

# Caracterización morfológica del granulo de almidón nativo: Apariencia, forma, tamaño y su distribución

## Morphological Characterization of Native Starch Granule: Appearance, Shape, Size and its Distribution

Recibido 14 de septiembre de 2006, aprobado 2 de agosto de 2007.

### Jorge Alberto Medina

Ph.D. Director del Centro de Investigación en Procesamiento de Polímeros (CIPP), Profesor asociado, Departamento de Ingeniería Mecánica, Facultad de Ingeniería, Universidad de los Andes. Bogotá D.C., Colombia.

### Juan Camilo Salas

Estudiante de Ingeniería Mecánica e Industrial. Asistente de pregrado de Ingeniería Mecánica del Centro de Investigación en Procesamiento de Polímeros (CIPP), Facultad de Ingeniería, Universidad de los Andes, Bogotá D.C., Colombia.  
j-salas1@uniandes.edu.co ✉

#### PALABRAS CLAVES

Almidón, morfología, microscopía óptica, plásticos biodegradables.

#### KEY WORDS

Starch, morphology, Light microscopy, biodegradable plastics.

#### RESUMEN

El tamaño y la naturaleza de los gránulos de almidón nativo influyen en su procesabilidad como termoplástico. Estas características dependen de prácticas y latitudes de cultivo. Mediante microscopía óptica se caracterizó morfológicamente el gránulo de almidones nacionales de maíz, yuca y papa. Se presentaron diferencias significativas de tamaño, forma y superficie. Se concluyó que el hilum se ubica centralmente en el gránulo de las dos primeras fuentes; en la tercera se ubica excéntricamente. El tamaño promedio granular de almidón de maíz coincide con otros autores; en la papa difiere. La distribución de tamaño en la yuca y maíz concuerdan con experiencias previas.

#### ABSTRACT

Size and nature of native starch granules influence in its processability as thermoplastic. These characteristics depend upon culture practices and world location. Through light microscopy, the native national corn, cassava and potato starch granule was morphologically characterized. There were significant differences in size, shape and surface. It was concluded that hilum is preferentially located in the center of granule for first and second sources. In the third is located eccentrically. The corn starch median granular size was in agreement with other authors; in potato, it differs. Size distribution in cassava and corn agree with previous experiences.

## INTRODUCCIÓN

Los problemas de desechos sólidos plásticos, así como la escalada en precios y la venidera escasez del petróleo, fuente de resinas poliméricas tradicionales, hace necesario la búsqueda de nuevas alternativas poliméricas de origen biológico. El almidón de diversas fuentes agrícolas procesado como polímero termoplástico (TPS por sus siglas en inglés) puede llegar a ser una forma parcial de solucionar dichos inconvenientes, por su abundancia, bajo costo y carácter renovable [1, 2, 3, 4].

El almidón es parte de los carbohidratos o polisacáridos que, junto con los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos, constituyen las cuatro clases principales de moléculas biológicamente activas [5]. Dicha macromolécula está compuesta de dos polímeros de unidades de glucosa: amilosa, de carácter esencialmente lineal, y la amilopectina, altamente ramificada y de mayor peso molecular [4]. Están organizadas en un gránulo insoluble en agua a temperatura ambiente y en la mayoría de solventes orgánicos, que se caracteriza por un núcleo (hilum) alrededor del cual se ubican las cadenas poliméricas de manera radial [6]. El gránulo de almidón y su tamaño son determinantes en su procesabilidad, lo cual afecta la solubilidad (en medio plastificante) y el poder de hinchamiento granular (que facilita la liberación de cadenas poliméricas solubles para formación de una única fase amorfa coherente) [2, 4, 7]. El hinchamiento granular y la liberación de material soluble comienza en el hilum del gránulo de almidón y rápidamente se extiende a la periferia [7].

Como todo material, las propiedades físico-químicas y funcionales del almidón y sus productos dependen de su naturaleza, morfología y estructura [8, 9, 10]. Por lo tanto, resulta relevante caracterizar morfológicamente almidones disponibles en Colombia, para la evaluación de esta macromolécula como materia prima para la industria plástica. Anteriormente se han reportado características morfológicas de los almidones de diversas fuentes: maíz, arroz, trigo y papa [7]; plantas medicinales de la especie china *Fritillaria* [11];

yuca [12]; todos con diferencias morfológicas y físico-químicas considerables. El presente trabajo contrasta los resultados con los obtenidos en reportes anteriores y busca establecer particularidades en las fuentes propias, ya que las propiedades morfológicas de los almidones de diferentes fuentes varían con el genotipo y con las prácticas de cultivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### ALMIDONES

Como garantía de la calidad y competitividad de todo proceso productivo, se busca que las materias primas sean disponibles y homogéneas. Por lo tanto, el almidón de yuca fue obtenido comercialmente de la marca Maizena, *Yucarina*; el almidón de maíz se obtuvo de Disproalquímicos y el almidón de papa se obtuvo en la distribuidora de productos alimenticios Canaguaro. Todos los almidones se sometieron al mismo ambiente hasta asegurar el alcance de las condiciones de equilibrio del laboratorio.

### MICROSCOPIA ÓPTICA

Para la caracterización micrográfica se empleó un microscopio óptico Nikon Labophot-Pol con una cámara digital Canon PowerShot A620 de 7.1 megapíxeles.

Se prepararon suspensiones de almidón en exceso de agua. Cada una se llevó a un portaobjetos, cubierto por otro, y enseguida, al microscopio [10]. Para los tres almidones se probaron concentraciones almidón/agua de 1/20, 1/50, 1/75, 1/100 y 1/150 en peso y se agitaron las soluciones durante 15 minutos con un mezclador magnético a 300 rpm a temperatura ambiente (Data Plate Stirrer). Las imágenes se tomaron a 400 y 1000 aumentos.

### DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE GRÁNULO Y MORFOLOGÍA

En gránulos equiaxiales los tamaños se aproximaron a diámetros; en los no equiaxiales, los tamaños corresponden a la más larga distancia entre fronteras de gránulo. Las mediciones de los tamaños y las características

terísticas morfológicas de los gránulos se obtuvieron mediante el software *Image Tool V 2.0*. Los análisis estadísticos de las distribuciones de tamaño y sus promedios se realizaron con el paquete *Minitab 14* (prueba Anderson-Darling, A.D) y se corroboraron mediante el software *Arena V. 8.0* (Kolmogorov-Smirnov, K-S, y Chi-Cuadrado, C-C).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### GRÁNULO E HILUM

Son evidentes las diferencias en las formas y apariencias de los gránulos al ser observados en el microscopio óptico. En las Figuras 1, 2 y 3 se ilustran las micrografías obtenidas para el gránulo de almidón de maíz, yuca y papa, respectivamente.

#### *Maíz*

Las formas son aproximadamente irregulares, poligonales en el plano y se asumen poliédricas irregulares en el espacio. Esto se confirma de otras referencias por visualización en SEM [13]. La superficie de los gránulos presenta apariencia rugosa.

La ubicación del hilum es concéntrica, lo cual revela un crecimiento de gránulo equi-radial con las imperfecciones poliédricas mencionadas; su forma es mixta: para algunos gránulos es una línea (con estrías que la aproximan a una cruz) y para otros, simplemente, puntos centrales (con estrías que parecieran un asterisco). Estas características se evidencian en la Figura 1a.

Ahondando en las estrías, Baker, Miles y Helbert [13] muestran resultados similares más precisos, mediante microscopía de fuerza atómica, que revelan grietas o estrías radiales en el hilum puntual y en el lineal de almidón de maíz.

Observando las imágenes, de acuerdo al tamaño de gránulo se desarrolla un tipo de hilum: para gránulo pequeño es aproximadamente un punto concéntrico, mientras que para los gránulos de mayor tamaño es común el hilum lineal central. Como consecuencia, la forma de los gránulos pequeños es muy cercana a

la circular y la superficie es más suave; contrario a lo que ocurre en los gránulos de hilum lineal, los más grandes, que tienden a ser más irregulares.

#### *Yuca*

La forma general del gránulo de almidón nativo de yuca se aproxima a elipses y/o esferas, en ocasiones truncadas, como si hubiese recibido cortes en direcciones aleatorias, en sólo uno de sus extremos. Aunque existen formas irregulares, son menos apreciables que las que se presentan en las micrografías del almidón de maíz. Tales características se han constado vía SEM [12].

El hilum se establece también de manera concéntrica, como se aprecia en la Figura 2b; el crecimiento del gránulo igualmente es equi-radial. A diferencia del maíz, el tamaño no se relaciona con diferentes tipos de hilum; es mayoritario el tipo puntual.

#### *Papa*

Las diferencias morfológicas entre almidones de papa son mayores que entre cultivos de cualquier otra fuente botánica, dependiendo de las prácticas agrícolas [7, 14]. Contrario a lo reportado por Mishra y Rai [9], quienes afirman que la forma de los gránulos de almidón de papa es elíptica, las imágenes logradas (Figura 3) revelan formas circulares para los tamaños pequeños y elípticas para los tamaños grandes.

Las superficies son suaves y homogéneas; imágenes de microscopía electrónica de barrido arrojan la misma conclusión, con superficies menos accidentadas que las dos fuentes agrícolas previas [2, 7, 14]. Similar a lo que ocurría con los gránulos de almidón de yuca, se ven para la papa algunas geometrías truncadas con cortes en sus extremos, aunque con menor frecuencia.

El hilum se ubica en el centro para gránulos pequeños y es excéntrico para gránulos grandes elípticos. Al igual que en la yuca, éste es de geometría preferencialmente puntual, incluso en gránulos grandes. Con alguna frecuencia se observan formas de asteriscos. La preponderancia de hilum puntuales se asocia a gránulos de formas más regulares que los obtenidos de yuca y más aún que los de maíz.

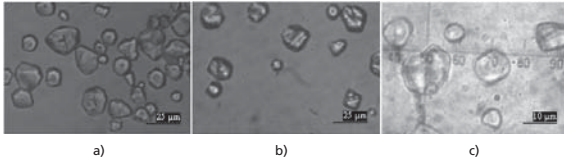


Figura 1. Micrografías del almidón de maíz. a) x400; b) x400; c) x1000.

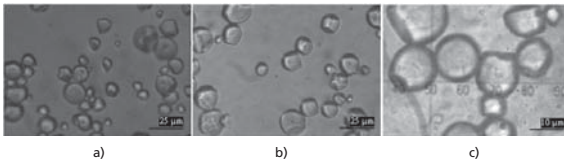


Figura 2. Micrografías del almidón de yuca. a) x400; b) x400; c) x1000.

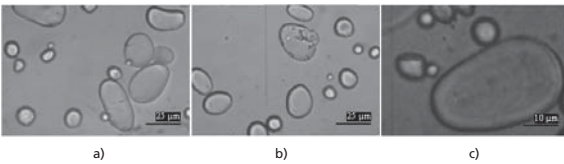


Figura 3. Micrografías del almidón de papa. a) x400; b) x400; c) x1000.

Los anillos de crecimiento alrededor del hilum son particularmente notables en el caso de los gránulos elípticos (Figura 3.c), frente a los gránulos pequeños de la papa y los de las otras fuentes. Confieren al gránulo un aspecto de concha de ostra y coinciden con lo reportado en estudios de caracterización anteriores [9].

DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE GRÁNULO

Se muestra a continuación las distribuciones obtenidas mediante el procedimiento computacional, al emplear las pruebas de bondad de ajuste mencionadas.

Maíz

*Arena* ajusta los datos de tamaño granular a una distribución Weibull. Sin embargo, si se prueba una distribución normal y se toma un nivel de significancia  $\alpha$  menor a 0.15, no se rechaza la hipótesis de ajuste a dicha distribución con la prueba K-S. Aunque no se aceptaría por la prueba C-C, no se rechaza, por conveniencia, que el tamaño de gránulo de almidón de maíz se establezca como una variable aleatoria continua normal, con media  $12.7 \mu\text{m}$  y desviación estándar de  $5.61 \mu\text{m}$ . La Figura 4 muestra el histograma de los datos.

Yuca

La distribución probabilística que mejor se ajusta es la Beta: el valor  $p$  para la prueba C-C es 0.023. Con la prueba K-S, se acepta el ajuste Beta ( $p > 0.15$ ).

Si se busca ajuste a la distribución normal al tamaño granular de almidón de yuca, con la C-C de nuevo se rechaza dicha acción, pero con la prueba K-S no se descarta la hipótesis de distribución normal ( $p \approx 0.15$ ). Igualmente, Srirath et al. [12] acogieron la distribución normal para el tamaño granular del almidón de yuca.

En conclusión, no se rechaza la normal como la distribución aproximada para el tamaño de gránulo, con media  $10.4 \mu\text{m}$  y desviación estándar  $4.74 \mu\text{m}$ . La Figura 5 muestra el histograma de los tamaños.

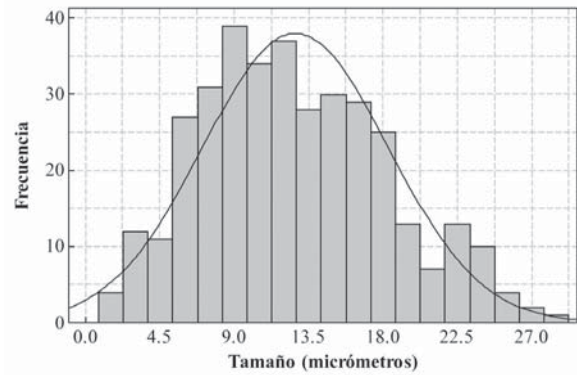


Figura 4. Distribución del tamaño de gránulo de almidón de maíz.

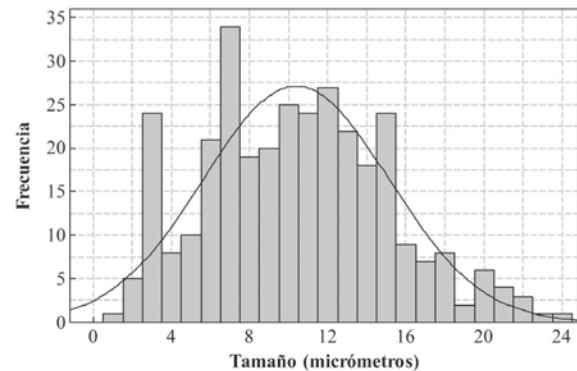


Figura 5. Distribución del tamaño de gránulo de almidón de yuca.

El histograma (Figura 6) cuenta con valores desde 2 hasta 66  $\mu\text{m}$ . Se dio como más conveniente una distribución, por la prueba A-D, del tipo Logo-logística de tres parámetros. Singh et al. [14] mostraron un comportamiento parecido para almidones de papa, en el que se ubicaba el pico de frecuencia de tamaños hacia el origen de la escala de tamaño granular.

Si se busca una distribución normal, hay evidencia estadística para rechazar también dicha distribución a la muestra ( $p < 0.05$ , C-C y K-S). Sin embargo, la media poblacional es de 15.2  $\mu\text{m}$  y desviación estándar de 10.6  $\mu\text{m}$ ; hecho que muestra que la variabilidad de los tamaños de gránulo en la papa es grande respecto a las dos anteriores fuentes (5.62 y 4.74  $\mu\text{m}$ ), confirmada también en su intervalo de valores (2 a 66  $\mu\text{m}$ ).

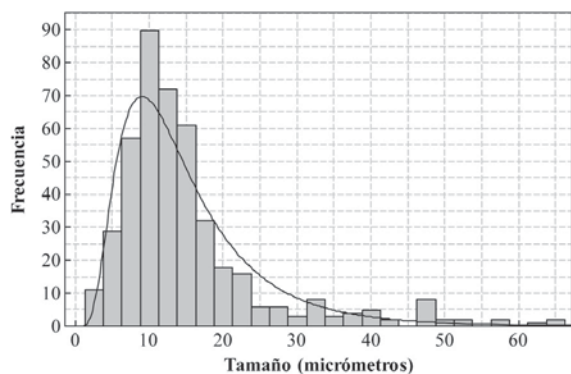


Figura 6. Distribución del tamaño de gránulo de almidón de papa.

#### COMPARACIÓN

Para el almidón de maíz la forma perimetral de los gránulos difiere: polígonos irregulares para los gránulos grandes y circulares para gránulos pequeños. Para

el almidón de yuca se hallan formas elípticas y/o circulares truncadas más regulares, similares para todo su espectro de dimensiones; en la papa, los tamaños pequeños corresponden a formas más circulares, mientras que en los tamaños grandes son normales las formas elípticas y en ocasiones irregulares.

Mediante la inspección microscópica es claro que la superficie granular del almidón de maíz, yuca y papa difieren, pues es más accidentada para la primera de las fuentes (hecho confirmado por la microscopía electrónica mencionada previamente) y son más suaves las superficies provenientes de la papa.

La forma del hilum parece casi invariable con el tamaño del gránulo de almidón de yuca, mientras que para el maíz tanto ésta como la forma granular cambian con el tamaño de gránulo. Los dos coinciden en la posición general del hilum, en ubicación concéntrica, independiente del tamaño relativo de cada uno de los gránulos de las dos fuentes botánicas, contrario al almidón de papa, mayoritariamente puntual y con ubicación excéntrica para tamaños grandes.

Se recuerda que las variaciones en tamaño y forma de los gránulos de almidón pueden ser atribuibles al origen biológico, a las prácticas de cultivo, a la bioquímica del cloroplasto o amiloplasta y a la fisiología de la planta [2, 7, 9, 11].

La tabla 1 recoge los resultados de la distribución en términos de porcentajes de gránulos pequeños, medianos y grandes. Una tabla similar a ésta es empleada por Singh et al. [14] para la caracterización morfológica de almidones de papa neo-zelandesa.

	Pequeños 1 a 7,5 $\mu\text{m}$	Medianos 7,5 a 15 $\mu\text{m}$	Grandes > 15 $\mu\text{m}$	Tamaño promedio	Desviación estándar	Tamaño mínimo	Tamaño máximo	Volumen promedio
	%	%	%	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}^3$ )
Maíz	17,37	48,18	34,45	12,69	5,62	1,72	29,15	1069,04
Yuca	31,89	52,63	15,48	10,38	4,74	1,47	23,91	558,15
Papa	15,91	49,55	34,55	15,22	10,61	2,02	65,94	1846,97

Tabla 1. Propiedades morfológicas de los almidones de las fuentes estudiadas: maíz, yuca y papa. Se calcula del volumen promedio de los gránulos de almidón con el diámetro promedio, aproximando su geometría a esferas.

Los tamaños promedio de los gránulos de almidón de yuca y maíz son cercanos, lo cual se ratifica por inspección y por la literatura:  $15\ \mu\text{m}$  para la yuca [12] y  $12.2\ \mu\text{m}$  para el maíz [9]. De todos modos, se han hallado valores entre  $8$  y  $22\ \mu\text{m}$  para el gránulo de almidón de yuca [12] y para el de maíz entre  $1$  y  $7\ \mu\text{m}$  para gránulo pequeño y  $15$  y  $25\ \mu\text{m}$  para gránulo grande [6, 7]. En su lugar, el gránulo de papa alcanza tamaños mayores, con sus particulares gránulos elípticos; se han reportado valores de  $1$  a  $20\ \mu\text{m}$  para gránulo pequeño y de  $20$  a  $110\ \mu\text{m}$  para gránulo grande [7], como ocurre en el caso presente. Nótese que el rango que es considerado gránulo pequeño en el almidón de papa cubre la mayor parte del rango grande de los tamaños de las otras dos fuentes. Resulta interesante para trabajos experimentales posteriores buscar relación con otras características físico-químicas importantes para proceso y propiedades de productos plásticos: contenido de amilosa y grupos químicos, solubilidad y poder de hinchamiento granular.

Con las muestras independientes de tamaño granular de almidón de maíz, yuca y papa se realiza una prueba de hipótesis de igualdad de medias (ANOVA) de tamaño entre las fuentes botánicas. La prueba realizada en *Minitab 14* arroja  $p < 0.01$ , lo que revela que hay diferencia entre los tamaños granulares promedio.

Para la jerarquía estadística se realizan intervalos de confianza de la diferencia de medias. Con  $\alpha$  entre  $1$  y  $10\%$ , la diferencia entre la media poblacional de tamaño de gránulo de almidón de maíz y la de yuca es positiva, se encuentra por ejemplo ( $\alpha = 5\%$ ) en el intervalo ( $1.53$ ;  $3.09$ ). Realizando la misma operación para la diferencia entre el tamaño granular de almidón de papa y maíz resulta la diferencia ( $1.38$ ;  $3.69$ ). Hay evidencia estadística para afirmar que el promedio del tamaño granular amiláceo de la papa es mayor al del maíz y, por tanto, al de la yuca. La Figura 7 reúne información de la medias de tamaño para las fuentes ( $\alpha = 5\%$ ).

Retomando la Tabla 1, las afirmaciones estadísticas quedan sustentadas si se ve, además del porcentaje de

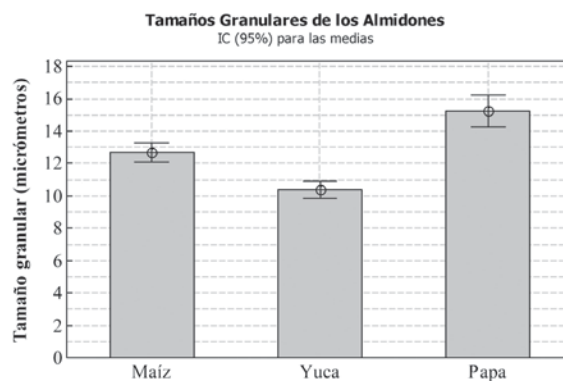


Figura 7. Magnitud e incertidumbre de los tamaños granulares de los almidones.

gránulos en tamaño grande, el tamaño máximo hallado para las tres fuentes y su volumen aproximado. Recuérdese también que se ha reportado el promedio de tamaño granular de la papa en  $30.5\ \mu\text{m}$  [9],  $30$ - $40\ \mu\text{m}$  [14],  $20$  a  $110\ \mu\text{m}$  [7] y  $15$  a  $50\ \mu\text{m}$  [6]. Se cuenta así con el escalafón estadístico de tamaño promedio de gránulo de almidón de las fuentes estudiadas, que será una base para posteriores análisis y comparaciones experimentales entre las tres fuentes.

## CONCLUSIÓN

La apariencia granular del almidón varía notablemente de una fuente a otra, lo que, según la literatura, ocasiona que las propiedades físico-químicas y funcionales de cada materia prima difieran. Se lograron establecer afinidades y contrastes con algunos de los reportes anteriores: coincidencia en tamaño granular promedio en almidón de maíz y distribuciones en los de maíz y yuca; divergencia en tamaño promedio en el de papa. Este estudio microscópico de forma y tamaño, relacionado con otras propiedades, puede sentar base a la comparación y afirmaciones de selección de almidón(es) para la elaboración de productos plásticos.

Respecto a productos amiláceos terminados, es posible identificar en éstos la presencia de gránulos nativos que actúan negativamente como alteradores de la fase amorfa coherente, lo que hace que se tomen medidas correctivas en los procesos de manufactura

para lograr su total desaparición: mayor adición de plastificante, aumento de energía mecánica de entrada, tasa de corte, temperatura, entre otras variables de los procesos de transformación de polímeros.

Es destacable que los tres tipos de almidón estudiados morfológicamente son de disponibilidad regional en Colombia. El empleo industrial de dichas materias primas agrícolas puede ser una forma de incentivar el desarrollo agrícola e industrial de las regiones. Así pues, Colombia tiene oportunidades en el área de polímeros biodegradables y pero para su desarrollo es clave la caracterización de los almidones.

#### REFERENCIAS

- [1] **D. Lourdin, G. Della Valle and P. Colonna.**  
“Influence of amylose content on starch films and foams”. *Carbohydrate polymers*, No. 27, 1995, pp. 261 – 270.
- [2] **L. Kaur, N. Singh and N. Singh Sodhi.**  
“Some properties of potatoes and their starches II. Morphological, thermal and rheological properties of starches”. *Food Chemistry*, No. 79, 2002, pp. 183- 192.
- [3] **A. Sagar and E. Merrill.**  
“Starch fragmentation during extrusion processing”. *Polymer*, No. 36, 19951883-1886.
- [4] **J. G. Van Soest and F.G. Vliegenthart.**  
“Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties”. *Trends in biotechnology*, No. 15, 1997, pp. 208-213.
- [5] **P. Bailey y C.A. Bailey.**  
*Química orgánica: conceptos y aplicaciones*. Naucalpan de Juárez, México: Prentice Hall Hispanoamericana, 1998.
- [6] **C.D. Boyer and J.C. Shannon.**  
“Carbohydrates of the kerne”. *Corn: Chemistry and Technology*. A. Stanley Watson & E. Paul Ramstad (Eds.). St. Paul, Minnesota, EE.UU: American Association of Cereal Chemists, 1987, pp 254 – 271.
- [7] **N. Singh, J. Singh, L. Kaur, N. Singh Sodhi and B. Singh Gill.**  
“Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources”. *Food Chemistry*, No. 81, 2003, pp. 219-231.
- [8] **S. Mali, L.B. Karam, L. Pereira and M.V. Grossman.**  
“Relationships among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films”. *Journal of agricultural and food chemistry*, No. 52, 2004, pp. 7720 – 7725.
- [9] **S. Mishra and T. Rai.**  
“Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches”. *Food Hydrocolloids*, No. 20, 2006, pp. 557 – 566.
- [10] **B. Patel and K. Seetharaman.**  
“Effect of heating rate on starch granule morphology and size”. *Carbohydrate polymers* (in press).
- [11] **W. Shujun, G. Wenyuan, J. Wei and X. Peigen.**  
“Crystallography, morphology and thermal properties of starches from four different medicinal plants of *Fritillaria* species”. *Food Chemistry*, No. 96, 2006, pp. 591-596.
- [12] **K. Sriroth, V. Santisopasri, C. Petchalanuwat, K. Kurotjanawong, K. Piyachomkwan and C.G. Oates.**  
“Cassava starch granule structure-function properties: influence of time and conditions at harvest on four cultivars of cassava starch”. *Carbohydrate polymers*, No. 38, 1999, pp. 161-170.
- [13] **A. Baker, M. Miles and W. Helbert.**  
“Internal structure of the starch granule revealed by AFM”. *Carbohydrate research*, No. 330, 2001, pp. 249 – 256.
- [14] **J. Singh, O. McCarthy and H. Singh.**  
“Physico-chemical and morphological characteristics of New Zealand *Taewa* (Maori potato) starches”. *Carbohydrate polymers*, No. 64, 2006, pp. 569-581.