

Efecto de la relación de amilosa/amilopectina y la presencia de nanopartículas de cera de candelilla sobre las propiedades reológicas de suspensiones de almidón retrogradado.

Noé Benjamín Navarro Guajardo, Carlos José Espinoza González, Francisco Javier Rodríguez González*

Centro de Investigación en Química Aplicada, Enrique Reyna H. 140, San José de los Cerritos, 25294 Saltillo, Coah.
francisco.rodriguez@ciqa.edu.mx.

Resumen: El almidón se ha utilizado para el encapsulamiento de principios activos por medio del proceso de secado por aspersión. Antes de llevar a cabo este proceso, el almidón tiene que ser gelatinizado previamente y durante el eventual enfriamiento tiende a sufrir un cambio físico llamado retrogradación, el cual consiste en la reorganización de las cadenas de almidón. En este estudio se evaluó el efecto de la relación de amilosa (Am) y amilopectina (Ap) de almidones de maíz y la inclusión de nanopartículas de cera de candelilla (nC) sobre la estructura y propiedades reológicas de suspensiones de almidón retrogradado (SAR) con 3 % de sólidos. La estructura de las SAR, después de la separación por centrifugación, se evaluó por medio de DRX y DLS. Las propiedades reológicas de las SAR se evaluó por medio de reometría oscilatoria en estado estable. Los resultados indicaron que al aumentar el contenido de Am en las SAR aumenta el carácter pseudoplástico y que la adición de nanopartículas de cera tienden a hacer que se pierda el carácter pseudoplástico de las suspensiones. Los hallazgos ofrecen la oportunidad de analizar bajo una nueva óptica la estructura de las SAR y el efecto que sobre la estructura tienen la relación de Am-Ap y la presencia de las nanopartículas de cera (nC) de candelilla.

Introducción.

El proceso de secado por aspersión o Spray Drying (SD) consiste en la atomización de un fluido (solución o suspensión) en gotas de fluido que eventualmente serán secadas para obtener partículas con la forma, tamaño y densidad deseadas (Elversson, 2003). Se ha reportado que la viscosidad del fluido (η) tiene un enorme impacto en el proceso de atomización. Navarro (2019) reportó el cambio dramático de la forma y tamaño de partículas de almidón preparadas por SD mediante la adición de una emulsión de nC. Con el propósito de profundizar en el control del tamaño, forma y densidad de partículas de almidón, se propuso analizar el efecto de la relación de Am-Ap en almidón y la adición de las nC sobre las propiedades de flujo de suspensiones de los almidones gelatinizados utilizados para la obtención de sistemas encapsulantes preparados por SD.

El almidón es un polisacárido compuesto por una fracción de cadenas lineales de Am que conforman las regiones amorfas, mientras que

las cadenas ramificadas de Ap se organizan dentro de las zonas cristalinas del gránulo. Goessart y colaboradores (2005) propusieron un mecanismo para la gelatinización donde los gránulos de almidón en presencia de agua y calor empiezan por hincharse, fragmentarse, perder la estructura cristalina y dar lugar a la formación de una pasta de almidón. Una vez que se completa el proceso de gelatinización y se disminuye la temperatura de la pasta de almidón da inicio el proceso de retrogradación, el cual se manifiesta con el aumento de η y la turbidez debido a la formación de estructuras ordenadas de Am y Ap.

El estudio de las propiedades reológicas de suspensiones acuosas de almidón nativo, almidones modificados, almidones gelatinizados o almidones retrogradados por medio de reometría oscilatoria o en estado estable utilizando bajas o altas concentraciones de sólidos (Chen 2018, Evans 1980, Rosalina 2002, Zhao 2023). Evans y Haisman (1980) reportaron que las pastas de almidón gelatinizado presentan un

comportamiento pseudoplástico cuyo comportamiento obedece al descrito por la Ley de Potencia. El comportamiento reológico no Newtoniano de las pastas de almidón gelatinizado y el almidón retrogradado ha sido relacionado con el hinchamiento, rompimiento y desorganización de los gránulos de almidón durante la gelatinización, y la formación de una red tridimensional compuesta por los dominios reordenados de almidón, los cuales son aglutinados por las moléculas de almidón libre (Goessart 2005, Wang 2015).

El propósito de este trabajo es estudiar el efecto de la relación de Am-Ap en almidones de maíz y la adición de una emulsión de nC sobre las propiedades de flujo de las SAR que se utilizaron para la preparación de partículas de almidón secadas por aspersion.

Parte experimental.

Materiales. Cera de candelilla (Candelilla Real ® 7833 de Multiceras, México). Surfactante Tween 60 (CAS: 9005-67-8) de Merck/Sigma-Aldrich. El almidón ceroso (AC, Colflo 06820102 con 5.56 % de Am), normal (AN, Buffalo 050000-03005000 con 24.17 % de Am) y de alto contenido de amilosa (AA, Hylon VII Lot H5K 3334 con 63.84 % de Am) fueron provistos por Ingredion, México.

Para gelatinizar los almidones se dispersan 7.5 g de almidón en 242.5 g de agua. Para AC y AN, la suspensión de almidón se calienta a 90°C por 30 minutos agitando a 300 rpm. Para gelatinizar al AA, la suspensión se calentó en una autoclave a 121°C durante 15 min, luego se agita vigorosamente hasta homogenizar. Los almidones gelatinizados, se enfrían a temperatura ambiente y se dejan reposar a 25°C durante 24 horas. Para incorporar las nC, los almidones gelatinizados se dejan enfriar hasta 40°C y la emulsión de nC se agregó a una velocidad de 5 mL/min agitando moderadamente durante la adición.

Después de las 24 horas de reposo, las suspensiones de almidón retrogradado fueron separadas por centrifugación a 10000 RPM y 10 min. Se decantó la fracción sobrenadante (fS) de la fracción precipitada (fP) y ambas se secaron por liofilización. La relación de fS y fP de los almidones retrogradados se determinó pesando las fracciones secadas por liofilización. Con la finalidad de comprobar la

presencia de Am en cada una de las fracciones, las fracciones secas fueron disueltas en DMSO/agua (1/1), agregando yodo para formar complejos con la Am. La aparición de una pigmentación azul-índigo es evidencia de la presencia de Am.

Instrumentación. La distribución de tamaño de las nC (@ 300 ppm) y de las fracciones precipitada y sobrenadante de almidón retrogradado (@ 500 ppm) fue estudiada con un dispersor de luz (DLS) Malvern Nano-ZS90 a 25°C en agua ultrapura. Los estudios reológicos de las SAR se realizaron en estado estable usando un reómetro Physica MCR 501 de Anton Paar con configuración de doble GAP a 25°C y barrido de velocidad de corte de 2.8 a 1000 s⁻¹. La morfología de las fracciones de las SAR fue estudiada de 5 a 40° en 2θ (@ 0.02°/s) usando un difractor de rayos-X Bruker D8 Advance con λ = 1.54056 Å generado de CuKα.

Resultados y discusión.

Suspensiones de almidón retrogradado.

Las SAR se han conceptualizado como redes tridimensionales formadas por partículas sólidas de almidón retrogradado aglutinadas por las moléculas libres de almidón que permanecen en solución (Goessart 2005, Wang 2015). El análisis de la Figura 1 permite tener una mejor comprensión de la relación del contenido y del tamaño de partícula de las fP y fS, mientras que la Figura 2 indica la presencia de Am y/o Ap en las fP y fS de las SAR formadas con los 3 almidones estudiados. De esta forma, se puede inferir que la SAR de AC está formada por 98 % en peso de partículas sólidas de almidón retrogradado con tamaños, principalmente, entre 200 y 300 nm compuestas solamente de Ap, y que estas partículas sólidas están aglutinadas por 2 % en peso de cadenas libres de Ap. De igual manera, es factible suponer que la SAR de AN está formada por 94 % en peso de partículas sólidas de almidón retrogradado con una distribución más amplia de tamaños de partícula (con respecto al AC) con un pico máximo en 400 nm compuestas de Am y Ap, y que las partículas sólidas están aglutinadas por 6 % en peso de cadenas libres de Am y Ap, 3 veces más que el AC.

Finalmente, se puede mencionar que la suspensión retrogradada de AN está formada por 93 % en peso de partículas sólidas de almidón retrogradado con, también, una distribución más amplia de tamaños de partícula (con respecto al AC) con un pico máximo en 500 nm compuestas de Am y Ap, y que las partículas sólidas están aglutinadas por 7 % en peso de cadenas libres de Am y Ap, la cual es la concentración más alta de material aglutinante de las tres SAR. Estos resultados permiten explicar el comportamiento reológico de las SAR que se presentan en la Figura 3.

SAR preparadas con AC (a), AN (b) y AA (c) y fotografía del efecto de la complejación con iodo (d).

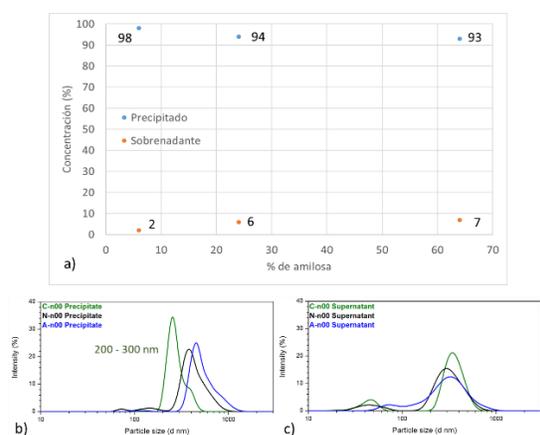


Figura 1. Relaciones de peso (a) y distribución de tamaños de partículas de las fP (b) y fS (c) de las SAR preparadas con AC, AN y AA.

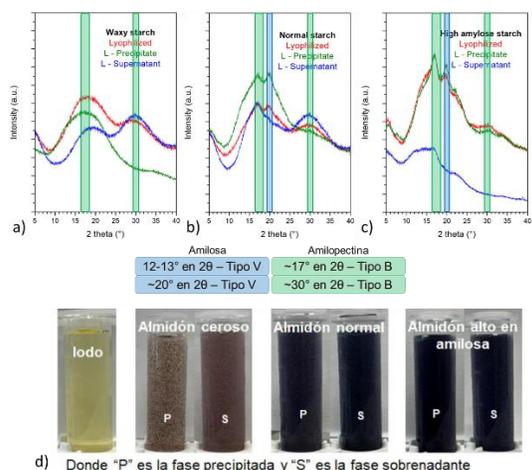


Figura 2. Difractogramas de DRX de la suspensión original y de las fP y fS de las

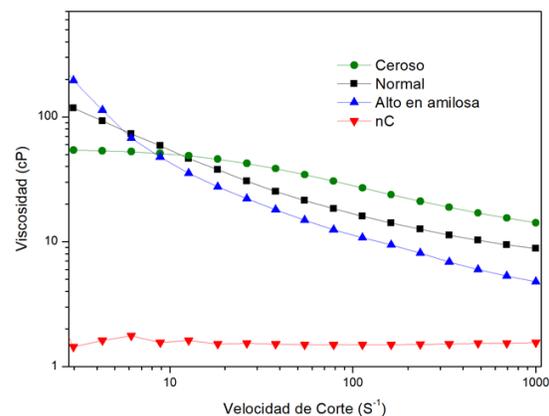


Figura 3. Curvas de viscosidad de SAR de AC, AN y AA.

Las curvas de η vs. velocidad de corte ($\dot{\gamma}$) que se muestran en la Figura 3 dejan ver que todas las SAR presentan un comportamiento de fluidos pseudoplásticos. El carácter pseudoplástico es más pronunciado para las SAR con mayor contenido de Am, es decir, el carácter pseudoplástico de AA > AN > AC. Este resultado podría sugerir que el mayor contenido de material aglutinante de los almidones con mayor contenido de Am es el responsable de impartir un mayor carácter pseudoplástico en las SAR. En este trabajo se estimó que la $\dot{\gamma}$ a la que se alimentaron las suspensiones de almidón retrogradado al equipo de secado por aspersión fue $106 s^{-1}$ y, a esa velocidad, la η de las suspensiones fue AC > AN > AA.

Suspensiones de almidón retrogradado formuladas con nC.

La adición de nC a las suspensiones de un almidón modificado retrogradado han permitido cambiar la morfología de las partículas de almidón secadas por aspersión de esferas colapsadas a esferas completas (Navarro 2019). El análisis de la relación de composición y los tamaños de partícula de las fP y fS de las suspensiones aditivadas con 5, 10, 15 y 20 % de nC se muestran en la Figura 4. En general, la adición de la emulsión de nC produjo una disminución de la fP como consecuencia de la retrogradación.

La disminución del contenido de fP fue más marcada para el AC ya que bajo de 98 % en peso para el sistema sin nC a 68 % con la adición de 20 % de nC. Ya que las nC se encontraron casi exclusivamente en la fS de las SAR (Figura 5b). Estos resultados indican que las nC afectan el proceso de reorganización del almidón durante el proceso de retrogradación. Además, la presencia de las nC aumenta enormemente el tamaño de las partículas precipitadas de almidón retrogradado (Figura 4b), las cuales pasan de tener un pico máximo entre 200 a 300 nm con 0 % de nC a un pico máximo de 600 nm con la adición de 20 % en peso de nC.

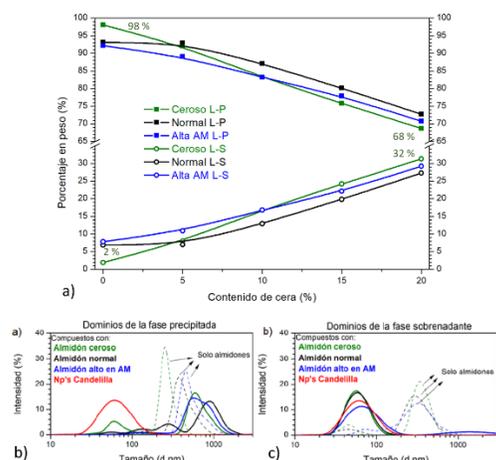


Figura 4. Relaciones de peso (a) y distribución de tamaños de partículas de las fP (b) y fS (c) de las SAR preparadas con AC, AN y AA y adicionadas con 5, 10, 15 y 20 % en peso de nC.

Además de afectar el proceso de retrogradación de la fP, las nC afectaron el tamaño de las partículas en la fS como se observa en las Figuras 1c y 4c. En la Figura 1c se observa que en ausencia de nC, la fS presenta dos poblaciones de partículas: entre 40-50 nm para AC y AN y entre 70-80 nm para AA; y ~300 nm para AN, entre 300-400 nm para AA y ~400 nm para AC. Estos valores son mucho menores a los determinados por Chiou y colaboradores (2005), pero concuerdan con el valor del radio hidrodinámico de la Ap (348 nm) reportado por Millard y colaboradores (1999). En contraste, en la fS de las SAR adicionado con nC desaparece la fracción de partículas con

tamaños superiores a los 200 nm (Figura 4c) y solo se aprecian las fracciones con tamaños de partícula inferiores a 100 nm. Ya que las condiciones de preparación de las SAR no son agresivas, se descarta la posibilidad de que la adición de las nC pudiera causar la disminución del peso molecular del almidón y, en consecuencia, el tamaño de los dominios de la fS. Una posible explicación sería la interacción del surfactante empleado para emulsificar la cera de candelilla, o incluso, las mismas nC. Huang y colaboradores (2024) reportaron la disminución del tamaño de partículas de almidón soluble de alrededor de 670 a 104 nm con la adición de 1 g/L de dodecil sulfato de sodio.

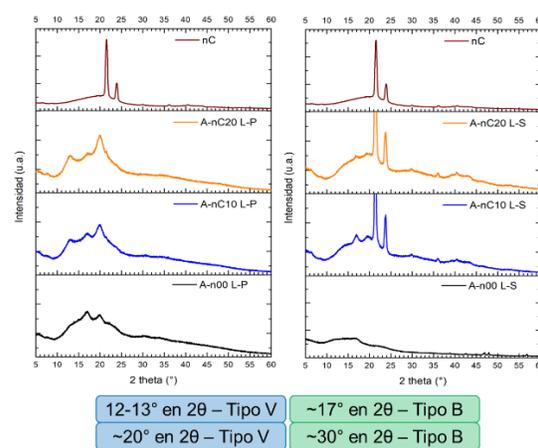


Figura 5. Difractogramas de DRX de las nC y de la fracción precipitada (a) y sobrenadante (b) de la suspensión de almidón retrogradado preparada con AN y adicionadas con 5, 10, 15 y 20 % en peso de nC.

La adición de nC, como se discutió arriba, produjo cambios importantes en las estructuras de las SAR preparadas con AC, AN y AA, lo que generó un cambio de las propiedades de flujo, tal como se aprecia en la Figura 6. En el caso de las SAR preparadas con AC (Figura 6a), el comportamiento reológico no se modificó y solamente disminuyeron los valores de η a medida que aumentó el contenido de nC. En contraste, el comportamiento reológico de las SAR preparadas con AN y AA se vio afectado de manera gradual conforme aumentó el contenido de nC en los sistemas. La adición de 5 y 10 % de nC produjo una disminución del carácter pseudoplástico de las curvas de

viscosidad de las SAR preparadas con AN y AA, mientras que la adición de 15 y 20 % de nC llevo a la aparición de un Plateau Newtoniano a $\dot{\gamma}$ mayores de 10 s^{-1} . Estos cambios en el comportamiento reológico de las SAR preparadas con AN y AA sugiere que la adición de las nC induce la destrucción de la red tridimensional formada por las partículas de tamaño nanométrico de la fP aglutinadas con las moléculas libres de almidón de la fS. Los mecanismos por los cuales las nC rompen la red tridimensional de las SAR de AN y AA podrían estar relacionados con el aumento de la distancia interparticular de las partículas nanométricas de almidón retrogradado y la pérdida de la capacidad aglutinante de las moléculas libres de almidón. El número de partículas disminuye, y como consecuencia de la distancia interparticular aumenta, como consecuencia de la disminución de la concentración de la fP (Figura 4a) y el aumento del tamaño de partícula en la fP (Figura 4b) con la adición de las nC. Por otra parte, la pérdida de la capacidad aglutinante de las moléculas libres de almidón puede inferirse a partir de la menor interacción de las moléculas libres de almidón en la fS con el medio acuoso, lo cual se refleja como una disminución del tamaño de partícula en la Figura 5c, y con una disminución de las moléculas libres con las partículas sólidas del almidón retrogradado.

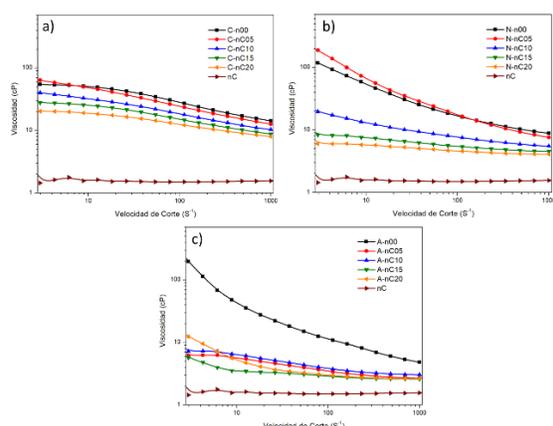


Figura 6. Efecto del contenido de nC sobre el comportamiento reológico de las suspensiones de almidón retrogradado preparadas con AC, AN y AA.

Conclusiones.

En este trabajo se planteó evaluar el efecto de la relación de Am y Ap y la adición de nC sobre la estructura y las propiedades de flujo de SAR preparadas con AC, AN y AA. Se encontró que la estructura de la SAR preparada con AC está compuesta con 98 % en peso de partículas sólidas de Ap de entre 200 y 300 nm de diámetro aglutinadas con 2 % en peso de moléculas libres de Ap. La estructura de la SAR preparada con AN está compuesta con 94 % en peso de partículas sólidas de Am y Ap de 400 nm de diámetro aglutinadas con 6 % en peso de moléculas libres de Am y Ap. La estructura de la SAR preparada con AA está compuesta con 93 % en peso de partículas sólidas de Am y Ap de 500 nm de diámetro aglutinadas con 7 % en peso de moléculas libres de Am y Ap. El análisis de las propiedades de flujo de SAR presentaban un comportamiento pseudoplástico, pero debido a la mayor concentración de material aglutinante en las SAR preparadas con AA, éstas presentan el mayor carácter pseudoplástico. Finalmente, se encontró que la adición de nC impactó fuertemente la estructura de las SAR ya que produjo una reducción de la concentración y un aumento del tamaño de las partículas sólidas de almidón retrogradado y una disminución de las interacciones de las moléculas libres de almidón con el medio acuoso y con las partículas sólidas de almidón retrogradado. Los cambios estructurales de las SAR preparadas con AN y AA produjeron cambios dramáticos en el comportamiento reológico que cambió de un marcado comportamiento pseudoplástico a un comportamiento Newtoniano y una marcada caída de la η .

Agradecimientos.

Al CONAHCYT por el apoyo financiero otorgado a través de los proyectos FORDECYT No. 292399 y PENTA No. 303383. Se agradece a Layza Alejandrina Arizmendi Galaviz, Alfonso Mercado Silva y Heidi Fonseca Florido por el soporte técnico brindado en la caracterización de las suspensiones.

Referencias.

- Chen, B.; Guo, Z.; Zeng, S.; Tian, Y.; Miao, S.; Zheng, B. Paste structure and rheological properties of lotus seed starch–glycerin monostearate complexes formed by high-pressure homogenization. *Food Res. Int.* 2018, 103, 380–389.
- Chiou, H.; Fellows, C.M.; Gilbert, R.G.; Fitzgerald, M.A. Study of rice-starch structure by dynamic light scattering in aqueous solution. *Carbohydr. Polym.* 2005, 61, 61–71.
- Elversson, J.; Millqvist-fureby, A.; Alderborn, G.; Elofsson, U. Droplet and Particle Size Relationship and Shell Thickness of Inhalable Lactose Particles during Spray Drying. *J. Pharm. Sci.* 2003, 92, 900–910.
- Evans, I.D.; Haisman, D.R. Rheology of gelatinised starch suspensions. *J. Text. Stud.* 1980, 10, 347-370.
- Goesaert, H.; Brijs, K.; Veraverbeke, W.S.; Courtin, C.M.; Gebruers, K.; Delcour, J.A. Wheat Flour Constituents: How They Impact Bread Quality, and How to Impact Their Functionality. *Trends Food Sci. Technol.* 2005, 16, 12–30.
- Millard, M.M.; Wolf, W.J.; Dintzis, F.R.; Willett, J.L. The hydrodynamic characterization of waxy maize amylopectin in 90% dimethyl sulfoxide–water by analytical ultracentrifugation, dynamic, and static light scattering. *Carbohydr. Polym.* 1999, 39, 315–320.
- Navarro Guajardo, N.B. Desarrollo de nuevos sistemas híbridos de biopolímeros como matriz para encapsulamiento con propiedades mejoradas de hidrofobicidad y absorción Ultravioleta, Centro de Investigación en Química Aplicada, 2019.
- Rosalina, I.; Bhattacharya, M. Dynamic rheological measurements and analysis of starch gels. *Carbohydr. Polym.* 2002, 48, 191-202.
- Wang, S.; Li, C.; Copeland, L.; Niu, Q.; Wang, S. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. *Comprehensive Rev. Food Sci. Food Safety*, 2015, 14, 568-585.
- Zhao, X.; Li, D.; Wang, L.; Wang, Y. Role of gelation temperature in rheological behavior and microstructure of high elastic starch-

based emulsion-filled gel. *Food Hydrocol.* 2023, 135, 108208.