) de plátano con ~75% de AR térmicamente estable y GS de 0.15, los grupos sustituyente introducidos se confirmaron por FTIR, el patrón de cristalinidad se modificó así como las propiedades térmicas de gelatinización y se observaron agregados granulares. La HE de plátano con AR térmicamente estable podría ser utilizada como ingrediente en alimentos funcionales de baja digestibilidad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Preparación de harinas esterificadas

A partir de la obtención de la HPV, denominada harina nativa (HN), de esta se mezcló (100 g) con una solución (100 ml) de ácido cítrico al 40%, la cual se ajustó a pH de 3.5 con NaOH 10 M, y se dejó acondicionar por 16 h a temperatura ambiente. La mezcla se deshidrató a 40°C por 24 h para obtener un contenido de humedad <10% y se esterificó a 120°C por 7 h de reacción. Después se dejó reposar 30

minutos a temperatura ambiente y se lavó con agua destilada para dejar secar en una estufa a 40 °C por 48 h. Finalmente se molió y se tamizó. El mismo procedimiento se aplicó a la harina esterificada (HE) a 140 °C. Las harinas se esterificaron por duplicado siguiendo el método de Ma *et al.* (2009).

### **Digestibilidad de la harina**

Se aplicó el método de digestibilidad *in vitro* de English (1992) para determinar el contenido de AR y las fracciones de los almidones de digestión rápida (ADR) y de digestión lenta (ADL), evaluadas a los 20 y 120 minutos de digestión, respectivamente. Para cuantificar la glucosa liberada y el contenido de almidón total (AT) se utilizaron los Kits de Megazyme (Wicklow, Ireland).

### **Grado de sustitución (GS)**

Se humectaron 450 mg (b.s) de muestra con 2 ml de agua destilada, después se mezcló con 50 ml de hidróxido de potasio (1 M) para dejar en agua hirviendo (10 min), y después enfriar a temperatura ambiente para ajustar el pH a 8.2 con ácido acético 3 N. La mezcla se vertió a un matraz conteniendo 25 ml de regulador de borato de sodio pH 8.5 con 0.3 g de indicador de murexida: sulfato de sodio (1:500 p/p) y se aforó 300 ml con agua destilada. Finalmente se tituló con sulfato de cobre 0.05 M (Shin *et al.*, 2007). El GS se calculó sobre el número promedio de grupos sustituyentes por unidades de anhidro glucosa (UAG) con la siguiente ecuación:  $GS = 162 PS/100 PM - (PM - 1) W$ . Donde: PS (% en peso del sustituyente) = [grupo citrato unido (g) / muestra (g) - grupo citrato unido (g)] x 100; PM = peso molecular del sustituyente y 162 (PM de una UAG).

### **Propiedades térmicas, estructurales y de microscopía**

Las propiedades térmicas se evaluaron con el método de Paredes-López *et al.* (1992), en un calorímetro diferencial de barrido (Q20, TA Instruments), las harinas se hidrataron con 10 µl de agua desionizada y se determinó la temperatura ( $T_p$ ) y entalpía ( $\Delta H$ ) de gelatinización. Los espectros de Infrarrojo por transformada de Fourier se obtuvieron en un espectrómetro micro-Raman marca Horiba Jobin Yvon con módulo IR2 y detector de InGaAs, las harinas se depositaron sobre un portaobjeto con recubrimiento reflectivo de baja emisión en el IR, la lectura se realizó de 4000 a 400  $cm^{-1}$  con 32 barridos y una resolución de 4  $cm^{-1}$  utilizando un objetivo de contacto de ATR (reflexión total atenuada) con una magnificación de 36x. Los patrones de Difracción de Rayos X, se obtuvieron en un Difractómetro Rigaku, modelo Miniflex 600, utilizando un Tubo de Rayos X con radiación de  $CuK_{\alpha}$  ( $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$ ) con foco lineal, utilizando 40 kV y 15 mA; en el haz incidente se colocó una rendija soller con filtro de Ni y rendija de 0.5 mm; en la óptica difractada se utilizó un detector Dtex ultra de alta velocidad para obtener los patrones de difracción de alta calidad en menos tiempo y la medición se realizó en el ángulo  $2\theta$  haciendo un barrido de 2° a 40° con un tamaño de paso de 0.01 y a una velocidad de 2 grados/min. El análisis superficial de los gránulos se realizó con un microscopio electrónico de barrido (MEB) Jeol JSM7800F equipado con un detector de electrones inferior *Ever Hard Torner*, la muestra se fijó en una cinta conductiva de cobre de doble goma y se

cubrió con una capa de oro de 10 nm de espesor; la capa se depositó al ultra vacío con el evaporador del equipo operado con un voltaje de aceleración de 5 KV; las imágenes se obtuvieron a diferentes resoluciones.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El GS o número promedio de grupos funcionales introducidos (Thomas y Awtell, 1999), en las HES de plátano a 120°C y 140°C, sin gelatinizar, fue de  $0.084 \pm 0.0028$  y  $0.139 \pm 0.0014$ , con contenidos de AR de 64.97% y 77.84% respectivamente (Tabla I). Por lo que el GS así como el AR se incrementaron conforme aumentó la temperatura de esterificación. Como se ha reportado en otros trabajos; en almidones de maíz (*Zea mays* L.), esterificados con 7 horas de reacción a 120 °C y 140 °C, el GS se incrementó de 0.09 a 0.12, respectivamente (Xie y Liu, 2004). Almidones de papa, guisantes, trigo y maíz, esterificados con AC a 140 °C y 5 h de reacción, presentaron contenidos de AR de 50.2%, 45.9%, 57.5% y 50.8%, respectivamente (Wepner *et al.*, 1999). Cuando las HES de plátano se gelatinizaron en agua hirviendo por 20 minutos, el contenido de AR disminuyó a 35.25% (HES, 120 °C) y a 75.83% (HES, 140 °C), a diferencia de la HN, la cual presentó un contenido de AR de 69.68% (sin gelatinizar) que disminuyó a 9.88% después de gelatinizar en agua hirviendo, observándose en esta harina la mayor pérdida de AR después de la cocción, y con ello el detrimento beneficio fisiológico. Sin embargo, la esterificación de la HPV, incrementó en más del 60%, el contenido de AR el cual resistió la cocción. En cuanto al ADL, este fue más alto en las harinas cocidas que en las no cocidas, y el valor más alto se observó en la harina esterificada a 120 °C (Tabla I).

El contenido más alto (67.36%) de ADR, se observó en la HN gelatinizada, mientras que la harina esterificada a 120 °C, presentó 20.43% y la esterificada a 140 °C, 3.83%. Se ha reportado que la estabilidad y/o resistencia del AR a la cocción, es indicativo de la formación de entrecruzamientos en el almidón durante el tratamiento térmico de esterificación, debido a que el AC a alta temperatura, se deshidrata para producir anhídrido cítrico el cual reacciona con el almidón para producir almidón citrato; y prolongando el tiempo de deshidratación, el anhídrido cítrico puede ocasionar entrecruzamientos intermoleculares (Wing, 1996) debido a la introducción de grupos carboxilo en la estructura del almidón, que forman enlaces de hidrógeno fuertes, y a la introducción de enlaces covalentes de los grupos ésteres, ambos presentes en la estructura del AC, los cuales refuerzan la estructura intermolecular del almidón, limitan el movimiento de los segmentos moleculares (Shi *et al.*, 2008), y preservan la estructura granular durante el calentamiento en agua (Xie *et al.*, 2006). En relación a las propiedades térmicas, la HN presentó una  $T_p$  de 81.23 °C, y disminuyó a 64 °C en HES a las dos temperaturas; sin embargo, presentaron diferente entalpia ( $\Delta H$ ), es decir, la harina esterificada con la temperatura más alta, requirió menor cantidad de calor para desestabilizar la estructura cristalina del almidón (Tabla I) a diferencia de la HN que presentó la  $\Delta H$  más alta (12.59 J/g). La disminución en la  $\Delta H$ , se relacionó con el incremento en el GS de las harinas de plátano, como en el almidón de maíz esterificado a 140 °C y 7 h de reacción, donde

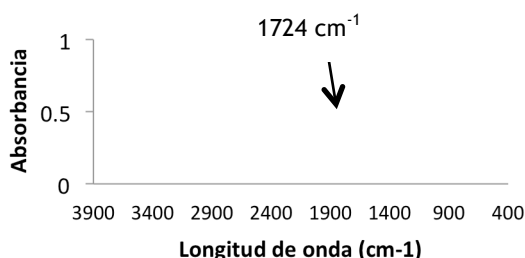
la  $\Delta H$  también disminuyó al incrementarse el GS hasta un valor de 0.4 J/g (Xiu y Liu, 2004).

**Tabla I.** Digestibilidad *in vitro* y propiedades térmicas de gelatinización de harinas de plátano.

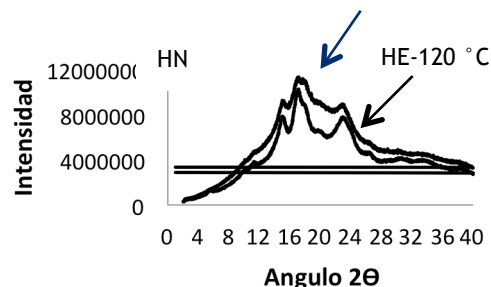
Harina de plátano	AR	ADL	ADR	Tp	$\Delta H$
<b>Nativa</b>					
Sin gelatinizar	69.68±0.3	3.83±0.3	8.01±0.1	81.23	12.59
Gelatinizada	9.88±0.7	6.23±0.6	67.36±1.8		
<b>Esterificada 120 °C</b>					
Sin gelatinizar	64.97±0.3	9.84±1.3	5.66±0.5	64.26	6.15
Gelatinizada	35.25±0.3	24.8±1.6	20.43±0.2		
<b>Esterificada 140 °C</b>					
Sin gelatinizar	77.84±0.2	1.27±0.26	3.33±0.29	64.55	0.70
Gelatinizada	75.83±0.4	1.67±0.75	3.83±0.29		

Promedio de tres mediciones ± Desviación estándar.

Los espectros de Infrarrojo (FT-IR), revelaron en la HN 12 picos en la región de 3900-400  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 1) mientras que en las HES fueron 13, el nuevo pico a 1724  $\text{cm}^{-1}$  se relacionó con el pico de estiramiento vibracional del grupo C=O, considerado un pico de coalescencia causado por los grupos éster, carboxilo y C=O (Shi *et al.*, 2008), la presencia de esta absorbancia, demostró que la reacción de esterificación ocurrió entre el AC y el almidón de la harina; además, la altura de este pico fue mayor en la harina esterificada a 140°C que en la esterificada a 120 °C (no mostrado), evidenciando que el GS se incrementó al aumentar la temperatura de esterificación, como se ha reportado en otros trabajos. En cuanto a la cristalinidad, los patrones de difracción de rayos X revelaron un patrón tipo B en la HN (Figura 2), con la presencia de picos en  $2\theta=14.80^\circ$ ,  $16.80^\circ$  y  $22.60^\circ$  y un pico adicional a  $2\theta=5.3^\circ$ , el cual desapareció en los patrones de las HES, y también fue observado en almidones esterificados de maíz (Xie y Liu, 2006). Sin embargo, a 140 °C, el tratamiento de esterificación, modificó el patrón de cristalinidad, al incrementar y disminuir la intensidad en algunos picos, no así a 120 °C, donde el patrón de difracción fue muy similar al de la HN. Estos resultados demostraron alteraciones en la estructura cristalina por efecto de la esterificación con AC a temperatura alta (Shi *et al.*, 2008).

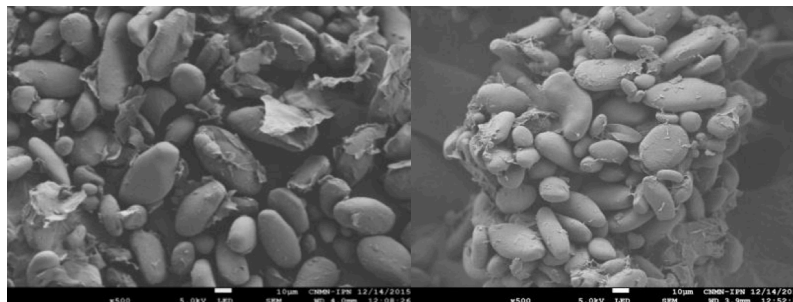


**Figura 1.** Espectro de infrarrojo de la harina de plátano esterificada a 140 °C.



**Figura 2.** Patrones de difracción de rayos X de harinas de plátano, nativas y esterificadas.

El análisis realizado a la superficie de los gránulos por MEB (Figura 3), reveló una forma ovoide con superficie lisa, y tamaños diferentes (5-40  $\mu\text{m}$ ) observados en las HES y en la HN. Sin embargo, el tratamiento de esterificación, produjo la formación de agregados granulares, no observados en la HN.



**Figura 3.** Microscopía Electrónica de Barrido de harinas de plátano, nativa y esterificada a 140 °C.

## CONCLUSIONES

Se obtuvo harina esterificada de plátano con alto contenido de AR térmicamente estable a la cocción; la baja digestibilidad podría atribuirse en parte, a los grupos funcionales introducidos que fueron detectados a  $1724\text{ cm}^{-1}$  por FTIR, la disminución en las propiedades térmicas de gelatinización y formación de agregados granulares, se atribuyó al tiempo, temperatura y medio ácido de reacción. La alteración de la estructura cristalina se vio afectada por la temperatura de esterificación. La harina de plátano con AR térmicamente estable a la cocción, podría ser utilizada como ingrediente en alimentos funcionales de baja digestibilidad.

**Agradecimientos:** SIP-IPN, EDI-IPN, COFAA-IPN, Centro de Nanociencias del IPN.

## BIBLIOGRAFÍA

- Annison, G., Illman, R. J. & Topping, D. L. 2003. Acetylated, propionylated or butyrylated starches raise large bowel short-chain fatty acids preferentially when fed to rats. *Journal of Nutrition*, 133: 3523–3528.
- Asp, N. G. 1994. Nutritional classification of food carbohydrates. *American Journal of Clinical Nutrition*, 59: S679–681.
- Bello-Pérez, L. A. and Paredes-López, O. 2009. Starches of some food Crops, changes during processing and their nutraceutical potential. *Food Engineering Reviews*, 1: 1, 50

- Björck, I. & Asp, N.G. 1994. Controlling the nutritional properties of starch in foods—a challenge to the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 5:213-218.
- Brouns, F., Arrigoni, E., Langkilde, M., Verkooyen, I., Fässler, C., Andersson, H., Kettlitz, B., van Nieuwenhoven, M., Philipsson, H. & Amado, R. 2007. Physiological and metabolic properties of a digestion-resistant maltodextrin, classified as type 3 retrograded resistant starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4): 1574-1581.
- Englyst, H., Kingman, S. & Cummings, J. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46 (Suppl. 2) S33-S50.
- Eerlingen, R. C. & Delcour, J. A. 1995. Formation, analysis and properties of type III enzyme resistant starch. *Journal of Cereal Science*, 22, 129–138
- EURESTA.1992. European flour action concerted on resistant starch. *EURESTA Newsletter III*: 7.
- Langkilde, M., Champ, M. & Anderson, H. 2002. Effects of high-resistant-starch banana flour (RS2) on *in vitro* fermentation and the small-bowel excretion of energy, nutrients, and sterols: an ileostomy study. *American Journal of Clinical Nutrition*, (75), 104-111.
- Lehman, U., Jacobasch, G. & Schmiedl, D. 2002. Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 50: 5236-5240
- Ma, X., Chang, P.R., Yu, J. & Stumborg, M. 2009. Properties of biodegradable citric acid-modified granular starch/thermoplastic pea starch composites. *Carbohydrate Polymers*, 75: 1–8.
- Rui, S., Jingliang, B., Zizheng, Z., Aichen, Z., Dafu, Ch., Xinhua, Z., Liqun Z. & Wei T. 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: 763–770
- Shi, R., Zhang, Z., Liu, Q., Yanming Han, Y., Zhang, L., Chen, D. & Tian, W. 2007. Characterization of citric acid/glycerol co-plasticized thermoplastic starch prepared by melt blendin. *Carbohydrate Polymers*, 69: 748–755.
- Shin, S. I., Lee, C. J., Kim, D.-I., Lee, H. A., Cheong, J.-J. & Chung, K. M. 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.
- Shin, S. I., Lee, Ch. J., Kim M. J., Choi, S. J., Choi, H. J., Kim, Y. & Moon, T. W 2009. Structural characteristics of low-glycemic response rice starch produced by citric acid treatment. *Carbohydrate Polymers*, 78: 588-595.
- Thomas, D. & Atwell, W. 1999. Starch modifications. En Eagan Press Handbook Series Starches, *Practical guide for the food industry* (págs. 31-48). St. Paul. Mn. USA.
- Wepner, B., Berghofer, E., Miesenberger, E., Tiefenbacher, W. K., Korneuburg, Ng., P.N. K. & Lansing, E. 1999. Citrate starch: application as resistant starch in different food systems. *Starch/Stärke*, 51 (10): 354–361.

- Wing, R. E. 1996. Starch citrate: preparation and ion exchange properties. *Starch*, 48:275-279.
- Xie, X. & Liu, Q. 2004. Development and physicochemical characterization of new resistant citrate starch from different corn starches. *Starch/Stärke*, (56): 364–370
- Xie, F., Yu, L., Liu, H. and Chen, L. 2006. Studies on the granular structure of resistant starches (type 4) from normal, high amylose and waxy corn starch citrates. *Food Research International*, 39: 332–341.
- Xie, K., Yu, Y. & Shi, Y. 2009. Synthesis and characterization of cellulose/silica hybrid materials with chemical crosslinking. *Carbohydrate Polymers*, 78(4): 799-805.
- Yue, P. and Waring, S. 1998. Functionality of resistant starch in food applications. *Food Australia*, 50 (12): 615-621.
- Zhang, P. & Hamaker, B. R. 2012. Banana starch structure and digestibility. *Carbohydrate Polymers*, 87(2):1552-1558.