



## EFFECTO DEL MÉTODO DE AISLAMIENTO Y EL ESTADO DE MADUREZ EN LAS PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS, ESTRUCTURALES Y REOLÓGICAS DE ALMIDÓN DE MANZANA

### EFFECT OF THE METHOD OF ISOLATION AND THE DEGREE OF RIPENESS ON THE PHYSICOCHEMICAL, STRUCTURAL AND RHEOLOGICAL PROPERTIES OF APPLE STARCH

J.M. Tirado-Gallegos<sup>1</sup>, P.B. Zamudio-Flores<sup>1\*</sup>, J. de J. Ornelas-Paz<sup>1</sup>, C. Rios-Velasco<sup>1</sup>, C.H. Acosta-Muñiz<sup>1</sup>, F. Gutiérrez-Meraz<sup>2</sup>, J.J. Islas-Hernández<sup>2</sup> y R. Salgado-Delgado<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Coordinación de Fisiología y Tecnología de Alimentos de la Zona Templada. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.-Unidad Cuauhtémoc. Av. Río Conchos s/n, Parque Industrial, Apartado postal 781, C.P. 31570, Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua, México.

<sup>2</sup>Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Yautepec, Morelos, México.

<sup>3</sup>Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Zacatepec, Zacatepec, Morelos, México.

Recibido 4 de enero de 2016; Aceptado 14 de abril de 2016

#### Resumen

Se evaluó el efecto de dos métodos de aislamiento (método SN = lavados con agua, y método ST = lavados con tolueno) en el rendimiento, propiedades físicoquímicas, morfológicas, térmicas, estructurales y reológicas de almidones de manzanas 'Golden Delicious Smoothee' cosechadas a 60 y 90 días después de la plena floración (DDPF). El tamaño de los gránulos no fue influenciado por el método de aislamiento, pero sí por la madurez del fruto al variar de 2.7-8.6 a 4.5-9  $\mu\text{m}$  a 60 y 90 DDPF, respectivamente. El método SN presentó mayor rendimiento que el método ST, pero la pureza de los almidones en ambos casos fue similar (> 92 %). El color de los almidones fue influenciado por el método de aislamiento y madurez del fruto. Las propiedades reológicas variaron con la madurez del fruto, el índice de consistencia  $k$  osciló entre 5.49 y 15.19 Pa sn para manzanas cosechadas a los 60 y 90 DDPF, indicando posibles cambios estructurales en los gránulos. Todos los almidones exhibieron un patrón de difracción tipo C y bajas entalpías de gelatinización, comprendidas entre 6.90 y 10.20 J/g. Las manzanas inmaduras pueden ser una fuente alternativa de almidones con propiedades físico-químicas y estructurales específicas.

**Palabras clave:** almidón, difracción de rayos X, calorimetría diferencial de barrido, 'Golden Delicious Smoothee'.

#### Abstract

We evaluated the effect of two isolation methods (SN method= water washes, and the ST method= toluene washes) in terms of yield and physicochemical, morphological, thermal, structural and rheological properties of starches of 'Smoothee Golden Delicious' apples harvested at 60 and 90 days after flowering (DAF). The size of the granules were not influenced by the isolation method, but by fruit maturity, going from 2.7-8.6 to 4.5-9  $\mu\text{m}$  at 60 and 90 DAF, respectively. The SN method showed better yields than the ST method, but the purity of the starches was similar in both cases (> 92%). The color of the starches was influenced both by the isolation method and fruit maturity. The rheological properties varied with fruit maturity; the consistency index (K) ranged from 5.49 to 15.19 Pa sn for apples harvested at 60 and 90 DAF, indicating possible structural changes in the granules. All starches exhibited a type-C diffraction pattern and low gelatinization enthalpies between 6.90 and 10.20 J/g. Immature apples can be an alternative source of starch with specific physicochemical and structural properties.

**Keywords:** starch, X-ray diffraction, differential scanning calorimetry, 'Golden Delicious Smoothee'.

## 1 Introducción

El almidón es uno de los biopolímeros con mayor versatilidad en cuanto a aplicaciones alimentarias e

industriales. Es utilizado como agente espesante, encapsulante, gelificante, texturizante, y en la formación de películas y/o empaques biodegradables (Liu, 2005; Bertolini, 2010; Jiménez y col.,

\* Autor para la correspondencia. E-mail: pzamudio@ciad.mx  
Tel. + 52 625 581 2090

2012; Olguín-Arteaga y col., 2015). Estas aplicaciones dependen en gran medida de sus propiedades funcionales y éstas a su vez están muy relacionadas con el tamaño y forma de los gránulos, con la organización estructural de sus principales componentes (amilosa y amilopectina) y la presencia de componentes minoritarios (Bertolini, 2010; Liu y col., 2011). Existe un creciente interés de la industria alimentaria por almidones con nuevas o mejores propiedades funcionales que las que ofrecen las fuentes convencionales como cereales y tubérculos (Correia y col., 2012; Yuliana y col., 2012; Zhou y col., 2012). Por tal razón diversos grupos de investigación alrededor del mundo han reportado las propiedades funcionales y potenciales aplicaciones de almidones de fuentes no convencionales como el plátano (Ramírez-Hernández y col., 2015), mango (Bello-Pérez y col., 2005; Sandhu y Lim, 2008), jícama (Martínez-Bustos y col., 2007; Amaya-Llano y col., 2011) y avena (Berski y col., 2011; Zamudio-Flores y col., 2015); sin embargo, existe un potencial de investigación en almidones de frutos como la manzana. En este sentido, de acuerdo con datos del Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2015), el estado de Chihuahua destaca por ser el principal productor de este fruto en la República Mexicana. Una de las variedades más cultivada y cosechada en la región es la 'Golden Delicious' (Salas y col., 2011). Debido a sus atributos de calidad (producción, mayores tiempos de almacenamiento, color, sabor y aroma), la variedad 'Golden Delicious' es una de las más populares en el mundo (Iglesias y col., 2001). Recientemente se ha optado por variedades como la 'Golden Delicious Smoothee', la cual presenta mayor resistencia a enfermedades y plagas (Iglesias y col., 2009). Esta variedad fue liberada en Pensilvania (EUA) y es el resultado de una mutación natural de 'Golden Delicious'. Es la variedad Golden más cultivada en el mundo con características similares a la variedad original (Iglesias y col., 2001). Para poder posicionar este fruto en el mercado nacional e internacional es necesario esperar un cierto tiempo para su cosecha comercial, lo cual puede variar dependiendo de las condiciones agroclimáticas prevalecientes (Brookfield y col., 1997). Para determinar la fecha óptima de cosecha de los frutos, se monitorea la evolución de diversos índices como son: madurez, el contenido de sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), firmeza, e índice de almidón (Molina-Delgado y col., 2009). El almidón es uno de los carbohidratos mayoritarios presentes en las manzanas en estado inmaduro, del

cual se han reportado valores de hasta un 44-53 % (base seca) (Singh y col., 2005). Sin embargo, conforme aumenta la madurez del fruto, su presencia y concentración disminuyen debido a la acción de enzimas que hidrolizan el almidón a azúcares simples, incrementando así el contenido de los sólidos solubles totales (Singh y col., 2005; Salas y col., 2011). La capacidad de la amilosa de interactuar con el yodo produce una coloración azul (índice de yodo) en los tejidos que, a medida que madura el fruto, disminuye su intensidad hasta casi ser nula al momento de la cosecha y este se toma como un índice de madurez (Brookfield y col., 1997). Brookfield y col. (1997) encontraron una relación directa entre la degradación de almidón con la madurez en manzanas Fuji y Royal Gala, y determinaron que la mayor concentración de almidón se encuentra entre los 80 y 110 días después de la plena floración (DDPF). Las propiedades funcionales que determinan las aplicaciones específicas de los almidones en la industria de alimentos no solamente son afectadas por su estructura y fuente botánica; sino que además, el método de aislamiento puede influir en el rendimiento y pureza del almidón, afectando las propiedades funcionales incluyendo las propiedades reológicas (Correia y Beirão-da-Costa, 2010; Correia y col., 2012).

Recientemente Zhong y col. (2009) evaluaron el efecto del método de aislamiento sobre las propiedades reológicas y de formación de pastas de almidón de arroz. Estos investigadores utilizaron tres tratamientos [proteasas, NaOH (0.1 y 0.4 %) o dodecilsulfato de sodio (1.0 %)] y observaron que el método de aislamiento afectó las propiedades de gelatinización y reológicas del almidón, por lo cual los perfiles de formación de pastas también se afectaron. Por otra parte, Correia y col. (2012) aislaron almidón de castañas y determinaron que el método de aislamiento, además de modificar las propiedades reológicas, también afectó la solubilidad, poder de hinchamiento, propiedades de formación de pastas y sinéresis. Estos autores reportaron que la mayor integridad molecular y estructural de los almidones se obtuvo cuando la extracción se realizó sin el empleo de enzimas (Correia y col., 2012). Los principales métodos para la obtención de almidón se fundamentan en la insolubilidad de los gránulos de almidón en agua, por tal razón se emplean métodos de separación en medio acuoso como la molienda húmeda (Liu, 2005). Al respecto destacan los estudios realizados por Singh y col. (2005) en manzanas inmaduras de los cultivares Granny

Smith, Ruspippum, Skyline Suprem y Granny Smith. Stevenson y col. (2006a) también reportaron estudios sobre almidón de manzana en cultivares Gala, Golden Delicious, Granny Smith, Jersey mac, Jonagold y Royal Gala. Estos investigadores observaron que los almidones de manzana presentaron gránulos redondos con un tamaño promedio de 12  $\mu\text{m}$  y forma esférica, con un patrón de difracción de Rayos X tipo C. Además, la presencia de amilosa aparente varió en cada cultivar (40-48 %) afectando las propiedades reológicas y térmicas. Al momento son pocos los estudios realizados en frutos como la manzana en relación al efecto que los métodos de aislamiento pueden tener en sus respectivos almidones.

Por consiguiente el objetivo de nuestro estudio consistió en comparar dos métodos de aislamiento en el rendimiento y su efecto en las propiedades fisicoquímicas, estructurales y reológicas del almidón de manzana 'Golden Delicious Smoothee' a dos estados de madurez.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Materiales

Se utilizaron manzanas de la variedad 'Golden Delicious Smoothee'. Los frutos se cosecharon en el ciclo de producción 2013 a 60 y 90 días después de plena floración (DDPF) y gentilmente se proporcionaron por la huerta La Campana, ubicada en Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua. Se utilizó tolueno grado reactivo ACS (J. T. Baker, Xalostoc, Estado de México, México). Todos los demás reactivos fueron grado analítico, manufacturados por Sigma-Aldrich (Toluca, Estado de México, México).

### 2.2 Caracterización de los frutos

La madurez de los frutos se evaluó de acuerdo a sus características físicas y químicas. Para determinar el tamaño de los frutos, se registraron medidas del diámetro polar y ecuatorial de las manzanas con un calibrador Cranston (Cranston Machinery Co., Oregon, EUA) y se pesaron con una balanza digital (OHAUS, modelo Scout-pro SP600, EUA). El color triestímulo de la epidermis del fruto se determinó con un colorímetro Minolta (Minolta, modelo CR-300, Osaka, Japón), y se evaluó en cuatro regiones opuestas en el eje ecuatorial. Las lecturas se registraron usando el sistema CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ), el ángulo hue ( $^\circ\text{hue}$ ) y el croma (C). Donde la variable  $L^*$  se conoce como luminosidad (0 = negro, 100 = blanco),  $a^*$

indica coloraciones de verde ( $-a^*$ ) a rojo ( $+a^*$ ) y  $b^*$  coloraciones de azul ( $-b^*$ ) a amarillo ( $+b^*$ ),  $^\circ\text{hue}$  la tonalidad del color y C su intensidad (croma). El croma se calculó como  $C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ , y el ángulo hue como  $^\circ\text{hue} = \tan^{-1}(b^*/a^*)$  cuando  $a^* > 0$  y  $b^* \geq 0$ , o  $^\circ\text{hue} = 180^\circ + \tan^{-1}(b^*/a^*)$  cuando  $a^* < 0$ . La firmeza se expresó en Newton (N) por medio de un texturómetro TA-XT2i (Texture Technologies Corp., New York, EUA) con un punzón cilíndrico de 11 mm de diámetro, una distancia de penetración de 10 mm y una velocidad de descenso de 10 mm/s. La prueba se realizó en dos lados opuestos de la región ecuatorial del fruto (la piel se eliminó antes de cada lectura). En cada penetración se midieron los sólidos solubles totales (SST) del jugo con un refractómetro digital (Atago, modelo PAL-1, Tokio, Japón), los valores se determinaron en  $^\circ\text{Brix}$ . Para medir la acidez titulable (AT), se extrajo el jugo de 5 frutos con un extractor casero (Turmix, Estado de México, México), se tomaron 10 mL de jugo y se titularon con NaOH 0.1 N y fenolftaleína como indicador hasta un pH final de 8.1, medido con un potenciómetro digital (HANNA Instrument, modelo HI 221, Rhode Island, EUA). La acidez se expresó como equivalentes de ácido málico (g equivalentes de ácido málico/100 mL de jugo). La humedad de los frutos se determinó por gravimetría en una estufa a 105  $^\circ\text{C}$  hasta que la pérdida de peso en la muestra fue constante.

### 2.3 Aislamiento del almidón

El aislamiento del almidón se realizó mediante una molienda húmeda. Se realizaron dos metodologías, una con agua como reportaron Singh y col. (2005), a la cual denominamos método SN y otra utilizando el solvente tolueno, como publicaron Stevenson y col. (2006a), denominada método ST. El proceso de aislamiento de almidón se realizó dentro de las primeras 20 h después de cosechar los frutos. Durante este tiempo las manzanas se acondicionaron en un cuarto frío a una temperatura de  $-1^\circ\text{C}$ , humedad relativa de 75 % y en aeración (75 %  $\text{N}_2$ /25 %  $\text{O}_2$ ).

#### 2.3.1 Aislamiento con agua (método SN)

El aislamiento por medio de lavados con agua se realizó de acuerdo a la metodología reportada por Singh y col. (2005) con algunas modificaciones. Se eliminó el corazón de las manzanas con un sacabocados, se pelaron, cortaron y se sumergieron en una solución de metabisulfito de sodio al 0.16 % (p/v). La fruta picada se licuó en una licuadora doméstica

(Oster Designer, modelo Beehive, Sunbeam Products Inc., Boca Ratón, FL, EUA) durante 1 min. El puré obtenido se filtró a través de una tela de organza doble, el retenido se re-suspendió en agua destilada y se filtró nuevamente. El permeado se dejó reposar durante 8 h bajo refrigeración (4 °C; 78 % HR), la mayor parte del sobrenadante se eliminó por decantación, se agregó agua destilada al precipitado, se mezcló y se centrifugó a 10,500 × g durante 15 min. Se eliminó la superficie verde del pellet obtenido. El pellet restante se homogenizó con agua destilada (≈ 500 mL) durante 10 min a 500 rpm con un stirrer (IKA, modelo RW 20 DSI, Staufen, Alemania) y se dejó reposar durante 24 h bajo refrigeración. Se eliminó el sobrenadante por decantación, y nuevamente se repitió el lavado de 5 a 10 veces, hasta que el sobrenadante fue claro y no se observaron restos de pigmentos verdes sobre el almidón sedimentado. Posteriormente, se secó el almidón en una estufa (FinePCR, modelo combi-SV12DX, Daigger, Vernon Hills, IL, EUA) a 40 °C durante 4 h. El almidón seco se pesó y se molió en un mortero hasta un tamaño de partícula suficientemente pequeño para hacerlo pasar por un tamiz No. 100 (ASTM) de 150 μm. El rendimiento del almidón se determinó gravimétricamente.

### 2.3.2 Aislamiento con tolueno (método ST)

Este aislamiento se realizó de acuerdo con el método reportado por Stevenson y col. (2006a) con algunas modificaciones. Los frutos se cortaron y sumergieron en una solución de metabisulfito de sodio al 0.16 % (p/v), se molieron en una licuadora doméstica (Oster Designer, modelo Beehive, Sunbeam Products Inc., Boca Ratón, FL, EUA) durante 1 min. El puré se filtró a través de tela organza doble, el permeado se centrifugó a 10,500 × g durante 15 min. Se descartó el sobrenadante y se lavó el pellet bajo agitación mecánica durante 1 h, con 200 mL de tolueno al 10 % (v/v) en una solución de cloruro de sodio 0.1 M. Se dejó reposar durante 24 h para posteriormente eliminar el sobrenadante por decantación. Este lavado se repitió de 5 a 20 veces, hasta que se clarificó el sobrenadante. Posteriormente, el almidón se lavó tres veces con 200 mL de agua destilada y dos veces con etanol. EL almidón se secó en una estufa a 40 °C (FinePCR, modelo combi-SV12DX, Daigger, Vernon Hills, IL, EUA) durante 4 h, se molió y tamizó en mortero hasta pasarlo a través de un tamiz de 150 μm (No. 100, ASTM).

## 2.4 Caracterización fisicoquímica del almidón

Se realizó un análisis proximal de los almidones por los métodos oficiales de la AOAC (2002). Se determinó el contenido de humedad (método 934.01), cenizas (método 942.05), proteína cruda por micro-Kjeldahl (método 954.01) y lípidos (método 920.39). El color tri-estímulo de los almidones se evaluó cinco veces con un colorímetro Minolta CR-300 (Minolta, Osaka, Japón). Se registraron las lecturas en la escala CIELAB (L\*, a\*, b\*). La variable croma (C, intensidad o saturación del color) se calculó como  $C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ , y el ángulo hue como  $^{\circ}\text{hue} = \tan^{-1}(b^*/a^*)$  cuando  $a^* > 0$  y  $b^* \geq 0$ , o  $^{\circ}\text{hue} = 180^{\circ} + \tan^{-1}(b^*/a^*)$  cuando  $a^* < 0$ . Se determinó el contenido de almidón total de acuerdo al método reportado por Goñi y col. (1997), el cual se fundamenta en la cuantificación de la glucosa liberada por la hidrólisis enzimática del almidón con amilglicosidasa.

## 2.5 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

La morfología de los gránulos de almidón se evaluó mediante microscopía electrónica de barrido (MEB). Para esto se empleó un microscopio JEOL (modelo JSM-6010A, Tokio, Japón). Las muestras de almidón se adhirieron a una cinta de grafito con doble adhesión en un porta-muestras metálico, la muestra se cubrió con una capa de oro para hacerla conductora. Finalmente, se observaron al microscopio y se tomaron imágenes a un potencial de aceleración de 10 kV.

## 2.6 Difracción de rayos X

Para determinar el arreglo cristalino de los almidones aislados, se obtuvieron sus patrones de difracción con un difractómetro de rayos X (Analitical Xpert, modelo PRO X Celerator, Países Bajos) con un generador de radiación Cu-Kα. La radiación dispersada se registró en un intervalo angular  $2\theta$  de 2°-40°. El equipo se trabajó a un voltaje de 40 Kv, una intensidad de 40 mA y una velocidad de barrido de 4°/min.

## 2.7 Calorimetría diferencial de barrido

Se determinaron las propiedades térmicas de los almidones con un calorímetro diferencial de barrido (TA Instruments, modelo 2010, Delaware, EUA) de

acuerdo con el procedimiento descrito por Paredes-López y col. (1994). Se pesaron 2 mg de almidón en una charola de aluminio y se mezclaron con 7  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Las charolas se cerraron herméticamente y se dejaron reposar durante 1 h a temperatura ambiente para el equilibrio de la humedad. Posteriormente, las charolas se calentaron de 20 a 120  $^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de calentamiento de 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ .

## 2.8 Propiedades reológicas

### 2.8.1 Curvas flujo

La caracterización reológica de los almidones de manzana se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Sánchez-Rivera y col. (2013), para lo cual realizaron dispersiones de almidón (7.5 % p/p) en agua destilada bajo agitación constante durante 1 h. Posteriormente, la muestra se colocó sobre la placa Peltier de calentamiento de un reómetro AR 1500ex (TA Instruments, Delaware, EUA) con una geometría de placas paralelas (acero inoxidable, diámetro de 60 mm, gap de 1000  $\mu\text{m}$ ). El sistema de placas paralelas se cubrió con una trampa y aceite mineral para prevenir la pérdida de humedad. El reómetro se programó para calentar y enfriar la muestra a una velocidad de corte y calentamiento constantes de 50  $\text{s}^{-1}$  y 2.5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , respectivamente. La muestra se calentó de 25 a 90  $^{\circ}\text{C}$  manteniéndose a ésta temperatura durante 10 min, después de éste tiempo, la muestra se enfrió a 60  $^{\circ}\text{C}$ . Cuando la muestra alcanzó la temperatura final de enfriamiento (60  $^{\circ}\text{C}$ ), se realizaron tres barridos rotacionales para evaluar las propiedades de flujo. Se aplicaron dos barridos consecutivos, uno ascendente y otro descendente a una velocidad de corte de 0.06 a 300  $\text{s}^{-1}$ , el tercer barrido fue ascendente de 1 a 300  $\text{s}^{-1}$ . Los datos se ajustaron al modelo de Ostwal-De Waele (Ley de Potencia).

### 2.8.2 Pruebas viscoelásticas

Las propiedades viscoelásticas de los almidones de manzana se determinaron de acuerdo a la metodología reportada por Singh y col. (2005). Se utilizó el mismo equipo y configuración (placas paralelas y diámetro de 60 mm) que en las curvas de flujo. El gap se ajustó a 500  $\mu\text{m}$ . Se preparó una dispersión de almidón al 20 % (p/p) en agua destilada y se mantuvo bajo agitación durante 1 h. La dispersión de almidón se depositó sobre la superficie de la placa de calentamiento del reómetro precalentada a 50  $^{\circ}\text{C}$ , se cubrió con una trampa y aceite mineral para evitar la pérdida de

humedad. La dispersión de almidón se enfrió y calentó a una velocidad de calentamiento constante de 0.5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . Primeramente se calentó de 50 a 90  $^{\circ}\text{C}$ , la muestra se mantuvo a 90  $^{\circ}\text{C}$  durante 30 min y finalmente, la muestra se enfrió de 90 a 50  $^{\circ}\text{C}$ . Los cambios en el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) durante el calentamiento-enfriamiento se evaluaron bajo un porcentaje de deformación del 1 %, el cual estuvo dentro de la región viscoelástica lineal.

## 2.9 Espectrometría de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

La caracterización de los almidones por FTIR se realizó con un espectrofotómetro de infrarrojo (MIDAC, modelo PRS, California, EUA), para lo cual se utilizaron pastillas de KBr. Las frecuencias de transición vibracional se reportaron en números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) dentro del infrarrojo medio. Se registró un promedio de 34 barridos por muestra con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  en la región de 650 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

### 2.10 Diseño experimental

El análisis de los resultados se realizó con un diseño completamente aleatorizado, para la comparación del estado de madurez del fruto y el método de aislamiento en un mismo estado de madurez se realizó la prueba de t-Student. Para el análisis de más de dos tratamientos se utilizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y las medias muestrales se analizaron mediante la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ) utilizando el programa SAS 9.0 (SAS System, Cary, NC, EUA).

## 3 Resultados y discusión

### 3.1 Caracterización fisicoquímica de los frutos en dos estados de madurez

En la Tabla 1 se presenta el comportamiento de las características físicas y químicas de las manzanas en función del estado de madurez. Se observó que el peso, el tamaño y los sólidos solubles totales (SST) de las manzanas muestreadas, aumentaron de manera significativa ( $P < 0.05$ ) con la madurez del fruto, éste comportamiento fue muy similar al observado por Villatoro y col. (2008) en manzanas Pink Lady cosechadas entre los 177 y 226 DDPF. Szymanska-Chargot y col. (2012) evaluaron la calidad de manzanas durante su maduración antes de la cosecha comercial, estos investigadores observaron un

aumento en el contenido de SST. Este comportamiento fue atribuido a la hidrólisis de los gránulos de almidón en azúcares simples aumentando así la concentración de SST y el dulzor de los frutos (Szymanska-Chargot y col., 2012). De acuerdo a Whale y Singh (2007) el crecimiento del fruto dentro de las fechas de muestreo fue normal, ya que los frutos del manzano se encuentran en constante crecimiento debido a la expansión celular entre los 35 y 180 DDPF. La acidez titulable también disminuyó significativamente con la madurez del fruto ( $P < 0.05$ ), lo cual coincide con lo reportado por Rutkowski y col. (2008), quienes evaluaron la calidad de manzanas 'Golden Delicious' durante doce semanas antes de la cosecha y tres semanas después de ésta, determinando que el contenido de ácidos orgánicos disminuye gradualmente con la maduración y almacenamiento del fruto. Por otra parte, la firmeza de los frutos disminuyó significativamente ( $P < 0.05$ ), esto es debido a que durante la etapa de crecimiento celular los frutos experimentan un ablandamiento por el desdoblamiento de los polisacáridos que constituyen la pared celular (estructura menos empacada) y el aumento del espacio intercelular, disminuyendo así la resistencia a la punción en el fruto (Szymanska-Chargot y col., 2012). Además de las anteriores variables de calidad, el color es otro de los índices de cosecha importantes para evaluar la calidad de la manzana. En la Tabla 1 se muestra el color triestímulo y el ángulo hue ( $^{\circ}$ hue) para la manzana 'Golden Delicious Smoothie'. Los frutos cosechados,

sin importar el estado de madurez, se caracterizaron por su coloración verde (valores negativo en  $a^*$ ) y amarillo (valores positivos en  $b^*$ ), de igual forma la intensidad (saturación del color o variable croma) en ambos estado de madurez no varió ( $P \geq 0.05$ ). La manera conveniente para describir la evolución del color durante la maduración del fruto es por medio del  $^{\circ}$ hue, el cual tiene un valor de  $0^{\circ}$  para el color rojo,  $90^{\circ}$  para el amarillo,  $180^{\circ}$  para el verde y  $270^{\circ}$  para el azul (Whale y Singh, 2007). En relación al  $^{\circ}$ hue, los frutos cosechados en nuestro estudio no presentaron variaciones significativas ( $P > 0.005$ ) con valores entre 114 y 115. Estos valores se encuentran por encima de los reportados por Salas y col. (2011) en manzanas 'Golden Delicious' cosechadas a los 175 DDPF ( $^{\circ}$ hue  $\approx 108^{\circ}$ ). El cambio de color durante el desarrollo y maduración de las manzanas es el resultado de la biosíntesis y degradación de clorofilas (Rutkowski y col., 2008), a medida que la concentración de clorofila desaparece, los carotenoides (coloración amarilla) se hacen notar impartiendo el característico color amarillo (Salas y col., 2011). En las variables de color evaluadas, solamente existió un incremento significativo en la variable  $L^*$  (luminosidad) ( $P \leq 0.05$ ). En lo que respecta al contenido de humedad (Tabla 1), éste aumentó significativamente ( $P < 0.05$ ) con la madurez del fruto. Se ha documentado que la humedad de las manzanas, así como otros atributos, están fuertemente influenciados por las condiciones geográficas y prácticas de cultivo, siendo el riego un factor determinante (Kilili y col., 1996).

Tabla 1. Características físicas y químicas en manzana 'Golden Delicious Smoothie' a dos estados de madurez<sup>1</sup>.

Variable	DDPF <sup>2</sup>	
	60	90
Diámetro ecuatorial (mm)	31.03 $\pm$ 1.25 <sup>b</sup>	40.62 $\pm$ 1.24 <sup>a</sup>
Diámetro polar (mm)	32.27 $\pm$ 1.07 <sup>b</sup>	41.12 $\pm$ 1.00 <sup>a</sup>
Peso (g)	17.11 $\pm$ 1.59 <sup>b</sup>	34.70 $\pm$ 2.51 <sup>a</sup>
Firmeza (N)	151.66 $\pm$ 3.90 <sup>a</sup>	114.30 $\pm$ 2.74 <sup>b</sup>
Humedad (%)	85.22 $\pm$ 0.68 <sup>b</sup>	86.34 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>
Acidez (g/100 mL)	1.15 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.75 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
SST ( $^{\circ}$ B)	9.15 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	10.41 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>
Color		
$L^*$	59.70 $\pm$ 0.73 <sup>b</sup>	67.46 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>
$a^*$	-15.39 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>	-14.96 $\pm$ 1.16 <sup>a</sup>
$b^*$	34.51 $\pm$ 1.10 <sup>a</sup>	37.08 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>
$^{\circ}$ hue	114.04 $\pm$ 0.86 <sup>a</sup>	113.79 $\pm$ 10.15 <sup>a</sup>
C	37.78 $\pm$ 1.11 <sup>a</sup>	37.08 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Media aritmética de al menos tres repeticiones  $\pm$  error estándar. Valores con la misma letra dentro de las filas no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba  $t$  de Student ( $P > 0.05$ ). <sup>2</sup>DDPF = Días después de la plena floración.

Tabla 2. Composición química de los almidones de manzana 'Golden Delicious Smoothee' a dos estados de madurez<sup>1</sup>.

DDPF <sup>2</sup>	Método de aislamiento <sup>3</sup>	Rendimiento <sup>4</sup> (% bs, pulpa procesada)	Humedad (%)	Proteínas* (%)	Lípidos* (%)	Cenizas* (%)	Almidón Total* (%)
60	SN	14.19 ± 0.19 <sup>b,A</sup>	5.96 ± 0.51 <sup>a,A</sup>	0.25 ± 0.02 <sup>a,A</sup>	0.34 ± 0.01 <sup>a,A</sup>	0.06 ± 0.02 <sup>a,A</sup>	92.43 ± 0.55 <sup>a,A</sup>
	ST	10.77 ± 0.12 <sup>d,B</sup>	5.98 ± 0.44 <sup>a,A</sup>	0.15 ± 0.01 <sup>b,B</sup>	0.18 ± 0.06 <sup>a,B</sup>	0.05 ± 0.01 <sup>a,A</sup>	94.42 ± 0.66 <sup>a,A</sup>
90	SN	15.98 ± 0.28 <sup>a,A</sup>	6.79 ± 0.52 <sup>a,A</sup>	0.33 ± 0.01 <sup>a,A</sup>	0.21 ± 0.06 <sup>a,A</sup>	0.08 ± 0.01 <sup>a,A</sup>	94.48 ± 1.95 <sup>a,A</sup>
	ST	11.91 ± 0.05 <sup>c,B</sup>	5.58 ± 0.20 <sup>a,A</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>b,B</sup>	0.23 ± 0.09 <sup>a,A</sup>	0.06 ± 0.03 <sup>a,A</sup>	92.89 ± 0.35 <sup>a,A</sup>

<sup>1</sup>Media aritmética de al menos tres repeticiones ± error estándar. Valores con la misma letra minúscula dentro de las columnas no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P > 0.05$ ). Letras mayúsculas iguales en columnas en la comparación del método de aislamiento en un mismo estado de madurez no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba  $t$  de Student ( $P > 0.05$ ). <sup>2</sup>DDPF = Días después de la plena floración. <sup>3</sup>Método de aislamiento: SN = Método de Singh *et al.* (2005); ST = Método de Stevenson *et al.* (2006). <sup>4</sup>Rendimiento expresado como porcentaje de harina rica en almidón por pulpa procesada en base seca (bs). \*Porcentaje en base seca (bs).

Stevenson y *col.* (2006a) aislaron almidones de manzanas inmaduras. Estos investigadores reportaron un contenido de humedad de 90.4 % para manzanas Golden Delicious, el cual es mucho más elevado que el reportado en nuestra investigación; ésta variación se pudo deber principalmente al estado de madurez del fruto, ya que dichos autores utilizaron frutos en mayor estado de madurez, con un mayor peso promedio (casi tres veces más pesados) que los frutos cosechados a los 90 DDPF en el presente estudio. De manera general, las dimensiones, la masa y los SST se encuentran por debajo de los que presentan éste tipo de frutos en su cosecha comercial, en tanto que la firmeza, la acidez titulable y el °h se encuentran por encima (González-Portillo y *col.*, 2008).

### 3.2 Análisis proximal y rendimiento del almidón

El análisis proximal nos permite cuantificar los principales componentes en los almidones aislados. En la Tabla 2 se registran los resultados del análisis proximal aplicado a los almidones de manzana aislados a dos estados de maduración utilizando dos metodologías. El contenido de humedad (5.58-6.79 %) no fue afectado de manera significativa por el estado de madurez ni por el método de aislamiento ( $P > 0.05$ ), y se encuentra por debajo del nivel máximo para los almidones nativos comerciales, el cual debe ser menor al 20 % (Soni y *col.*, 1993). El contenido de proteínas, lípidos y cenizas en todos los tratamientos fue menor del 0.5 %, y solamente existieron diferencias significativas en cuanto a la presencia de proteínas ( $P < 0.05$ ); la baja concentración de estos componentes se puede

atribuir a la pureza del almidón aislado. Aunque el contenido de proteínas en los almidones fue relativamente bajo, el método de aislamiento afectó de manera significativa el contenido de las mismas en los almidones aislados para frutos a un mismo estado de madurez; variando de 0.25 % (60 DDPF) y 0.33 % (90 DDPF) a 0.15 % y 0.16 % cuando se utilizó el aislamiento con solventes (método ST), respectivamente. Lo anterior se debió a los constantes lavados con la solución acuosa de tolueno y cloruro de sodio, lo cual removió pigmentos y proteínas (Stevenson y *col.*, 2006a).

Se observó también, que el contenido de proteínas disminuyó significativamente ( $P < 0.05$ ) cuando las manzanas se cosecharon a 90 DDPF y se utilizó el aislamiento con agua. Es importante señalar que antes de procesar las manzanas, se extrajo el corazón de los frutos y con ello se eliminaron las semillas. De acuerdo con Yu y *col.* (2007) el contenido de cenizas en las semillas de manzana puede ser de hasta un 4.4 %, y se caracterizan por ser ricas en proteína y lípidos registrando concentraciones de 27.7 a 28 % y de 33.8 a 34.5 %, respectivamente.

En lo que respecta a los métodos de aislamiento, es importante determinar el rendimiento del proceso. El método de aislamiento afectó el rendimiento ( $P < 0.05$ ) en base a la cantidad de pulpa procesada sin importar el estado de madurez, obteniéndose un mayor rendimiento cuando se utilizó el método de aislamiento SN en frutos cosechados a los 90 DDPF (Tabla 2). En cuanto al estado de madurez, existió un aumento significativo de  $\approx 12.61$  % cuando se realizó el aislamiento con el método SN al pasar de 14.19 a 15.98 g almidón/100 g pulpa seca, para manzanas cosechadas a los 60 y 90 DDPF,

respectivamente. Un comportamiento similar se observó cuando se utilizó el método ST, ya que se registró un aumento del 10.58 % al pasar de 10.77 a 11.91 g almidón/100 g pulpa seca, en manzanas cosechadas a los 60 y 90 DDPF, respectivamente. Es evidente, que el método de aislamiento SN fue el más eficiente en todos los casos y que existió una mayor concentración de almidón en los frutos conforme estos maduraron. La concentración de almidón en manzanas en función del estado de madurez ha sido documentada de manera cualitativa como índice de yodo (donde 1 = tejidos totalmente pigmentados, y 10 = ausencia de color), el cual aumenta gradualmente con la maduración del fruto, evidenciando una menor concentración de almidón en el fruto (Brookfield y col., 1997; Villatoro y col., 2008; Molina-Delgado y col., 2009). Brookfield y col. (1997) reportaron que la concentración de almidón en manzanas Royal Gala y Fuji disminuye inicialmente hasta alcanzar un mínimo a los 30 DDPF y posteriormente aumenta hasta alcanzar un máximo entre los 110 y 120 DDPF. Las concentraciones máximas de almidón reportadas por estos investigadores para manzanas Royal Gala y Fuji fueron de 28 y 26 mg/g pulpa fresca a los 110 y 110-120 DDPF, respectivamente. Estos valores se encuentran por encima de los encontrados en éste trabajo, los cuales mostraron rendimientos de almidón entre 15.91 y 21.84 mg/g pulpa fresca o 10.77 y 15.98 % (base seca). Por su parte, Singh y col. (2005) reportaron un rendimiento (en base seca) de 44 y 53.2 %, un equivalente aproximado del 48 y 62 mg/g pulpa fresca, en manzanas inmaduras Royal Gala y Granny Smith, respectivamente. Estas diferencias pueden ser atribuidas principalmente al hecho de que en los métodos de aislamiento utilizados se eliminó

el corazón (método ST) o cáscara y corazón juntos (método SN), además de la degradación que sufre el almidón durante la maduración de los frutos. Aunque el rendimiento de almidón fue significativamente mayor cuando aumentó la madurez del fruto, la pureza de los almidones aislados (determinada como almidón total) fue prácticamente la misma en todos los tratamientos ( $P > 0.05$ ) (Tabla 2). Otra característica importante para evaluar el efecto del método de aislamiento y calidad de los almidones aislados, es el color (Cruz y col., 2013; Villarreal y col., 2013). En la Tabla 3 se puede apreciar que todos los almidones aislados, sin importar el método de aislamiento y estado de madurez de los frutos, se caracterizaron por presentar valores en la variable  $L^*$  (luminosidad) entre 98.19 y 98.65, lo que se interpreta como una elevada blancura si se considera que un valor para  $L$  de 100 es totalmente blanco. Conforme el fruto maduró, la coordenada  $a^*$  de los almidones aislados registró un aumento de -0.43 a -0.05 (valores de tonalidad verde) para almidones aislados a los 60 (método SN) y 90 DDPF (método ST), respectivamente. El método de aislamiento en un mismo estado de madurez afectó significativamente la coordenada  $a^*$ , obteniéndose valores más altos cuando se aplicó el método ST. Un comportamiento similar se observó en la coordenada  $b^*$ , la cual presentó valores entre 1.65 y 0.07 (valores de tonalidad amarilla). Lo anterior se atribuyó a que el uso de tolueno en el método ST eliminó pigmentos naturales propios del fruto (Singh y col., 2005). Por otra parte, el  $^{\circ}$ hue (tonalidad del color) osciló entre 94.09 y 161.21 $^{\circ}$  confirmando tonalidades entre amarillo y verde a los almidones, lo cual se puede atribuir a los pigmentos presentes en los frutos inmaduros utilizados en la extracción.

Tabla 3. Efecto del método de aislamiento sobre el color de los almidones de manzana aislados a dos estados de madurez<sup>1</sup>.

DDPF <sup>2</sup>	Método de <sup>3</sup> aislamiento	Factor $L^*$	$a^*$	$b^*$	Croma	$^{\circ}$ hue
60	SN	98.19 ± 0.28 <sup>a,A</sup>	-0.43 ± 0.06 <sup>c,B</sup>	1.65 ± 0.08 <sup>a,A</sup>	1.70 ± 0.09 <sup>a,A</sup>	104.58 ± 1.27 <sup>c,B</sup>
	ST	98.56 ± 0.18 <sup>a,A</sup>	-0.19 ± 0.02 <sup>b,A</sup>	0.07 ± 0.02 <sup>c,B</sup>	0.20 ± 0.01 <sup>c,B</sup>	161.21 ± 8.49 <sup>a,A</sup>
90	SN	98.65 ± 0.04 <sup>a,A</sup>	-0.16 ± 0.01 <sup>ab,B</sup>	0.14 ± 0.02 <sup>c,B</sup>	0.21 ± 0.01 <sup>c,B</sup>	137.65 ± 6.19 <sup>b,A</sup>
	ST	98.29 ± 0.16 <sup>a,A</sup>	-0.05 ± 0.01 <sup>a,A</sup>	0.70 ± 0.02 <sup>b,A</sup>	0.70 ± 0.02 <sup>b,A</sup>	94.09 ± 0.83 <sup>c,B</sup>

<sup>1</sup>Media aritmética de al menos tres repeticiones ± error estándar. Valores con la misma letra minúscula, dentro de las columnas no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P > 0.05$ ). Letras mayúsculas iguales en columnas, en la comparación del método de aislamiento en un mismo estado de madurez no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba  $t$  de Student ( $P > 0.05$ ). <sup>2</sup>DDPF = Días después de la plena floración. <sup>3</sup>Método de aislamiento: SN = Método de Singh *et al.* (2005); ST = Método de Stevenson *et al.* (2006).

Un  $\text{hue}$  de 90 es característico de la tonalidad amarilla, valores mayores corresponden a una tonalidad verde. En lo que respecta a la intensidad o saturación del color (croma), este osciló entre 1.70 y 0.20 y no presentó tendencia alguna con el estado de madurez del fruto o el método de aislamiento. Sin embargo, los valores aquí reportados se encuentran por debajo de los observados por García-Tejeda y col. (2011) para almidón nativo de plátano (croma = 10.95) y oxidado (croma = 5.75), valores de croma cercanos a cero se relacionan con una coloración blanca (García-Tejeda y col., 2011).

### 3.3 Morfología de los gránulos de almidón

Las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido de los almidones aislados a partir de manzana muestran similitud en cuanto a la forma y tamaño de los gránulos. La morfología de los gránulos de almidón, al igual que el tamaño depende principalmente de la fuente botánica (Agama-Acevedo y col., 2015; Méndez-Montealvo y col., 2015). La forma de los gránulos de almidones de manzana no varió con la madurez del fruto y con el método de aislamiento, y en todos los casos se apreciaron gránulos con formas redondas, esféricas o de domo (Fig. 1). Estos resultados son muy similares a los observados previamente por Singh y col. (2005) para gránulos de almidón de manzanas inmaduras de

diferentes cultivares (Criterion, Ruspippum, Red Spur, Skyline Supreme y Granny Smith) y por Stevenson y col. (2006a) en almidón de manzana 'Golden Delicious', entre otros cultivares (Gala, Granny Smith, Jersey mac, Jonagold y Royal Gala). Además, éste tipo de gránulos ha sido reportado en kiwi (Stevenson y col., 2006b) y calabaza kamo kamo (Singh y col., 2007). En lo que respecta al tamaño de los gránulos, éste osciló entre 2 y 10  $\mu\text{m}$ . Los gránulos de almidón de manzana cosechada a los 60 DDPF obtenidos con el método SN (Fig. 1a) y ST (Fig. 1c) presentaron gránulos con un diámetro de 2.7-8.6  $\mu\text{m}$  y de 2.7-8.7  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Por otra parte, cuando las manzanas se cosecharon a 90 DDPF, los gránulos del almidón obtenido con el método SN (Fig. 1b) y ST (Fig. 1d) presentaron diámetros de 4.5-9 y de 4.8-9  $\mu\text{m}$ , respectivamente. De manera general, el método de aislamiento no afectó ( $P > 0.05$ ) el tamaño de los gránulos; sin embargo el estado de madurez sí promovió un cambio en el tamaño de los gránulos (Kovács y Eads, 1999).

### 3.4 Difracción de rayos X

La difracción de rayos X permite estudiar el arreglo estructural de los polímeros, proporcionando información sobre el nivel de cristalinidad. En la Fig. 2 se muestra el patrón de difracción de rayos X de los almidones de manzana aislados.

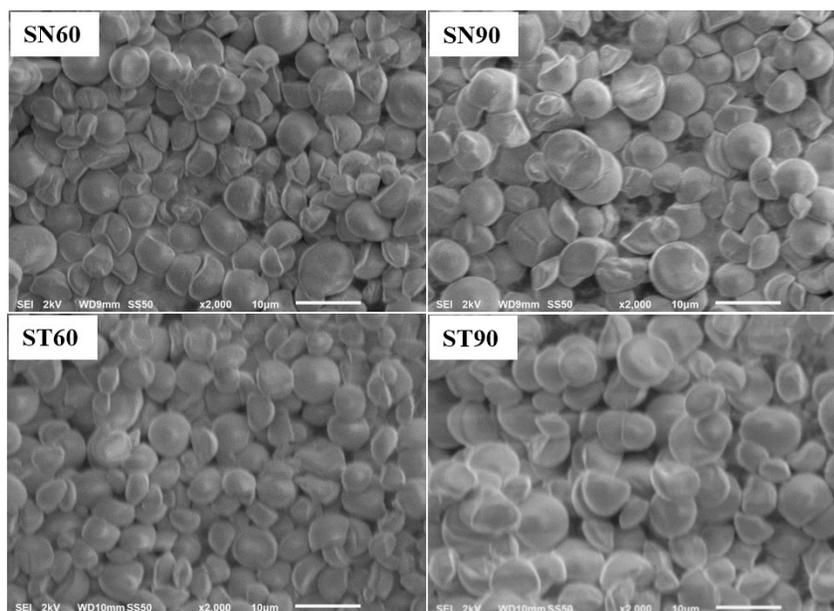


Fig. 1. Microfotografías de microscopía electrónica de barrido del almidón de manzana aislado por el método SN a 60 (SN60) y 90 (SN90) DDPF y con el método ST a 60 (ST60) y 90 (ST90) DDPF.

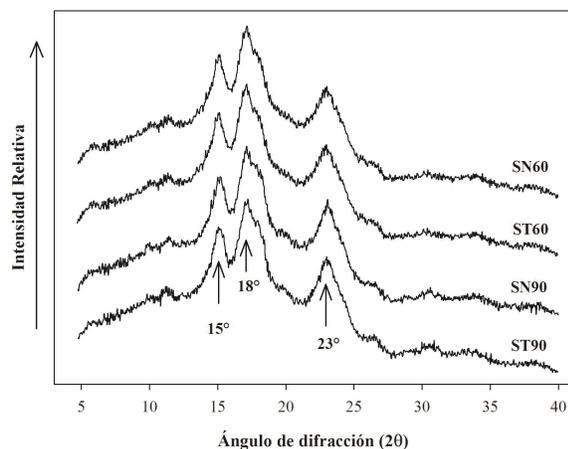


Fig. 2. Patrones de difracción de rayos X de almidones de manzana aislados por el método SN a 60 (SN60) y 90 (SN90) DDPF y por el método ST a 60 (ST60) y 90 (ST90) DDPF.

Se puede observar que sin importar el estado de madurez y el método de aislamiento utilizado, la cristalinidad no mostró variaciones y todos los almidones presentaron picos de difracción definidos alrededor de  $2\theta = 15^\circ$ ,  $18^\circ$  y  $23^\circ$ , también se observó un pico pequeño a  $2\theta = 19^\circ$  en todos los difractogramas. Estos resultados son similares a los reportados por Singh y col. (2005) quienes caracterizaron almidones de manzana de varios cultivares (Gala, Golden Delicious, Granny Smith, Jersey mac, Jonagold y Royal Gala) a los 110 DDPF, además, los autores registraron un pico de menor intensidad a  $2\theta = 5^\circ$  en todos los cultivares sin hacer referencia al pico pequeño en  $2\theta = 18^\circ$ . En un trabajo similar, Stevenson y col. (2006a) observaron el mismo patrón de cristalinidad en almidón aislado a partir de manzanas inmaduras de diferentes cultivares (Criterion, Red Spur, Skyline Supreme, Rusppipum y Grany Smith). Estos investigadores observaron que el almidón de manzana 'Golden Delicious' (al igual que los demás cultivares) presentó un pico en  $2\theta = 18^\circ$ , similar al observado en éste trabajo (Fig. 2). Los picos más pronunciados a  $2\theta = 15^\circ$ ,  $18^\circ$  y  $23^\circ$  son característicos del patrón de cristalinidad tipo A, el cual es típico para los almidones nativos de cereales (Li y col., 2014). Sin embargo, los picos alrededor de  $2\theta = 5^\circ$ ,  $15^\circ$ ,  $19^\circ$ ,  $20^\circ$ ,  $23^\circ$  y  $24^\circ$  son representativos de un patrón de cristalinidad del tipo B, el cual es característico para la mayoría de los almidones nativos de tubérculos (Jayakody y col., 2005; Zhou y col., 2012). Aunque los difractogramas de los almidones aislados en éste trabajo no presentaron

picos de difracción en  $2\theta = 5^\circ$  (Fig. 2), se puede deducir que el almidón de manzana presentó un patrón de difracción de rayos X híbrido entre A y B, siendo este referido en la literatura científica como un patrón de cristalinidad tipo C (Bulón y col., 1998; Millan-Testa y col., 2005). La cristalinidad del tipo C ha sido reportada en almidón nativo de legumbres (Ovando-Martínez y col., 2011) y en almidones nativos de frutas como el plátano (Pelissari y col., 2012).

### 3.5 Propiedades térmicas

La temperatura inicial de gelatinización ( $T_i$ ) de los gránulos de almidón de manzana osciló entre  $62.2$  y  $64.2$   $^\circ\text{C}$ , con una temperatura pico ( $T_p$ ) entre  $67.7$  y  $69.7$   $^\circ\text{C}$ , temperatura final ( $T_f$ ) de  $78.5$  a  $81.7$   $^\circ\text{C}$  y un cambio de entalpía de gelatinización ( $\Delta H_{gel}$ ) de  $9.7$  a  $10.2$  (J/g) (Tabla 4). Estos valores fueron muy similares a los reportados por Singh y col. (2005) en almidones de manzana 'Gala', 'Golden Delicious', 'Granny Smith', 'Jerseymac', 'Jonagold' y 'Royal Gala' ( $T_i = 64.1$ - $66.5$   $^\circ\text{C}$ ,  $T_p = 70.0$ - $70.9$   $^\circ\text{C}$ ,  $T_f = 75.1$ - $77.3$   $^\circ\text{C}$  y  $\Delta H_{gel} = 15.8$ - $17.7$  J/g). Sin embargo, fueron superiores a los registrados por Stevenson y col. (2006a) para almidón de manzana 'Criterion', 'Red Spur', 'Skyline Supreme', 'Rusppipum' y 'Granny Smith' ( $T_i = 54.7$ - $56.2$   $^\circ\text{C}$ ,  $T_p = 57.1$ - $59.1$   $^\circ\text{C}$ ,  $T_f = 60.2$ - $63.5$   $^\circ\text{C}$  y  $\Delta H_{gel} = 3.3$ - $4.2$  J/g). Singh y col. (2005) y Stevenson y col. (2006a) observaron que las propiedades térmicas variaron con el cultivar; sin embargo resulta interesante que ambos investigadores evaluaron el cultivar Granny Smith y reportaron valores diferentes para las propiedades térmicas de este cultivar cosechado en la India ( $T_i = 56.1$   $^\circ\text{C}$ ,  $T_p = 59.1$   $^\circ\text{C}$ ,  $T_f = 63.5$   $^\circ\text{C}$ ,  $\Delta H_{gel} = 3.3$  J/g) (Singh y col., 2005) y en Estados Unidos de Norteamérica ( $T_i = 66.5$   $^\circ\text{C}$ ,  $T_p = 70.1$   $^\circ\text{C}$ ,  $T_f = 75.1$   $^\circ\text{C}$ ,  $\Delta H_{gel} = 15.8$  J/g) (Stevenson y col., 2006a). Lo anterior supone que las propiedades térmicas de los almidones de manzana, además de estar influenciadas por el cultivar, son afectadas por las condiciones agro-climatológicas de la región de cultivo. Las temperaturas de transición ( $T_i$ ,  $T_p$  y  $T_f$ ) de los almidones aislados (Tabla 4) se afectaron por el estado de madurez del fruto y el método de aislamiento ( $P < 0.05$ ); sin embargo no existió tendencia alguna. Las propiedades térmicas fueron muy similares a las reportadas para almidón de papa ( $T_i = 62.31$   $^\circ\text{C}$ ,  $T_p = 71.23$   $^\circ\text{C}$ ,  $T_f = 81.7$   $^\circ\text{C}$ ) (Abegunde y col., 2013), pero inferiores a las observadas en almidón de plátano cuadrado ( $T_i = 71.6$   $^\circ\text{C}$ ,  $T_p = 79.8$   $^\circ\text{C}$  y  $T_f = 89.9$   $^\circ\text{C}$ ) (de la Torre-Gutiérrez y col., 2008).

Tabla 4. Variables térmicas de los almidones de manzana aislados por dos metodologías a dos estados de madurez<sup>1</sup>.

DDPF <sup>2</sup>	Método de aislamiento <sup>3</sup>	$T_i$ (°C)	$T_p$ (°C)	$T_f$ (°C)	$\Delta H_{gel}$ (J/g)
60	SN	64.20 ± 0.1 <sup>a,A</sup>	69.20 ± 0.01 <sup>a,A</sup>	78.50 ± 0.40 <sup>b,A</sup>	10.20 ± 0.70 <sup>a,A</sup>
	ST	63.80 ± 0.10 <sup>ab,A</sup>	69.20 ± 0.04 <sup>a,A</sup>	78.80 ± 0.73 <sup>b,A</sup>	6.90 ± 0.11 <sup>b,B</sup>
90	SN	63.00 ± 0.63 <sup>ab,A</sup>	67.70 ± 0.25 <sup>b,A</sup>	81.70 ± 0.08 <sup>a,A</sup>	8.40 ± 0.33 <sup>ab,A</sup>
	ST	62.20 ± 0.11 <sup>b,A</sup>	68.80 ± 0.19 <sup>a,A</sup>	80.90 ± 0.33 <sup>ab,A</sup>	9.70 ± 0.23 <sup>a,A</sup>

<sup>1</sup>Media aritmética de al menos tres repeticiones ± error estándar. Valores con la misma letra dentro de columnas, no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P > 0.05$ ). Letras mayúsculas iguales en columnas, en la comparación del método de aislamiento en un mismo estado de madurez no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba  $t$  de Student ( $P > 0.05$ ).  $T_i$  = temperatura de inicio de gelatinización;  $T_p$  = temperatura pico de gelatinización;  $T_f$  = temperatura final de gelatinización;  $\Delta H_{gel}$  = entalpía de gelatinización. <sup>2</sup>DDPF = Días después de la plena floración. <sup>3</sup>Método de aislamiento: SN = Método de Singh *et al.* (2005); ST = Método de Stevenson *et al.* (2006).

Tabla 5. Variables reológicas del modelo Ley de Potencia ( $\tau = k\dot{\gamma}^n$ ) para los almidones de manzana (7.5 % p/p) a 60 °C<sup>1</sup>.

DDPF <sup>2</sup>	Método de aislamiento <sup>3</sup>	$n$	$k$ (Pa·s <sup><math>n</math></sup> )	$R^2$
60	SN	0.49 ± 0.01 <sup>a,A</sup>	5.49 ± 0.45 <sup>b,A</sup>	0.99
	ST	0.52 ± 0.02 <sup>a,A</sup>	7.92 ± 0.81 <sup>b,A</sup>	0.99
90	SN	0.47 ± 0.01 <sup>a,A</sup>	15.19 ± 1.34 <sup>a,A</sup>	0.99
	ST	0.48 ± 0.00 <sup>a,A</sup>	14.67 ± 0.45 <sup>a,A</sup>	0.99

<sup>1</sup>Media aritmética de al menos tres repeticiones ± error estándar. Valores con la misma letra minúscula dentro de las columnas, no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P > 0.05$ ). Letras mayúsculas iguales en columnas, en la comparación del método de aislamiento en un mismo estado de madurez no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba  $t$  de Student ( $P > 0.05$ ). <sup>2</sup>DDPF = Días después de la plena floración. <sup>3</sup>Método de aislamiento: SN = Método de Singh *et al.* (2005); ST = Método de Stevenson *et al.* (2006).

En general, las propiedades térmicas de los almidones son afectadas por la estructura molecular de la región cristalina (cadenas cortas de amilopectina) y amorfa (amilosa) (Abegunde y col., 2013). Se ha observado que existe una correlación negativa entre el contenido de amilosa aparente y los valores para  $T_i$  y  $T_p$  (Stevenson y col., 2006a). Se puede decir que para el proceso de gelatinización, el almidón de manzana requirió valores de energía (entalpía de gelatinización,  $\Delta H_{gel}$ ) de 6.90 a 10.20 J/g (Tabla 4) similares al almidón de papa (9.52 J/g) (Abegunde y col., 2013), pero inferiores al almidón de mango manila (13.5 J/g) (Bello-Pérez y col., 2005), chirimoya (12.2 a 16.1 J/g) (Goñi y col., 2008) y kiwi (18.5 J/g) (Stevenson y col., 2006b). La entalpía de gelatinización se ha relacionado con el contenido de amilosa en los almidones, es así que a mayor contenido de amilosa existe un menor arreglo cristalino en los almidones, por lo cual se requiere de valores bajos en  $\Delta H_{gel}$  para que los gránulos gelatinicen (Singh y col., 2005; Stevenson y col., 2006a; de la Torre-Gutiérrez y col.,

2008). Stevenson y col. (2006a) reportaron que el contenido de amilosa en almidón de manzana varía de 26 a 29.3 %, el cual es mayor al reportado en almidón de kiwi (18.8 %) (Stevenson y col., 2006b) y chirimoya (15.4-16.3 %) (Goñi y col., 2008).

### 3.6 Comportamiento reológico

#### 3.6.1 Curvas de flujo

Todas las dispersiones de almidón presentaron un comportamiento no-Newtoniano del tipo corte adelgazante (pseudoplástico) el cual se caracterizó por valores de índices de comportamiento de flujo ( $n$ ) menores a 1 (Estrada-Girón y col. 2014) y con un adecuado ajuste al modelo de Ley de Potencia ( $R^2 > 0.98$ ) (Tabla 5). Se observó en todas las muestras la disminución de la viscosidad aparente conforme aumentó la velocidad de corte (Fig. 3). Los valores  $n$  oscilaron desde 0.47 (muestra SN90) hasta 0.52 (muestra ST60) sin que se

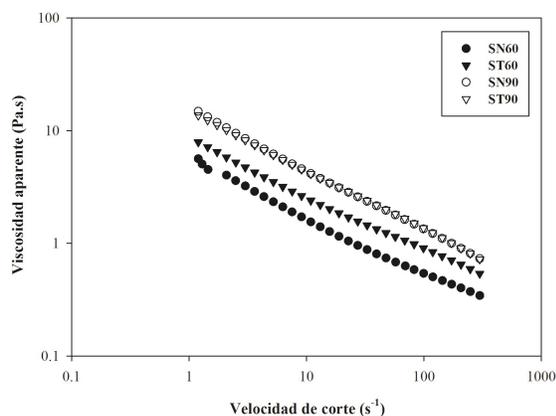


Fig. 3. Variación de la viscosidad aparente con la velocidad de corte de almidones de manzana aislados por el método SN a 60 (SN60) y 90 (SN90) DDPF y por el método ST a 60 (ST60) y 90 (ST90) DDPF.

observaran diferencias significativas entre ninguna de ellas. En este sentido, no se observó ningún efecto significativo ( $P > 0.05$ ) ni por el método de aislamiento ni por los tiempos de madurez en cuanto a la determinación de la variable  $n$ . Es importante mencionar que estos valores se determinaron a la temperatura de 60 °C, de tal manera que a esta temperatura las pastas de almidón son una mezcla de gránulos hinchados y gránulos parcialmente fragmentados suspendidos en una solución macromolecular (Núñez-Santiago y col., 2004). En la variable de índice de consistencia ( $k$ ) se observaron incrementos desde 5.49 Pa·s <sup>$n$</sup>  (SN60) hasta 14.67 Pa·s <sup>$n$</sup>  (ST90). Estos valores están directamente relacionados con los incrementos en la viscosidad aparente (Sánchez-Rivera y col., 2013). No se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre los diferentes métodos de aislamiento a un mismo estado de madurez; sin embargo, si existieron diferencias significativas en cuanto al estado de madurez de los frutos utilizando el mismo método de aislamiento (Tabla 5). En general, el comportamiento reológico de las dispersiones de almidón depende el tamaño y forma los gránulos de almidón y de la relación amilosa/amilopectina, factores determinados por la fuente botánica (Correia y Beirão-da-Costa, 2010; Berski y col., 2011).

### 3.6.2 Pruebas viscoelásticas

En la Fig. 4 se observa el comportamiento viscoelástico de las dispersiones de almidón a 60 y 90 DDPF por los dos métodos de aislamiento durante el calentamiento a 0.5 °C/min desde 50 hasta 90

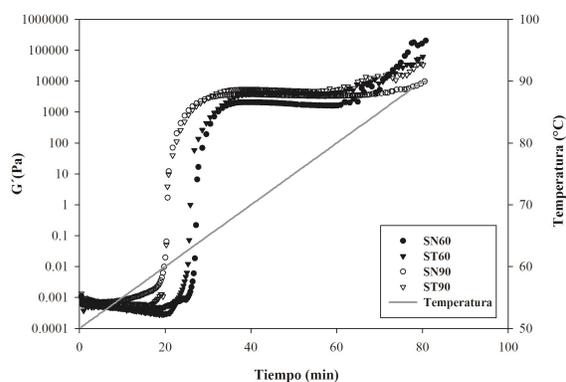


Fig. 4. Comportamiento de  $G'$  durante el calentamiento de almidones de manzana aislados por el método SN a 60 (SN60) y 90 (SN90) DDPF y por el método ST a 60 (ST60) y 90 (ST90) DDPF.

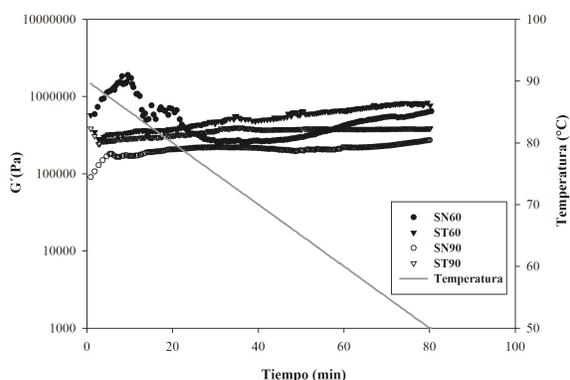


Fig. 5. Comportamiento de  $G'$  durante el enfriamiento de almidones de manzana aislados por el método SN a 60 (SN60) y 90 (SN90) DDPF y por el método ST a 60 (ST60) y 90 (ST90) DDPF.

°C. Se observó que el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) de todas las muestras incrementó durante el calentamiento a un valor constante de 10,000 Pa aproximadamente a los 20 min en las muestras con el mayor estado de madurez (90 DDPF) independientemente del método utilizado para el aislamiento del almidón. Con las muestras a menor estado de madurez (60 DDPF) se observó un comportamiento similar a las muestras de mayor madurez, exceptuando que el incremento de  $G'$  se observó a un mayor tiempo ( $> 25$  min); sin embargo, la dispersión de almidón ST60 presentó un comportamiento semejante al de las muestras SN90 y ST90, mientras que el valor de  $G'$  en SN60, fue menor ( $\approx 1,000$  Pa) en el intervalo de tiempo de 20 a 60 min. Todas las dispersiones incrementaron el valor de  $G'$  a partir de los 60 min. Estas tendencias se debieron a que durante el calentamiento, los gránulos de almidón

se hinchan (absorben moléculas de agua) y se lixivian las cadenas de amilosa, conduciendo a un incremento en el valor de  $G'$ , lo cual se atribuye a la formación de una estructura de gránulos de almidón hinchados (Hsu y col., 2000; Singh y col., 2005). Este comportamiento ya había sido anteriormente reportado por Singh y col. (2005) en estudios de almidones de manzanas de diversos cultivares; sin embargo estos investigadores reportaron un valor máximo de  $G'$  alcanzado entre los 66 y 69.5 °C y después observaron, que el valor del módulo comenzó a disminuir debido a la destrucción de la estructura del gel. En nuestro estudio no observamos dicha disminución, posiblemente debido a un diferente arreglo estructural y a una mayor relación amilosa/amilopectina (Tsai y col., 1997).

Durante el enfriamiento de 90 a 50 °C (Fig. 5), en el módulo  $G'$  se observó un comportamiento similar entre las muestras ST60, SN90 y ST90, con el mayor valor en la primera (ST60  $\approx 1 \times 10^6$  Pa) y el menor en la última muestra (ST90  $\approx 3 \times 10^5$  Pa). Sin embargo, se presentó un comportamiento  $G'$  diferente en la muestra SN60 durante el inicio del enfriamiento (intervalo de tiempo de 0-20 min) a temperaturas elevadas (80-90 °C), y posteriormente disminuyó en el tiempo de 20 a 40 min. En esta muestra, a partir de los 40 min se observó un incremento constante hasta llegar a un valor  $G'$  superior a los almidones obtenidos a mayores estados de madurez, pero inferior a la muestra ST60. Evidentemente, la prueba viscoelástica indicó un comportamiento diferente en la muestra SN60 en comparación con las demás, este comportamiento pudo haber sido causado, entre otras cosas, por la forma y tamaño de los gránulos (Correia y Beirão-da-Costa, 2010; Berski y col., 2011).

### 3.7 Espectrometría de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)

En la Fig. 6 se muestran los espectros de FTIR de los almidones nativos aislados a partir de manzana 'Golden Delicious Smoothee' a dos estados de madurez y utilizando los dos métodos de aislamiento. Los espectros obtenidos en este trabajo presentaron estiramientos de los principales grupos característicos de la molécula de almidón y concuerdan con los reportados para otros almidones nativos como el de plátano (Pelissari y col., 2012) y arroz (Wiącek, 2015). La señal más amplia se ubicó a 3290  $\text{cm}^{-1}$  y se relacionó con el estiramiento del enlace libre inter e intramolecular O-H, característico de las moléculas de agua (Pelissari y col., 2012). La segunda señal se observó a 2922  $\text{cm}^{-1}$  y es característica de los

estiramientos C-H asociados con el anillo de glucosa (Mano y col., 2003; Jiang y col., 2011). La siguiente señal apareció en 1642  $\text{cm}^{-1}$  y se debió a las vibraciones por flexión de los grupos O-H del agua absorbida en la región amorfa de la molécula de almidón (Das y col., 2015). La señal registrada a 1462  $\text{cm}^{-1}$  fue resultado de las vibraciones por flexión de los grupos  $\text{CH}_2$ , en tanto que las señales a 1421 y 1340  $\text{cm}^{-1}$  son atribuidas a las vibraciones por flexión de los enlaces C-H (Mano y col., 2003; Pascoal y col., 2013).

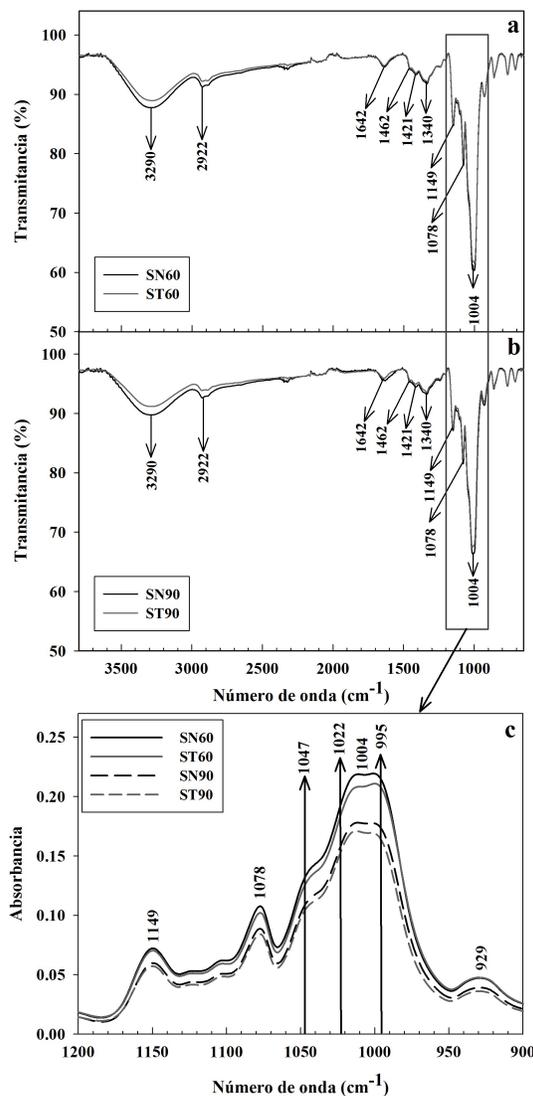


Fig. 6. Espectros de FTIR de almidones de manzana a 60 DDPF (a) y 90 DDPF (b) aislados utilizando los métodos SN y ST. Espectro FTIR en unidades de absorbancia en la región de la huella dactilar de 900 a 1200  $\text{cm}^{-1}$  (c).

Finalmente, dentro de la región de huella dactilar ( $400\text{--}1250\text{ cm}^{-1}$ ), se presentaron las señales más intensas y características para carbohidratos en el infrarrojo medio (Pelissari y col., 2012). Se pueden apreciar tres señales, una a  $1149\text{ cm}^{-1}$ , otra a  $1078\text{ cm}^{-1}$  y una más a  $1004\text{ cm}^{-1}$ , todas estas corresponden a las vibraciones del estiramiento de C-O-C y C-O-H en los enlaces glucosídicos de los polisacáridos (Jiang y col., 2011; Liu y col., 2011; Pascoal y col., 2013). La espectroscopia FTIR nos permite, por comparación de espectros, detectar posibles cambios estructurales del almidón a un nivel molecular de corto rango, principalmente en las señales a  $1047$ ,  $1022$  y  $995\text{ cm}^{-1}$  (van Soest y col., 1995; Smits y col., 1998). Las señales a  $1022\text{ cm}^{-1}$  y  $1045\text{--}1047$  se han relacionado con las vibraciones de la región amorfa (Shrestha y col., 2010) y cristalina (van Soest y col., 1995; Shrestha y col., 2010) del almidón, respectivamente. Por otra parte, la señal a  $995\text{ cm}^{-1}$ , la cual se encuentra relacionada con el enlace por puente de hidrógeno intramolecular del grupo hidroxilo del carbono 6, es sensible al agua (Smits y col., 1998). Los valores obtenidos del cociente de la intensidad de las absorbancias  $1045/1022$  o  $1022/995\text{ cm}^{-1}$  proporciona información sobre el grado de cristalinidad en los almidones (Sevenou y col., 2002; Millan-Testa y col., 2005). En todos los almidones aislados, sin importar el método de aislamiento y estado de madurez del fruto, se obtuvo un valor de 0.69 al relacionar la intensidad de las absorbancias en  $1047/1022\text{ cm}^{-1}$  (Fig. 6c), de tal forma que no existieron cambios en la cristalinidad de los almidones estudiados en el corto rango molecular. Por otra parte, la relación de las absorbancias  $1022/995\text{ cm}^{-1}$  (Fig. 6c) para los almidones obtenidos a partir de 60 y 90 DDPF con el método ST fue de 0.94 y 0.96, respectivamente. Mientras que para el método de aislamiento SN la relación de las absorbancias  $1022/995\text{ cm}^{-1}$  para almidón aislado de manzanas a los 60 y 90 DDPF fue 0.93 y 0.91, respectivamente, los cuales fueron muy similares en un mismo estado de madurez, por lo cual no existieron variaciones en el ordenamiento estructural de la región externa de los gránulos (Millan-Testa y col., 2005). Los resultados anteriores evidenciaron que no se presentaron cambios en el ordenamiento estructural de los almidones aislados, estos resultados se encuentran respaldados por los estudios de difracción de rayos X.

## Conclusiones

El método de aislamiento y el estado de madurez de los frutos provocaron variaciones en el rendimiento y propiedades fisicoquímicas, térmicas y reológicas de los almidones aislados a partir de manzanas inmaduras. El método SN proporcionó el mayor rendimiento cuando se utilizaron frutos de mayor madurez (90 DDPF). La pureza de los almidones no varió con el método de aislamiento y el estado de madurez del fruto. El tamaño de los gránulos fue de 2 a  $10\text{ }\mu\text{m}$ , su morfología y estructura no fue influenciada por el método de aislamiento, lo cual se corroboró con los estudios de difracción de rayos X y FTIR. Todos los almidones presentaron patrones de difracción de rayos X tipo C (combinación entre A y B), lo que influyó en las propiedades térmicas de los almidones. La viscosidad aparente no varió con el método de aislamiento; sin embargo, se incrementó cuando se utilizaron frutos con mayor madurez. Un comportamiento similar se observó en el módulo de almacenamiento ( $G'$ ), el cual incrementó con el calentamiento durante la gelatinización de los almidones. En general, se puede decir que las manzanas inmaduras son una fuente alternativa de almidón con propiedades fisicoquímicas, estructurales y funcionales específicas con gran potencial de aplicación en la industria de alimentos.

## Agradecimientos

JMTG agradece el apoyo al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para cursar el Doctorado en Ciencia de los Alimentos dentro del Programa de Doctorado del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), A. C.

## Referencias

- Abegunde, O. K., Mu, T.-H., Chen, J.-W. y Deng, F.-M. (2013). Physicochemical characterization of sweet potato starches popularly used in Chinese starch industry. *Food Hydrocolloids* 33, 169-177.
- Agama-Acevedo, E., Bello-Pérez, L., Pacheco-Vargas, G. y Evangelista-Lozano, S. (2015). Estructura interna de los gránulos de almidón de plátano mediante gelatinización química superficial: propiedades morfológicas,

- fisicoquímicas y moleculares. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14, 73-80.
- Amaya-Llano, S. L., Martínez-Bustos, F., Alegría, A. L. M. y de Jesús Zazueta-Morales, J. (2011). Comparative studies on some physico-chemical, thermal, morphological, and pasting properties of acid-thinned jicama and maize starches. *Food and Bioprocess Technology* 4, 48-60.
- AOAC (2002). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemist, Gaithersburg, MA, EUA.
- Bello-Pérez, L. A., Aparicio-Saguilán, A., MÉNdez-Montealvo, G., Solorza-Feria, J. y Flores-Huicochea, E. (2005). Isolation and Partial Characterization of Mango (*Mangifera indica* L.) Starch: Morphological, Physicochemical and Functional Studies. *Plant Foods for Human Nutrition* 60, 7-12.
- Berski, W., Ptaszek, A., Ptaszek, P., Ziobro, R., Kowalski, G., Grzesik, M. y Achremowicz, B. (2011). Pasting and rheological properties of oat starch and its derivatives. *Carbohydrate Polymers* 83, 665-671.
- Bertolini, A. C. (2010). Trends in starch applications. En: *Starches: characterization, properties, and applications*, (A. C. Bertolini ed.), Pp. 1-20. Taylor and Francis Group, LLC.
- Brookfield, P., Murphy, P., Harker, R. y MacRae, E. (1997). Starch degradation and starch pattern indices; interpretation and relationship to maturity. *Postharvest Biology and Technology* 11, 23-30.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V. y Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules* 23, 85-112.
- Correia, P. R. y Beirão-da-Costa, M. L. (2010). Chestnut and acorn starch properties affected by isolation methods. *Starch/Stärke* 62, 421-428.
- Correia, P. R., Nunes, M. C. y Beirão-da-Costa, M. L. (2012). The effect of starch isolation method on physical and functional properties of Portuguese nuts starches. I. Chestnuts (*Castanea sativa* Mill. var. Martinha and Longal) fruits. *Food Hydrocolloids* 27, 256-263.
- Cruz, B. R., Abraão, A. S. Lemos, A. M. y Nunes, F. M. (2013). Chemical composition and functional properties of native chestnut starch (*Castanea sativa* Mill). *Carbohydrate Polymers* 94, 594-602.
- Das, D., Jha, S. y Kumar, K. J. (2015). Isolation and release characteristics of starch from the rhizome of Indian Palo. *International Journal of Biological Macromolecules* 72, 341-346.
- de la Torre-Gutiérrez, L., Chel-Guerrero, L. A. y Betancur-Ancona, D. (2008). Functional properties of square banana (*Musa balbisiana*) starch. *Food Chemistry* 106, 1138-1144.
- Estrada-Girón, Y., Aguilar, J., Morales-del Rio, J. A., Valencia-Botín, A. J., Guerrero-Beltrán, J. A., Martínez-Preciado, A. H., Macías, E. R., Soltero, J. F. A., Solorza-Feria, J. y Fernández, V. V. A. (2014). Effect of moisture content and temperature, on the rheological, microstructural and thermal properties of masa (dough) from a hybrid corn (*Zea mays* sp.) variety. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 13, 429-446.
- García-Tejeda, Y. V., Zamudio-Flores, P. B., Pérez, L. A. B., Bastida, C. A. R. y Solorza-Feria, J. (2011). Oxidación del almidón nativo de plátano para su uso potencial en la fabricación de materiales de empaque biodegradables: caracterización física, química, térmica y morfológica. *Revista Iberoamericana de Polímeros* 12, 125-135.
- González-Portillo, M., Rocha-Guzmán, N., Simpson, J., Rodríguez-Guerra, R., Gallegos-Infante, J., Delgado, E. y Gil-Vega, K. (2008). Determination of some apple (starking and golden delicious) quality attributes in comparison with their mutants and their relationship with chilling units. *CYTA-Journal of Food* 6, 27-32.
- Goñi, I., Garcia-Alonso, A. y Saura-Calixto, F. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research* 17, 427-437.
- Goñi, O., Escribano, M. I. y Merodio, C. (2008). Gelatinization and retrogradation of native starch from cherimoya fruit during ripening, using differential scanning calorimetry. *LWT - Food Science and Technology* 41, 303-310.

- Hsu, S., Lu, S. y Huang, C. (2000). Viscoelastic changes of rice starch suspensions during gelatinization. *Journal of Food Science* 65, 215-220.
- Iglesias, I., Carbó, J., Bonany, J. y Montserrat, R. (2009). Innovación varietal en manzano. *Revista de Fruticultura*, 13-25.
- Iglesias, I., Carbó, J., Nonany, J., Dalmau, R., Guanter, G., Montserrat, R., Moreno, A. y Pagès, J. M. (2001). Principales cultivares de manzana en el ámbito nacional (y II). *Vida Rural* 8, 46-48.
- Jayakody, L., Hoover, R., Liu, Q. y Weber, E. (2005). Studies on tuber and root starches. I. Structure and physicochemical properties of inula (*Solenostemon rotundifolius*) starches grown in Sri Lanka. *Food Research International* 38, 615-629.
- Jiang, Q., Gao, W., Li, X. y Zhang, J. (2011). Characteristics of native and enzymatically hydrolyzed *Zea mays* L., *Fritillaria ussuriensis* Maxim. and *Dioscorea opposita* Thunb. starches. *Food Hydrocolloids* 25, 521-528.
- Jiménez, A., Fabra, M. J., Talens, P. y Chiralt, A. (2012). Edible and biodegradable starch films: A review. *Food and Bioprocess Technology* 5, 2058-2076.
- Kilili, A. W., Behboudian, M. H. y Mills, T. M. (1996). Composition and quality of 'Braeburn' apples under reduced irrigation. *Scientia Horticulturae* 67, 1-11.
- Kovács, E. y Eads, T. M. (1999). Morphologic changes of starch granules in the apple cv. Mutsu during ripening and storage. *Scanning* 21, 326-333.
- Li, W., Xiao, X., Zhang, W., Zheng, J., Luo, Q., Ouyang, S. y Zhang, G. (2014). Compositional, morphological, structural and physicochemical properties of starches from seven naked barley cultivars grown in China. *Food Research International* 58, 7-14.
- Liu, Q. (2005). Understanding starches and their role in foods. En: *Food carbohydrates: Chemistry, physical properties and applications*, (S. W. Cui ed.), Pp. 309-355. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Liu, T. Y., Ma, Y., Yu, S. F., Shi, J. y Xue, S. (2011). The effect of ball milling treatment on structure and porosity of maize starch granule. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 12, 586-593.
- Mano, J. F., Koniarova, D. y Reis, R. L. (2003). Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blends with potential biomedical applicability. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 14, 127-135.
- Martínez-Bustos, F., López-Soto, M., San Martín-Martínez, E., Zazueta-Morales, J. J. y Velez-Medina, J. J. (2007). Effects of high energy milling on some functional properties of jicama starch (*Pachyrrhizus erosus* L. Urban) and cassava starch (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Food Engineering* 78, 1212-1220.
- Méndez-Montealvo, G., Rodríguez-Ambriz, S. y Bello-Pérez, L. (2015). Structural features of banana starches using HPSEC-MALLS-RI. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14, 293-302.
- Millan-Testa, C. E., Mendez-Montealvo, M. G., Ottenhof, M. A., Farhat, I. A. y Bello-Pérez, L. A. (2005). Determination of the molecular and structural characteristics of okenia, mango, and banana starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 495-501.
- Molina-Delgado, D., Larrigaudière, C. y Recasens, I. (2009). Antioxidant activity determines on-tree maturation in 'Golden Smoothie' apples. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89, 1207-1212.
- Núñez-Santiago, M. C., Bello-Pérez, L. A. y Tecante, A. (2004). Swelling-solubility characteristics, granule size distribution and rheological behavior of banana (*Musa paradisiaca*) starch. *Carbohydrate Polymers* 56, 65-75.
- Olguín-Arteaga, G. M., Amador-Hernández, M., Guzmán, A. Q., Díaz-Sánchez, F., Sánchez-Ortega, I., Castañeda-Ovando, A., Avila-Pozos, R. y Santos-López, E. M. (2015). Correlación de entalpías de gelatinización con los índices de absorción de agua y de sólidos solubles en agua de sémolas, granillos y harinas de maíz nixtamalizado. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14, 303-310.

- Ovando-Martínez, M., Bello-Pérez, L. A., Whitney, K., Osorio-Díaz, P. y Simsek, S. (2011). Starch characteristics of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in different localities. *Carbohydrate Polymers* 85, 54-64.
- Paredes-López, O., Bello-Pérez, L. A. y López, M. G. (1994). Amylopectin: Structural, gelatinisation and retrogradation studies. *Food Chemistry* 50, 411-417.
- Pascoal, A. M., Di-Medeiros, M. C. B., Batista, K. A., Leles, M. I. G., Lião, L. M. y Fernandes, K. F. (2013). Extraction and chemical characterization of starch from *S. lycocarpum* fruits. *Carbohydrate Polymers* 98, 1304-1310.
- Pelissari, F. M., Andrade-Mahecha, M. M., Sobral, P. J. d. A. y Menegalli, F. C. (2012). Isolation and characterization of the flour and starch of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). *Starch/Stärke* 64, 382-391.
- Ramírez-Hernández, A., Valera-Zaragoza, M., Aparicio-Saguilán, A. y Conde-Acevedo, J. C. (2015). Comportamiento térmico de películas de almidón de plátano con poli (etileno tereftalato) degradado. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14, 513-521.
- Rutkowski, K. P., Michalczuk, B. y Konopacki, P. (2008). Nondestructive determination of 'Golden Delicious' apple quality and harvest maturity. *Journal of Fruit Ornament and Plant Research* 16, 39-52.
- Salas, N. A., Molina-Corral, F. J., González-Aguilar, G. A., Otero, A., Sepulveda, D. R. y Olivas, G. I. (2011). Volatile production by 'Golden Delicious' apples is affected by preharvest application of aminoethoxyvinylglycine. *Scientia Horticulturae* 130, 436-444.
- Sánchez-Rivera, M. M., Almanza-Benitez, S., Bello-Pérez, L. A., Mendez-Montealvo, G., Núñez-Santiago, M. C., Rodríguez-Ambriz, S. L. y Gutiérrez-Meráz, F. (2013). Acetylation of banana (*Musa paradisiaca* L.) and corn (*Zea mays* L.) starches using a microwave heating procedure and iodine as catalyst: II. Rheological and structural studies. *Carbohydrate Polymers* 92, 1256-1261.
- Sandhu, K. S. y Lim, S.-T. (2008). Structural characteristics and in vitro digestibility of Mango kernel starches (*Mangifera indica* L.). *Food Chemistry* 107, 92-97.
- Sevenou, O., Hill, S. E., Farhat, I. A. y 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.
- Shrestha, A. K., Ng, C. S., Lopez-Rubio, A., Blazek, J., Gilbert, E. P. y Gidley, M. J. (2010). Enzyme resistance and structural organization in extruded high amylose maize starch. *Carbohydrate Polymers* 80, 699-710.
- SIAP. 2015. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: [www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/](http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/). Accesado: 14 junio 2015.
- Singh, J., McCarthy, O. J., Singh, H., Moughan, P. J. y Kaur, L. (2007). Morphological, thermal and rheological characterization of starch isolated from New Zealand Kamo Kamo (*Cucurbita pepo*) fruit - A novel source. *Carbohydrate Polymers* 67, 233-244.
- Singh, N., Inouchi, N. y Nishinari, K. (2005). Morphological, structural, thermal, and rheological characteristics of starches separated from apples of different cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 10193-10199.
- Smits, A. L. M., Ruhnau, F. C., Vliegthart, J. F. G. y van Soest, J. J. G. (1998). Ageing of Starch Based Systems as Observed with FT-IR and Solid State NMR Spectroscopy. *Starch/Stärke* 50, 478-483.
- Soni, P. L., Sharma, H., Dun, D. y Gharia, M. M. (1993). Physicochemical Properties of *Quercus leucotrichophora* (Oak) Starch. *Starch/Stärke* 45, 127-130.
- Stevenson, D. G., Domoto, P. A. y Jane, J.-I. (2006a). Structures and functional properties of apple (*Malus domestica* Borkh) fruit starch. *Carbohydrate Polymers* 63, 432-441.
- Stevenson, D. G., Johnson, S. R., Jane, J.-I. y Inglett, G. E. (2006b). Chemical and physical properties of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) starch. *Starch/Stärke* 58, 323-329.

- Szymanska-Chargot, M., Adamiak, A. y Zdunek, A. (2012). Pre-harvest monitoring of apple fruits development with the use of biospeckle method. *Scientia Horticulturae* 145, 23-28.
- Tsai, M.-L., Li, C.-F. y Lii, C.-Y. (1997). Effects of granular structures on the pasting behaviors of starches. *Cereal Chemistry* 74, 750-757.
- van Soest, J. J. G., Tournois, H., de Wit, D. y 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.
- Villarreal, M. E, Ribotta, P. D. y Iturriaga, L. B. (2013). Comparing methods for extracting amaranthus starch and the properties of the isolated starches. *LWT - Food Science and Technology* 51, 441-447.
- Villatoro, C., Altisent, R., Echeverría, G., Graell, J., López, M. L. y Lara, I. (2008). Changes in biosynthesis of aroma volatile compounds during on-tree maturation of 'Pink Lady®' apples. *Postharvest Biology and Technology* 47, 286-295.
- Whale, S. K. y Singh, Z. (2007). Endogenous ethylene and color development in the skin of 'Pink Lady' apple. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 132, 20-28.
- Wiącek, A. E. (2015). Effect of surface modification on starch biopolymer wettability. *Food Hydrocolloids* 48, 228-237.
- Yu, X., van de Voort, F. R., Li, Z. y Yue, T. (2007). Proximate composition of the apple seed and characterization of its oil. *International Journal of Food Engineering* 3.
- Yuliana, M., Huynh, L.-H., Ho, Q.-P., Truong, C.-T. y Ju, Y.-H. (2012). Defatted cashew nut shell starch as renewable polymeric material: Isolation and characterization. *Carbohydrate Polymers* 87, 2576-2581.
- Zamudio-Flores, P., Tirado-Gallegos, J., Monter-Miranda, J., Aparicio-Saguilán, A., Torruco-Uco, J., Salgado-Delgado, R. y Bello-Pérez, L. (2015). Digestibilidad in vitro y propiedades térmicas, morfológicas y funcionales de harinas y almidones de avenas de diferentes variedades. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14, 81-97.
- Zhong, F., Li, Y., Ibáñez, A. M., Oh, M. H., McKenzie, K. S. y Shoemaker, C. (2009). The effect of rice variety and starch isolation method on the pasting and rheological properties of rice starch pastes. *Food Hydrocolloids* 23, 406-414.
- Zhou, H., Wang, J., Fang, X., Sun, Y. y Dou, X. (2012). Physicochemical properties of new starches isolated from *Dioscorea opposita* Thunb. bulbils. *Starch/Stärke* 64, 290-296.