

# CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE ALMIDONES DOBLEMENTE MODIFICADOS DE PLÁTANO

## PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF DUALY-MODIFIED BANANA STARCH

P. Baruk Zamudio-Flores<sup>1</sup>, Apolonio Vargas-Torres<sup>1,2</sup>, Felipe Gutiérrez-Meraz<sup>1</sup>, Luis A. Bello-Pérez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN. Km 8.5, Carretera Yauatepec-Jojutla, Colonia San Isidro, 62731 Yauatepec, Morelos, México, (labellop@ipn.mx). <sup>2</sup>Instituto Tecnológico de Zacatepec. Posgrado-Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica. Calzada Tecnológico Número 27, 62780. Zacatepec, Morelos, México.

### RESUMEN

Dentro de las materias primas para elaborar plásticos biodegradables, el almidón tiene un alto potencial; sin embargo, éste debe ser modificado para mejorar sus propiedades de formación de película. En el presente estudio almidón aislado de plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) en estado fisiológico inmaduro fue modificado químicamente mediante una oxidación con NaOCl con tres concentraciones de cloro activo (0.5, 1.0 y 1.5 % v/v) y se acetiló usando anhídrido acético. Los almidones se caracterizaron química, física y térmicamente: cuantificación de grupos carbonilos, carboxilos y acetilos; análisis químico proximal; análisis de espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier; determinación de color; y análisis de variables térmicas mediante calorimetría diferencial de barrido. Los valores cuantificados de grupos funcionales carbonilos, carboxilos y acetilos corroboraron la efectividad de los tratamientos químicos, lo cual se verificó mediante el análisis de espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier. La modificación por oxidación redujo el contenido de proteínas, lípidos y cenizas. El parámetro L\* caracterizó el color de los almidones ya que fue una medida directa de su blancura. Este valor incrementó a medida que aumentó el nivel de oxidación, sin que la modificación por acetilación influyera significativamente en este parámetro. Los parámetros térmicos de temperatura de inicio, pico y final de gelatinización aumentaron cuando se incrementó la concentración de cloro activo, mientras que la entalpía de gelatinización disminuyó indicando una alteración estructural en los almidones modificados, lo cual se confirmó con el perfil amilográfico de estos almidones. Con la doble modificación química fue posible mejorar las propiedades físicas y químicas del almidón nativo de plátano.

### ABSTRACT

Among the raw materials used to make biodegradable plastics, starch has high potential; however, it must be modified to improve its film-forming properties. In this study, starch isolated from physiologically immature plantains (*Musa paradisiaca* L.) was modified chemically by oxidation with NaOCl with three concentrations of active chlorine (0.5, 1.0 and 1.5 % v/v) and acetylation using acetic anhydride. The starches were characterized chemically, physically, and thermally: quantification of carbonyl, carboxyl and acetyl groups; proximal chemical analysis; Fourier transform infrared spectroscopy; color determination; and analysis of thermal variables using differential scanning calorimetry. The values of quantified functional carbonyl, carboxyl and acetyl groups corroborated the effectiveness of the chemical treatments, which was verified by Fourier transform infrared spectroscopy. Modification by oxidation reduced the content of proteins, lipids and ash. The L\* parameter characterized starch color since it was a direct measure of its whiteness. This value increased with increasing levels of oxidation; modification by acetylation did not significantly affect this parameter. The thermal parameters initial, peak and final gelatinization temperatures increased when the active chlorine concentration increased, while gelatinization enthalpy decreased, indicating a structural alteration of the modified starches. This was confirmed by their amylographic profile. With dual chemical modification, it was possible to improve the physical and chemical properties of native plantain starch.

**Key words:** acetylation, starch, dual chemical modification, infrared spectroscopy, oxidation, thermal properties.

\* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: Febrero, 2009. Aprobado: Noviembre, 2009.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 44: 283-295. 2010.

**Palabras clave:** acetilación, almidón, doble modificación química, espectroscopía de infrarrojo, oxidación, propiedades térmicas.

## INTRODUCCIÓN

Debido al problema de contaminación ambiental generado por la disposición final de los polímeros sintéticos derivados del petróleo conocidos genéricamente como plásticos, hay gran interés en la utilización de materiales biodegradables, como el almidón, para sustituir plásticos convencionales como el polietileno y el poliestireno (García *et al.*, 2000). El gobierno del Distrito Federal publicó una iniciativa de ley con la cual dará incentivos fiscales a las empresas que utilicen materiales de empaque biodegradables en sus productos (SUN/Elgolfo.Info, 2008). El uso de almidones de fuentes no convencionales como el almidón aislado del plátano macho (*Musa paradisiaca* L.) ha cobrado gran interés, sobre todo en países como México donde se busca aprovechar mejor a este tipo de cultivo y darle un valor agregado. El almidón es un biopolímero en forma de gránulos, conformado por dos tipos de homopolisacáridos de glucosa: la amilosa (cuya estructura es esencialmente lineal conformada por enlaces  $\alpha$ -1,4) y la amilopectina (con una estructura ramificada debido a la presencia de enlaces  $\alpha$ -1,6 además de los enlaces  $\alpha$ -1,4). La presencia de amilosa otorga al almidón la capacidad de formación de película y el almidón de plátano macho contiene 35 % aproximadamente (Romero-Bastida *et al.*, 2005), el cual es alto. Por tanto, con este tipo de almidón se obtienen películas con adecuadas propiedades mecánicas.

Zamudio-Flores *et al.* (2006) reportaron que películas hechas con almidón de plátano oxidado mostraron mejores propiedades mecánicas que las películas elaboradas con almidón nativo. También aumentó la permeabilidad al vapor de agua debido al carácter hidrofílico de la película, causado por la formación de grupos carbonilos y carboxilos durante la oxidación del almidón. El carácter hidrofílico del almidón se puede reducir mediante una acetilación, lo cual aumenta el carácter hidrofóbico ya que se introducen grupos ester hidrofóbicos (Thomas y Atwell, 1999). Hay pocos reportes sobre las dobles modificaciones químicas como la oxidación y la acetilación en almidones. Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue realizar una doble modificación química al almidón de plátano macho mediante una oxidación y una

## INTRODUCTION

Because of environmental pollution caused by disposal of synthetic polymers derived from oil, known generically as plastics such as polyethylene and polystyrene, there is great interest in using biodegradable materials, such as starch, to substitute them (García *et al.*, 2000). The Government of México City published a proposal for a law that would grant incentives to enterprises that use biodegradable material to package their products (SUN/Elgolfo.Info, 2008). The use of starches from non-conventional sources, such as the starch isolated from plantain (*Musa paradisiaca* L.) has stirred much interest, especially in countries such as Mexico in search of better uses for the crop and the accompanying aggregate value. Starch is a granular biopolymer made up of two types of glucose homopolysaccharides: amylose (whose structure is essentially linear formed with  $\alpha$ -1,4 bonds) and amylopectin (with a ramified structure due to the presence of  $\alpha$ -1,6, as well as  $\alpha$ -1,4 bonds). The presence of amylose makes it possible for the starch to form a film; plantain starch contains approximately 35% amylose (Romero-Bastida *et al.*, 2005), which is considered high. With this type of starch, therefore, films with suitable mechanical properties are obtained.

Zamudio-Flores *et al.* (2006) reported that films made from oxidized plantain starch had better mechanical properties than those made with native starch. Oxidation of starch also increased film permeability to water vapor because of the hydrophilic trait of the film caused by the formation of carbonyl and carboxyl groups. The hydrophilic character of the starch, however, can be reduced by acetylation, which introduces hydrophobic ester groups (Thomas and Atwell, 1999). Since there are few reports on dual chemical modifications such as oxidation and acetylation on starches, the objectives of this study were to perform dual chemical modification on plantain starch, using one oxidation and one acetylation process, and to characterize the resulting starches physically, chemically and thermally.

## MATERIALS AND METHODS

### Starch isolation

Physiologically immature plantains were used with a procedure at the pilot plant scale (Flores-Gorosquera *et al.*, 2004).

acetilación, así como caracterizar física, química y térmicamente estos almidones.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Aislamiento del almidón

Se usaron plátanos machos fisiológicamente inmaduros con un procedimiento a escala planta piloto (Flores-Gorosquera *et al.*, 2004).

### Modificación del almidón por oxidación con hipoclorito de sodio

El almidón nativo de plátano se sometió a un proceso de oxidación con hipoclorito de sodio (NaOCl) utilizando tres concentraciones de cloro activo (0.5, 1.0 y 1.5 % p/v) de acuerdo al procedimiento reportado por Wang y Wang (2003).

### Modificación del almidón por acetilación

Se utilizó la técnica propuesta por Wurzburg (1986): se pesaron 162 g de almidón, se adicionaron 220 mL de agua destilada (25 °C), y se mezclaron uniformemente mediante agitación magnética constante durante toda la modificación. Se ajustó el pH a 8 con solución de NaOH al 3 % y se adicionó 0.1 mol de anhídrido acético gota a gota; simultáneamente se añadió NaOH al 3 % para mantener el pH entre 8.0 y 8.4. Al finalizar la adición del anhídrido acético, el pH se ajustó a 4.5 con HCl 0.5 N. La solución se centrifugó 15 min a 1500 rpm, se decantó el sobrenadante y el precipitado se resuspendió en agua destilada; se centrifugó y se repitió el procedimiento dos veces. El almidón obtenido se secó 24 h en una estufa a 45 °C, se molió y tamizó en una malla 100.

### Caracterización química del almidón nativo y modificado

Se determinó el contenido de humedad (método 925.10 AOAC, 2005), cenizas (método 32.10 AACC, 2000), lípidos (método 2003.05 AOAC, 2005) y proteínas (método 2001.1, AOAC, 2005).

### Determinación del contenido de almidón total (AT)

Se usó la técnica de Goñi *et al.* (1997) que se fundamenta en una hidrólisis completa del almidón con amiloglicosidasa y se cuantifica la glucosa liberada.

### Modification of starch by oxidation with sodium hypochlorite

Native plantain starch was subjected to a process of oxidation with sodium hypochlorite (NaOCl) using three concentrations of active chlorine (0.5, 1.0 and 1.5 % p/v), following the procedure reported by Wang and Wang (2003).

### Modification of starch by acetylation

The technique proposed by Wurzburg (1986) was used: 162 g starch was weighed and mixed uniformly with 220 mL distilled water (25 °C) by constant magnetic shaking during the entire modification process. The pH was adjusted to 8 with a 3 % solution of NaOH, and 0.1 mol acetic anhydride was added drop by drop; simultaneously, 3 % NaOH was added to maintain pH between 8.0 and 8.4. After all of the acetic anhydride was added, pH was adjusted to 4.5 with 0.5 N HCl. The solution was centrifuged for 15 min at 1500 rpm and the supernatant decanted. The precipitate was re-suspended in distilled water and centrifuged. The procedure was repeated twice. The obtained starch was dried for 24 h in an oven at 45 °C and later ground and sifted through a 100 mesh.

### Chemical characterization of native and modified starch

Moisture content (method 925.10, AOAC, 2005), ash (method 32.10, AACC, 2000), lipids (method 2003.05, AOAC, 2005) and proteins (method 2001.1, AOAC, 2005) were determined.

### Determination of total starch content (TS)

The Goñi *et al.* (1997) technique, which is based on complete hydrolysis of the starch with amyloglucosidase, was used, and the released glucose was quantified.

### Determination of carbonyl and carboxyl groups

For the carbonyl (C=O) groups, the Smith (1967) titration method was used, and for the carboxyl groups, the method of Chattopadhyay *et al.* (1997) was used as described by Rivas-González *et al.* (2008).

### Determination of the degree of substitution and percentage of acetyl groups

The technique proposed by Wurzburg (1986) was used as described by Guerra-Della Valle *et al.* (2008).

### Determinación de grupos carbonilo y carboxilo

Para los grupos carbonilo (C=O) se usó el método de titulación de Smith (1967) y para los grupos carboxilo el método de Chattopadhyay *et al.* (1997), según Rivas-González *et al.* (2008).

### Determinación del grado de sustitución y del porcentaje de grupos acetilo

Se utilizó la técnica propuesta por Wurzburg (1986), según Guerra-Della Valle *et al.* (2008).

### Evaluación del color

El color se evaluó según Zamudio-Flores *et al.* (2007). Se usó un colorímetro universal Milton Roy modelo Color Mate con un iluminante D65 y un ángulo de observación de 10°; se determinó el factor de luminosidad ( $L^*$ ) usando un estándar de color blanco y se hicieron cinco determinaciones para cada muestra. Dado que la oxidación incrementa la blancura del almidón sólo se midió el valor de  $L^*$ .

### Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier

Para analizar los espectros de infrarrojo de las muestras de los almidones nativo y modificados se usó un espectrofotómetro de infrarrojo (Midac, Series M, CA, EE.UU.) equipado con un sistema de pastilla de KBr y sistema de reflectancia total atenuada a  $25 \pm 2$  °C. Para cada muestra se recolectaron 32 barridos con una resolución de  $4 \text{ cm}^{-1}$  y se obtuvo un valor promedio, en la región de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Cada muestra se realizó por cuadruplicado.

### Calorimetría diferencial de barrido

Se usó un calorímetro diferencial de barrido TA Instruments modelo 2010 (TA Instruments, New Castle, DE) previamente calibrado con indio, según el procedimiento descrito por Mendez-Montealvo *et al.* (2005).

### Perfil amilográfico de las dispersiones de almidón

La técnica fue la propuesta por la AACC (2000) usando un microviscoamilografo (Brabender OHG, Duisburg, Alemania). Se prepararon 100 mL de dispersiones (triplicado) de almidón al 10 %  $\text{pv}^{-1}$ , se calentó desde 30 °C hasta 95 °C, se mantuvo 10 min y se enfrió hasta 40 °C, a una velocidad de  $2.5 \text{ °C min}^{-1}$ .

### Análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar y los datos se analizaron mediante análisis de varianza ( $p \leq 0.05$ ) con el pro-

### Color assessment

Color was assessed following Zamudio-Flores *et al.* (2007). A universal colorimeter (Milton Roy, model Color Mate) was used with a D65 illuminator and an observation angle of 10°; the factor luminosity ( $L^*$ ) was determined using a white standard; five determinations per sample were performed. Because oxidation increases starch whiteness, only the  $L^*$  value was measured.

### Fourier transform infrared spectroscopy

To analyze the infrared spectra of the native and modified starch samples, an infrared spectrophotometer (Midac, Series M, CA, USA) was used; this was equipped with a KBr pellet and a system of total reflectance attenuated to  $25 \pm 2$  °C. For each sample, 32 scans were collected with a resolution of  $4 \text{ cm}^{-1}$  and an average value was obtained in the region of 400 to 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Each sample was analyzed in quadruplicate.

### Differential scanning calorimetry

A TA Instruments differential scanning calorimeter, model 2010 (TA Instruments, New Castle, DE), previously calibrated with indium, was used following the procedure described by Méndez-Montealvo *et al.* (2005).

### Amylographic profile of starch dispersions

The technique, proposed by the AACC (2000), uses a microviscoamylograph (Brabender OHG, Duisburg, Germany). One hundred mL of starch dispersions (triplicate) at 10 %  $\text{pv}^{-1}$  was prepared; this was heated from 30 °C to 95 °C and maintained for 10 min, then cooled to 40 °C at a speed of  $2.5 \text{ °C min}^{-1}$ .

### Statistical analysis

The experimental design was completely randomized and the data were analyzed with an analysis of variance ( $p \leq 0.05$ ) with the statistical software Sigma-Stat, 2.03 (Fox *et al.*, 1995). Means were compared with the Tukey test ( $p \leq 0.05$ ; Walpole *et al.*, 1999).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Physical and chemical characterization of native and modified starches

The symbols for the starches are shown in Table 1. The chemical characterization of native starch as well

grama estadístico Sigma-Stat 2.03 (Fox *et al.*, 1995). Las medias se compararon con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ; Walpole *et al.*, 1999).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización física y química del almidón nativo y almidones modificados

La simbología para representar los almidones se muestra en el Cuadro 1. En el Cuadro 2 se muestra la caracterización química del almidón nativo y de los almidones modificados (oxidados y oxidados-acetilados). El contenido de humedad fue 8.3 % (almidón nativo) y 13.1 % para el almidón oxidado con 1.5 % de cloro activo (AO1.5). El contenido de humedad incrementó al aumentar el nivel de oxidación del almidón, pero no hubo diferencias ( $p > 0.05$ ) entre los almidones con 1.0 y 1.5 % de cloro activo. Los almidones doblemente modificados presentaron valores similares a su respectivo oxidado. Este comportamiento se relaciona con el aumento en el carácter hidrofílico debido a la oxidación (Adebowale *et al.*, 2002). El contenido de lípidos de los almidones modificados disminuyó en comparación con el almidón nativo, pero no se encontraron diferencias cuando aumentó el nivel de oxidación ni cuando se efectuó la segunda modificación. Los reactivos (hipoclorito de sodio e hidróxido de sodio) utilizados en la oxidación causaron una saponificación de los lípidos y su eliminación durante los lavados (Zamudio-Flores *et al.*, 2007). Se encontró un comportamiento similar para el contenido de proteínas, aunque al nivel más alto

### Cuadro 1. Simbología usada para representar las muestras de los almidones modificados.

Table 1. Symbols used to represent the samples of modified starches.

Muestra	Simbología
Almidón nativo	AN
Almidón acetilado	AA
Almidón oxidado con 0.5 % cloro activo	AO0.5
Almidón oxidado con 1.0 % cloro activo	AO1.0
Almidón oxidado con 1.5 % cloro activo	AO1.5
Almidón oxidado con 0.5 % cloro activo y acetilado	AO0.5A
Almidón oxidado con 1.0 % cloro activo y acetilado	AO1.0A
Almidón oxidado con 1.5 % cloro activo y acetilado	AO1.5A

as that of modified starches (oxidized and oxidized-acetylated) are shown in Table 2. Moisture content of native starch was 8.3 %, while for starch oxidized with 1.5 % active chlorine (AO1.5) it was 13.1 %. Moisture content increased with increasing levels of starch oxidation, but there were no differences ( $p > 0.05$ ) between the starches oxidized with 1.0 % and 1.5 % active chlorine. The dually-modified starches had values similar to their respective oxidized starches. This is related to the increase in the hydrophilicity caused by oxidation (Adebowale *et al.*, 2002). The lipid content in modified starches was lower than in native starch, but no differences were found when the level of oxidation increased or when the second modification was done. The reagents (sodium hypochlorite and sodium hydroxide) used in oxidation caused lipids to saponify and were

### Cuadro 2. Análisis químico proximal del almidón nativo y de los almidones modificados<sup>†</sup>.

Table 2. Proximal chemical analysis of native and modified starches<sup>†</sup>.

Muestra <sup>‡</sup>	Lípidos	Proteínas <sup>§</sup>	Cenizas	Humedad	Almidón total
AN	1.85 ± 0.11 a	2.06 ± 0.15 a	1.89 ± 0.12 a	8.30 ± 1.70 a	91.20 ± 1.20 a
AO0.5	1.18 ± 0.14 b	1.29 ± 0.18 b	1.05 ± 0.10 b	9.30 ± 1.10 a	86.30 ± 2.10 b
AO1.0	1.11 ± 0.17 b	1.02 ± 0.11 b	0.85 ± 0.14 c	11.20 ± 1.50 b	85.70 ± 1.80 b
AO1.5	1.05 ± 0.15 b	0.88 ± 0.17 c	0.69 ± 0.08 c	13.10 ± 2.10 b	84.90 ± 1.60 b
AO0.5A	1.22 ± 0.13 b	1.23 ± 0.21 b	1.11 ± 0.13 b	9.10 ± 2.30 a	82.30 ± 2.60 b
AO1.0A	1.15 ± 0.19 b	1.11 ± 0.10 b	0.75 ± 0.16 c	10.30 ± 1.20 b	83.70 ± 1.80 b
AO1.5A	1.08 ± 0.14 b	0.75 ± 0.28 c	0.54 ± 0.21 c	11.30 ± 1.40 b	81.90 ± 1.30 b

<sup>†</sup> Media aritmética de cinco repeticiones ± error estándar, porcentaje en base seca. Medias en una columna con diferente letra son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ) ♦ Arithmetic mean of five replications ± standard error; dry matter percent. Means in a column with different letter are significantly different ( $p \leq 0.005$ ).

<sup>‡</sup> Para símbolos de las muestras véase el Cuadro 1 ♦ For symbols of the samples see Table 1.

<sup>§</sup> N × 6.25.



de oxidación (1.5 % de cloro activo) la disminución fue mayor ( $p \leq 0.05$ ).

La segunda modificación no afectó ( $p > 0.05$ ) el contenido de proteínas, por lo que el proceso de oxidación elimina parte de estos componentes debido a una degradación (Adebowale *et al.*, 2002). Estas proteínas son principalmente enzimas de la biosíntesis del polisacárido (Agama-Acevedo *et al.*, 2008).

En general, el contenido de cenizas disminuyó con el nivel de oxidación, pero no hubo diferencias ( $p > 0.05$ ) en las muestras oxidadas con los más altos contenidos de cloro activo (1.0 y 1.5 %). Tampoco hubo diferencias al comparar los almidones doblemente modificados con su contraparte oxidada. Los reactivos usados y los lavados durante las modificaciones remueven estos componentes presentes en el almidón (Adebowale *et al.*, 2002).

El porcentaje de almidón total (AT), que representa la pureza del almidón, disminuyó con las modificaciones, pero no se encontraron diferencias al aumentar el nivel de oxidación ni al realizar la segunda modificación. La disminución está relacionada con la introducción de los grupos carbonilo y carboxilo, ya que la modificación cambia la estructura del almidón y, por tanto, ya no es reconocido por la enzima (amiloglucosidasa); esto se debe a que se realiza una hidrólisis completa del almidón.

### Evaluación del color en los almidones

El valor  $L^*$  fue el mejor parámetro para caracterizar el color de los almidones y fue una medida directa de su blancura (Figura 1). Este valor incrementó a medida que aumentó el nivel de oxidación (concentración de cloro activo) usado para modificar los almidones. Se observaron valores desde 81.1 para el almidón nativo (AN) hasta 96.7 para el AO1.5, el cual es cercano a 100 (valor máximo) que indica un material blanco.

Los valores menores de 100, en este tipo de almidón, se deben a que el fruto de plátano es muy susceptible a sufrir reacciones de oscurecimiento enzimático, las cuales ocurren al cortar o pelar el fruto, exponiendo las enzimas como la polifenol oxidasa, a la presencia del oxígeno. Esto desencadena las reacciones de oscurecimiento enzimático, que no pueden ser completamente eliminados durante los procesos de modificación.

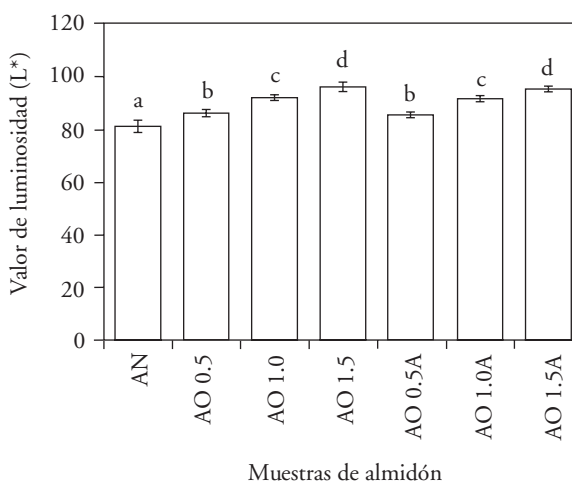
El efecto del blanqueamiento del almidón se debe a la oxidación con NaOCl (Rutenberg y Solarek,

eliminated during washing (Zamudio-Flores *et al.*, 2007). Similar behavior was found for the protein content, although at the highest level of oxidation (1.5 % active chlorine), reduction was greater ( $p \leq 0.05$ ).

The second modification did not affect ( $p > 0.05$ ) protein content; the oxidation process eliminates part of these components by degradation (Adebowale *et al.*, 2002). These proteins are mainly enzymes from the biosynthesis of the polysaccharide (Agama-Acevedo *et al.*, 2008).

In general, the content of ash decreased with the level of oxidation, but there were no differences ( $p > 0.05$ ) in the oxidized samples at the highest contents of active chlorine (1.0 and 1.5 %). Nor were there differences between the dually-modified starches and their oxidized counterparts. The reagents used and the washing during the modifications remove these components of native starch (Adebowale *et al.*, 2002).

The percentage of total starch (TS), which indicates starch purity, decreased with the modifications, but no differences were found when the level of oxidation increased or when the second modification was performed. This decrease is related



**Figura 1.** Evaluación de color (parámetro  $L^*$ ) en el almidón nativo y en los almidones modificados. Barras de error estándar con letras diferentes son estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ).

† Para símbolos de las muestras ver Cuadro 1.

**Figure 1.** Color assessment ( $L^*$  parameter) in native starch and in modified starches. Standard error bars with different letters are statistically significant ( $p \leq 0.05$ ).

† For symbols of the samples see Table 1.

1984), aunque la mayor parte de los estudios se realizó con almidones de fuentes convencionales como maíz, trigo, y arroz (Chattopadhyay *et al.*, 1997), los cuales no son susceptibles a reacciones de oscurecimiento enzimático. El modo de acción específico del cloro molecular ( $\text{Cl}_2$ ), y sobre todo de las formas de cloro residual libre como el ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ) y el ión hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ) sobre los compuestos fenólicos involucrados en las reacciones de oscurecimiento enzimático, implica que las moléculas de cloro se introducen en los compuestos fenólicos. Estos compuestos se caracterizan por la presencia de insaturaciones que son muy reactivas y el cloro las reduce para producir un efecto de decoloración e incluso un cierto grado de despolimerización, que produce compuestos de menor peso molecular y que son eliminados con los lavados sucesivos realizados durante la modificación (Floor *et al.*, 1989; Hebeish *et al.*, 1989; Sánchez-Rivera *et al.*, 2005).

### Contenido de grupos carbonilo, carboxilo y acetilo

El contenido de grupos carbonilo incrementó con el nivel de cloro activo utilizado en la oxidación (Cuadro 3). Sánchez-Rivera *et al.* (2005) no detectaron grupos carbonilo en almidón oxidado de plátano con 0.5 % de cloro activo, encontrándose grupos carbonilo de 0.015 % y 0.032 % para el almidón oxidado con 1.0 y 1.5 % de cloro activo.

Al realizar la doble modificación, el contenido de carbonilos disminuyó y no se encontraron diferencias

to the introduction of the carbonyl and carboxyl groups since modification changes starch structure and, therefore, it is not recognized by the enzyme (amyloglucosidase) because hydrolysis of the starch is complete.

### Color assessment in the starches

The  $L^*$  value was the best parameter for characterizing starch color and it was a direct measurement of its whiteness (Figure 1). The  $L^*$  value increased with increasing levels of oxidation (concentration of active chlorine) used to modify the starches. Values from 81.1 for native starch (AN) to 96.7 for AO1.5 were observed. An  $L^*$  close to 100 (maximum value) indicates white material.

The values lower than 100 in plantain starch are explained by the fact that the fruit is very susceptible to browning by enzymatic reactions which occur when cutting or peeling the fruit, exposing enzymes such as polyphenol oxidase to the presence of oxygen. This starts the reactions of enzymatic browning, which cannot be completely eliminated during the modification processes.

The effect of starch bleaching is due to oxidation with  $\text{NaOCl}$  (Rutenberg and Solarek, 1984), although most of the studies on starch acetylation and color evaluation have been conducted on starches from conventional sources such as maize, wheat and rice (Chattopadhyay *et al.*, 1997), which are not susceptible to reactions of enzymatic browning. The specific mode of action of chlorine

**Cuadro 3. Contenido de grupos carbonilo, carboxilo, y acetilo en los almidones modificados †.**  
**Table 3. Content of carbonyl, carboxyl and acetyl groups in modified starches †.**

Muestra <sup>‡</sup>	Carbonilo (%)	Carboxilo (%)	Acetilo (%)	GS
AN	nd	nd	nd	ndt
AO0.5	0.020 ± 0.005 a	0.011 ± 0.004 a	nd	ndt
AO1.0	0.023 ± 0.007 b	0.033 ± 0.002 b	nd	ndt
AO1.5	0.025 ± 0.004 c	0.046 ± 0.002 c	nd	ndt
AO0.5A	0.011 ± 0.002 d	nd	1.3 ± 0.580 a	0.050 ± 0.012 a
AO1.0A	0.009 ± 0.006 d	nd	1.1 ± 0.220 a	0.042 ± 0.015 a
AO1.5A	0.013 ± 0.002 d	nd	0.9 ± 0.630 a	0.034 ± 0.019 a

† Media aritmética de tres repeticiones ± error estándar. Medias en una columna con letras diferentes son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ) ♦ Arithmetic mean of three replications ± standard error. Means in a column with different letter are significantly different ( $p \leq 0.005$ ).

GS: grado de sustitución (adimensional); nd: no se detectó; ndt: no se determinó ♦ GS: degree of substitution (dimensionless); nd: not detected; ndt: not determined.

<sup>‡</sup> Para símbolos ver Cuadro 1 ♦ For symbols see Table 1.

( $p > 0.05$ ) entre ellos, independientemente del nivel de oxidación. El contenido de grupos carboxilo siguió el mismo comportamiento y en general los valores fueron mayores ( $p \leq 0.05$ ) que los de carbonilo debido a que el proceso de oxidación se realizó en un medio alcalino ( $\text{pH} = 9.5$ ) que favorece la producción de grupos carboxilo (Wang y Wang, 2003).

El contenido de grupos carboxilo es comparable con lo reportado por Sánchez-Rivera *et al.* (2005), quienes obtuvieron valores de 0.013, 0.040 y 0.050 % para almidón oxidado de plátano macho con 0.5, 1.0 y 1.5 % de cloro activo. El nivel de oxidación alcanzado depende del tipo de almidón (Kuakpetoon y Wang, 2001). En los almidones doblemente modificados no se detectó la presencia de grupos carboxilo pero sí de grupos acetilos, lo cual indica que estos últimos sustituyen a los grupos carboxilo en los almidones oxidados.

En el AN y los almidones oxidados no se determinó el grado de sustitución (GS) debido a que estas muestras no presentaron grupos acetilo. El GS de los almidones doblemente modificados fue similar, lo que indica que la acetilación se produjo al mismo nivel independientemente del nivel de oxidación del almidón sometido a esta segunda modificación. Bello-Pérez *et al.* (2002) reportaron un GS de 0.04 para almidón acetilado de plátano macho y Betancur-Ancona *et al.* (1997) determinaron un GS de 0.057 a 0.091 para almidones de *Canavalia ensiformis* acetilados con diversos tratamientos. Los datos de GS del presente estudio son bajos (la FDA de EE.UU. acepta entre 0.01-0.2 para uso en alimentos) y son similares a los reportados por Betancur-Ancona *et al.* (1997), pero menores a los encontrados en almidón acetilado de maíz (0.11-0.17) (Liu *et al.*, 1997).

### Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier

En la región conocida como la huella dactilar, que comprende  $400$  a  $1250 \text{ cm}^{-1}$  (Olsen, 1990), se observan tres picos característicos en los espectros entre  $923$  y  $1162 \text{ cm}^{-1}$ , los cuales se atribuyen al estiramiento del enlace C-O (Goheen y Wool, 1991). El pico localizado a  $1467 \text{ cm}^{-1}$  es asignado a la flexión del grupo  $\text{CH}_2$  y el pico amplio en  $2926 \text{ cm}^{-1}$  es característico de los estiramientos C-H asociados con el anillo de glucopiranososa (Mano *et al.*, 2003). La banda amplia desde  $3000$  a  $3900 \text{ cm}^{-1}$  se debe al enlace

moleculas ( $\text{Cl}_2$ ), and particularly, of the forms of free residual chlorine such as hypochlorous acid ( $\text{HOCl}$ ) and the hypochlorite ion ( $\text{OCl}^-$ ), on the phenolic compounds involved in enzymatic browning reactions implicates that chlorine molecules are introduced into the phenolic compounds. These compounds are characterized by the presence of unsaturated bonds that are very reactive. Chlorine reduces them to produce a discoloring effect and even a certain degree of de-polymerization, which produces compounds of lower molecular weight that are eliminated by successive washings during modification (Floor *et al.*, 1989; Hebeish *et al.*, 1989; Sánchez-Rivera *et al.*, 2005).

### Content of carbonyl, carboxyl and acetyl groups

The content of carbonyl groups increased with increasing levels of active chlorine used in oxidation (Table 3). Sánchez-Rivera *et al.*, (2005) did not detect carbonyl groups in oxidized plantain starch with 0.5 % active chlorine, but carbonyl groups of 0.015 % and 0.032 % were found in starch oxidized with 1.0 and 1.5 % active chlorine.

With dual modification, the content of carbonyls decreased, and no differences were found among them regardless of the level of oxidation. The content of carboxyl groups followed the same pattern and, in general, the values were higher ( $p \leq 0.05$ ) than those of the carbonyl group because the process of oxidation was carried out in an alkaline medium ( $\text{pH} = 9.5$ ), which favored the production of carboxyl groups (Wang and Wang, 2003).

The content of carboxyl groups is comparable with that reported by Sánchez-Rivera *et al.* (2005), who obtained values of 0.013, 0.040 and 0.050 % for oxidized plantain starch with 0.5, 1.0 and 1.5 % active chlorine. The level of oxidation depends on the type of starch (Kuakpetoon and Wang, 2001). In dually-modified starches, while carboxyl groups were not detected, acetyl groups were, indicating that the latter substitute carboxyl groups in oxidized starches.

The degree of substitution (GS) was not determined in AN or oxidized starches since acetyl groups were not present in the samples. The GS of dually-modified starches was similar, indicating that acetylation occurred at the same level regardless of the level of oxidation of the starch subjected to this second modification. Bello-Pérez *et al.* (2002)



de hidrógeno de los grupos hidroxilo que contribuyen a las vibraciones de los estiramientos asociados con el enlace libre inter e intramolecular del grupo hidroxilo, siendo una característica muy particular de la estructura del almidón (Fang *et al.*, 2002).

A medida que se incrementó el nivel de oxidación en los almidones se observó un aumento en el ancho de la banda entre 3000 a 3900  $\text{cm}^{-1}$ , indicando un aumento en la presencia de los grupos carboxilo y disminuyó la amplitud de esta banda cuando se realizó la acetilación (Figura 2). Guerra-Della Valle *et al.* (2008) reportaron una disminución de la amplitud de esta banda (3000-3900  $\text{cm}^{-1}$ ) al modificar por acetilación al almidón nativo de plátano, debido a que aumentó la amplitud de la banda a 1740  $\text{cm}^{-1}$  producto de las vibraciones del grupo carbonilo presente en el almidón acetilado (Xu *et al.*, 2004; Xu y Hanna, 2005).

### Calorimetría diferencial de barrido

En general, la oxidación incrementó las temperaturas:  $T_i$  (temperatura de inicio),  $T_p$  (temperatura

reportada a GS of 0.04 for acetylated plantain starch, and Betancur-Ancona *et al.* (1997) determined a GS of 0.057 to 0.091 for starches from *Canavalia ensiformis* acetylated with different treatments. The GS data of our study are low (the US FDA accepts between 0.01-0.2 for use in foods) and are similar to those reported by Betancur-Ancona *et al.* (1997), but lower than those found in acetylated corn starch (0.11-0.17) (Liu *et al.*, 1997).

### Fourier transform infrared spectroscopy

In the region known as the fingerprint, which comprises 400 to 1250  $\text{cm}^{-1}$  (Olsen, 1990), three characteristic peaks are observed in the spectra between 923 and 1162  $\text{cm}^{-1}$ ; these are attributed to C-O bond stretching (Goheen and Wool, 1991). The peak located at 1467  $\text{cm}^{-1}$  is assigned to the flexion of the  $\text{CH}_2$  group, and the broad peak at 2926  $\text{cm}^{-1}$  is characteristic of C-H stretching associated with the glucopyranose ring (Mano *et al.*, 2003). The broad band from 3000 to 3900  $\text{cm}^{-1}$  is due to the hydrogen bond of the hydroxyl groups that contribute to the

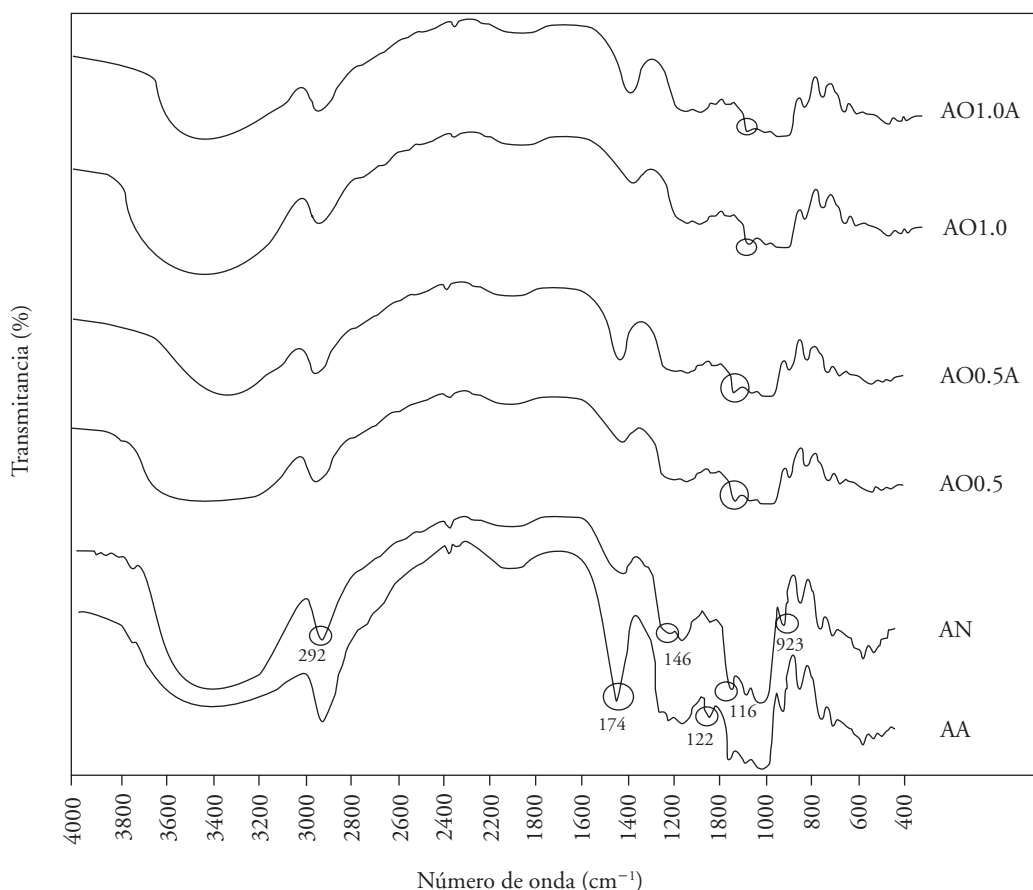


Figura 2. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier de las muestras AN, AA, AO0.5, AO0.5A, AO1.0 y AO1.0A (Ver Cuadro 1).

Figure 2. Fourier transform infrared spectroscopy of the samples AN, AA, AO0.5, AO0.5A, AO1.0 AND AO1.0A (See Table 1).

de pico) y  $T_f$  (temperatura final) de la transición de fase conocida como gelatinización (Cuadro 4). El efecto fue mayor cuando aumentó el nivel de oxidación, aunque el AN y la muestra oxidada con 0.5 % de cloro activo no fueron diferentes ( $p>0.05$ ). Esto se debe a que cuando aumentó la concentración de cloro activo se aumentó también el porcentaje de grupos carboxilo (Cuadro 3 y Figura 2) introducidos en la molécula de almidón, los cuales estabilizaron la estructura y, por tanto, se requirió más temperatura para la gelatinización (Sánchez-Rivera *et al.*, 2005). La segunda modificación no tuvo efecto en las temperaturas de gelatinización porque se encontraron valores similares en los almidones doblemente modificados y su contraparte oxidada.

La entalpía de gelatinización ( $\Delta H$ ) disminuyó en las muestras oxidadas con los más altos niveles de cloro activo (1.0 y 1.5 %) comparada con el AN y la oxidada con 0.5 % de cloro activo, ya que estas dos últimas muestras no fueron diferentes ( $p>0.05$ ). Esto se debe probablemente a una despolimerización del almidón durante la oxidación, como se observó en los estudios estructurales de almidón oxidado de cebada (Chávez-Murillo *et al.*, 2008). El mismo comportamiento mostrado en las temperaturas de gelatinización se presentó en la entalpía para los almidones doblemente modificados.

Chavan *et al.* (1999) y Adebawale *et al.* (2006) afirman que la gelatinización involucra el desdoblamiento y la fusión de las cadenas externas de

stretching vibrations associated with the free inter- and intra-molecular bond of the hydroxyl group, a characteristic that is particular to starch structure (Fang *et al.*, 2002).

In the measure that the level of oxidation increased in the starches, an increase in band width is also observed between 3000 and 3900  $\text{cm}^{-1}$ , indicating an increase in carboxyl groups; a decrease in the width of this band can be seen when acetylation was performed (Figure 2). Guerra-Della Valle *et al.* (2008) reported a decrease in the amplitude of this band (3000-2900  $\text{cm}^{-1}$ ) when native bananas starch was modified by acetylation since at 1740  $\text{cm}^{-1}$  the amplitude of the band increased because of the vibrations of the carbonyl group present in the acetylated starch (Xu *et al.*, 2004; Xu and Hanna, 2005).

### Differential scanning calorimetry

In general, oxidation increased temperatures:  $T_i$  (initial temperature),  $T_p$  (peak temperature) and  $T_f$  (final temperature) of the transition phase known as gelatinization (Table 4). The effect was greater when oxidation levels increased, although AN and the sample oxidized with 0.5% active chlorine was not different ( $p>0.05$ ). This occurs because, when the active chlorine concentration increased, the percentage of carboxyl groups introduced into the starch molecules also increased (Table 3 and Figure 2). These groups stabilized the structure and, therefore,

**Cuadro 4. Variables térmicas del almidón nativo y almidones modificados <sup>†</sup>.**  
**Table 4. Thermal variables of native and modified starches <sup>†</sup>.**

Muestra <sup>§</sup>	Variables térmicas				
	$T_i$ (°C)	$T_p$ (°C)	$T_f$ (°C)	$T_f-T_i$ (°C)	$\Delta H$ (J g <sup>-1</sup> )
AN	64.30 ± 1.13 a	70.10 ± 1.30 a	73.70 ± 0.90 a	9.40	11.40 ± 0.87 a
AO0.5	62.50 ± 1.10 a	69.31 ± 1.00 a	72.25 ± 1.20 a	9.75	10.25 ± 0.65 a
AO1.0	68.60 ± 0.90 b	73.25 ± 0.90 b	78.23 ± 0.70 b	9.63	8.60 ± 0.90 b
AO1.5	72.35 ± 0.83 c	76.20 ± 0.83 c	83.35 ± 0.63 c	11.00	8.15 ± 0.75 b
AO0.5A	63.21 ± 0.95 a	70.25 ± 0.75 a	75.30 ± 0.81 a	12.09	10.15 ± 0.85 a
AO1.0A	69.13 ± 0.71 b	72.35 ± 0.78 b	81.45 ± 0.65 c	12.36	7.52 ± 0.90 b
AO1.5A	71.45 ± 0.81 c	75.15 ± 0.90 c	82.32 ± 0.77 c	10.87	7.25 ± 0.70 b

<sup>†</sup> Media aritmética de cinco repeticiones ± error estándar ♦ Arithmetic mean of five replications ± standard error.

Valores en una columna con diferente letra son significativamente diferentes ( $p\leq 0.05$ ) ♦ Values in a column with different letter are significantly different ( $p\leq 0.05$ ).

$T_i$  = temperatura de inicio de gelatinización;  $T_p$  = temperatura de pico de gelatinización ♦  $T_i$  = initial temperature of gelatinization;  $T_p$  = peak temperature of gelatinization.

$T_f$  = temperatura final de gelatinización;  $\Delta H$  = entalpía de gelatinización ♦  $T_f$  = final temperature of gelatinization;  $\Delta H$  = enthalpy of gelatinization.

<sup>§</sup> Para símbolos ver Cuadro 1 ♦ For symbols see Table 1.

amilopeptina que están empacadas junto con las dobles hélices en racimos, mientras que el cambio de entalpía ( $\Delta H$ ) se debe principalmente al desdoblamiento de las dobles hélices más que a la destrucción de la cristalinidad.

### Perfil amilográfico

La oxidación provocó un incremento en la viscosidad de pico de la pasta de almidón comparada con su contraparte nativa (Figura 3). La introducción de los grupos carbonilos y carboxilos produce más interacción con las moléculas de agua lo cual aumenta la viscosidad. La segunda modificación produjo un mayor incremento en la viscosidad de pico, pero la temperatura de formación de la pasta fue menor, mostrándose la formación de un gel durante el enfriamiento. El comportamiento mostrado en el almidón doblemente modificado está relacionado con la despolimerización producida por la oxidación y la estabilización provocada por la acetilación. Así, la estructura formada puede interactuar con mayor cantidad de agua, causando el aumento en la viscosidad de pico. Además, una mayor cantidad de cadenas lineales que se reorganizan durante el enfriamiento producen una malla más estructurada que da la característica de un gel más fuerte (Kuakpetoon y Wang, 2001).

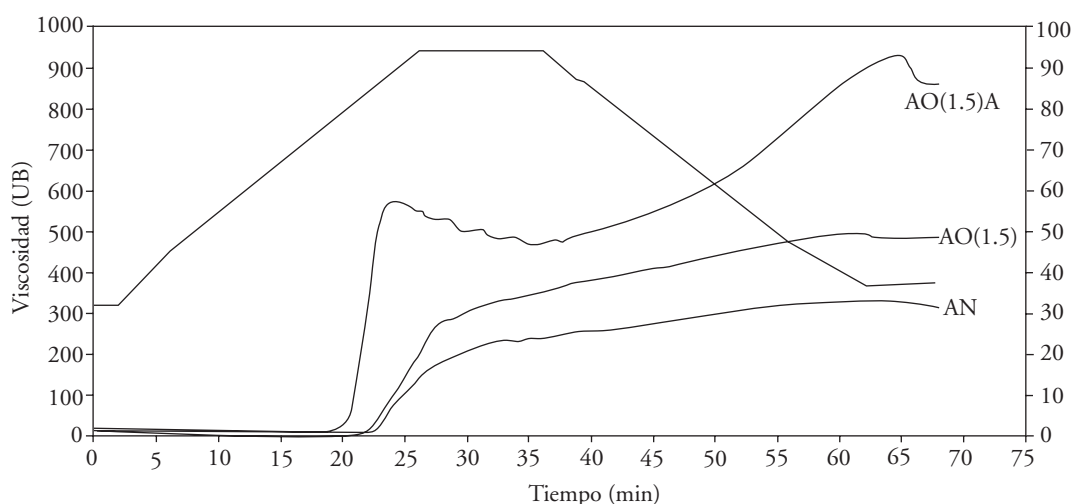
more heat was required for gelatinization (Sánchez-Rivera *et al.*, 2005). The second modification had no effect on gelatinization temperatures because similar values were found in dually-modified starches and their oxidized counterparts.

Gelatinization enthalpy ( $\Delta H$ ) decreased in oxidized samples with the highest levels of active chlorine (1.0 and 1.5 %) compared with AN and starch oxidized with 0.5 % active chlorine since these two samples were not different ( $p > 0.05$ ). This is probably due to de-polymerization of the starch during oxidation, as was observed in studies in the structure of oxidized barley starch (Chávez-Murillo *et al.*, 2008). The same behavior observed in gelatinization temperatures was seen in the enthalpy of dually-modified starches.

Chavan *et al.* (1999) and Adebowale *et al.* (2006) state that gelatinization involves unfolding and fusion of the external chains of amylopectin, which are packed together with double helices in racemes, while the enthalpy ( $\Delta H$ ) change is due more to the unfolding of the double helices than to the destruction of crystallinity.

### Amylographic profile

Oxidation caused an increase in peak viscosity of the starch paste relative to the native counterpart (Figure 3). Introduction of the carbonyl and carboxyl groups produces more interaction with the



**Figura 3. Perfil amilográfico del almidón nativo (AN), almidón oxidado con 1.5 % de cloro activo (AO1.5) y del almidón doblemente modificado (AO1.5A).**

**Figure 3. Amylographic profile of native starch (AN), starch oxidized with 1.5 % active chlorine (AO1.5) and dually modified starch (AO1.0A).**

## CONCLUSIONES

La modificación por oxidación y la doble modificación redujeron el contenido de proteínas, lípidos, cenizas y almidón total. Mediante la técnica de espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier se verificó la presencia de los grupos funcionales carbonilo, carboxilo y acetilo. El factor de luminosidad aumentó al elevar el nivel de oxidación, sin que la modificación por acetilación afectara significativamente esta variable. Las variables térmicas y el perfil amilográfico indicaron un cambio estructural en los almidones modificados. Con la doble modificación química fue posible mejorar las propiedades físicas y químicas del almidón nativo de plátano.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo económico de COFAA-IPN y EDI-IPN. Paul Baruk Zamudio Flores agradece la beca de doctorado del CONACYT, la beca institucional del IPN y PIFI-COFAA.

## LITERATURA CITADA

- AACC (American Association of Cereals Chemists). 2000. Approved Methods of the AACC. St. Paul, MN.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official Methods of Analysis. 18<sup>th</sup> edition. Gaithersburg, MA, USA. Chapter 4:33-36 and 40-42; chapter 32:1.
- Adebowale, K. O., T. A. Afolabi, and I. Olu-Owolabi. 2006. Functional, physicochemical and retrogradation properties of sword bean (*Canavalia gladiata*) acetylated and oxidized starches. Carbohydr. Polym. 65: 93-101.
- Adebowale, K. O., T. A. Afolabi, and O. S. Lawal. 2002. Isolation, chemical modification and physicochemical characterisation of Bambarra groundnut (*Voandzeia subterranean*) starch and flour. Food Chem. 78: 305-311.
- Agama-Acevedo, E., A. P. Barba de la Rosa, G. Méndez-Montealvo, and L. A. Bello-Pérez. 2008. Physicochemical and biochemical characterization of starch granules isolated of pigmented maize hybrids. Starch/Stärke 60: 433-441.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official Methods of Analysis. 18<sup>th</sup> edition. Gaithersburg, MA, USA. Chapter 4: 33-36 and 40-42; chapter 32: 1.
- Bello-Pérez, L. A., S. M. Contreras-Ramos, R. Romero-Manilla, J. Solorza-Feria, y A. Jiménez-Aparicio. 2002. Propiedades químicas y funcionales del almidón modificado de plátano *Musa paradisiaca* L. (var. Macho). Agrociencia 36: 169-180.
- Betancur-Ancona, D. L., L. Chel-Guerrero, and E. Hernández-Cañizarez. 1997. Acetylation and characterization of *Canavalia ensiformis* starch. J. Agric. Food Chem. 45: 378-382.
- Chattopadhyay, S., R. S. Singhal and P. R. Kulkarni. 1997. Op-

timization of conditions of synthesis of oxidized starch from corn and amaranth for use in film-forming applications. Carbohydr. Polym. 34: 203-212.

Chavan, U. D., F. Shahidi, R. Hoover, and C. Perera. 1999. Characterization of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) starch. Food Chem. 65: 61-70.

Chávez-Murillo, C. E., Y. -J. Wang, and L. A. Bello-Pérez. 2008. Morphological, physicochemical and structural characteristics of oxidized barley and corn starches. Starch/Stärke 60: 634-645.

Fang, J. M., P. A. Fowler, J. Tomkinson, and C. A. S. Hill. 2002. The preparation and characterization of a series of chemically modified potato starches. Carbohydr. Polym. 47: 245-252.

Floor, A., A. P. G. Kieboom, and H. B. Delft. 1989. Preparation and calcium complexation of oxidized polysaccharides. Starch/Stärke 41: 348-354.

Flores-Gorosquera, E., F. J. García-Suárez, E. Flores-Huicochea,

## CONCLUSIONS

Modification by oxidation and dual modification reduced the protein, lipid, ash and total starch contents. Using Fourier transform infrared spectroscopy, the presence of functional carbonyl, carboxyl and acetyl groups was confirmed. The luminosity factor increased with increasing levels of oxidation, without significant effects of modification by acetylation on this variable. The thermal variables and the amylographic profile indicated a structural change in the modified starches. With dual chemical modification, it was possible to improve physical and chemical properties of native plantain starch.

—End of the English version—

-----\*-----

- M. C. Núñez-Santiago, R. A. González-Soto, y L. A. Bello-Pérez. 2004. Rendimiento del proceso de extracción de almidón a partir de frutos de plátano (*Musa paradisiaca*). Estudio en planta piloto. *Acta Cient. Venez.* 55: 86-90.
- Fox, E., K. Shotton, and C. Ulrich. 1995. *Sigma-Stat User Manual*. San Rafael, CA., USA, Jandel Scientific Co. (cd).
- García, M. A., M. N. Martino, and N. E. Zaritzky. 2000. Microstructural characterization of plasticized starch-based films. *Starch/Stärke* 52: 118-124.
- Goheen, S. M., and R. P. Wool. 1991. Degradation of polyethylene-starch blends in soil. *J. Appl. Polym. Sci.* 42: 2691-2701.
- Goñi, I., A. García-Alonso, and F. Saura-Calixto. 1997. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutr. Res.* 17: 427-437.
- Guerra-Della Valle, D., L. A. Bello-Pérez, R. A. González-Soto, J. Solorza-Feria, and G. Arámbula-Villa. 2008. Experimental studies of the acetylation of plantain starch. *Rev. Mex. Ing. Quím.* 7: 283-291.
- Hebeish, A., I. A. El-Thalouth, R. Refai, and A. R. Dokki. 1989. Synthesis and characterization of hypochlorite oxidized starches. *Starch/Stärke* 41: 293-298.
- Kuakpetoon, D., and Y. J. Wang 2001. Characterization of different starches oxidized by hypochlorite. *Starch/Stärke* 53: 211-218.
- Liu, H., L. Ramsden and H. Coorke, 1997. Physical properties and enzymatic digestibility of acetylated *ae*, *wx*, and normal corn starch. *Carbohydr. Polym.* 34: 283-289.
- Mano, J. F., D. Koniarova, and R. L. Reis, 2003. Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blends with potential biomedical applicability. *J. Mater. Sci. -Mater. M.* 14: 127-135.
- Méndez-Montealvo, G., J. Solorza-Feria, M. Velázquez del Valle, N. Gómez-Montiel, O. Paredes-López, y L. A. Bello-Pérez. 2005. Composición química y caracterización calorimétrica de híbridos y variedades de maíz cultivadas en México. *Agrociencia* 39: 267-274.
- Olsen, E. D. 1990. *Métodos Ópticos de Análisis*. 3ª ed. Editorial Reverté. México. pp: 176-177.
- Rivas-González, M., M. G. Méndez-Montealvo, M. M. Sánchez-Rivera, M. C. Núñez-Santiago, y L. A. Bello-Pérez. 2008. Caracterización morfológica, molecular y fisicoquímica del almidón de plátano oxidado y lintnerizado. *Agrociencia* 42: 487-497.
- Romero-Bastida, C. A., L. A. Bello-Pérez, M. A. García, M. N. Martino, J. Solorza-Feria, and N. E. Zaritzky. 2005. Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. *Carbohydr. Polym.* 60: 235-244.
- Rutenberg, M. W., and D. Solarek. 1984. Starch derivatives: Production and uses. *In: Wistler, R. L., J. N. BeMiller and E. F. Paschall (eds). Starch Chemistry and Technology*. 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, New York. pp: 311-366.
- Sánchez-Rivera, M. M., F. J. L. García-Suárez, M. Velázquez del Valle, F. Gutiérrez-Meraz, and L. A. Bello-Pérez. 2005. Partial characterization of banana starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. *Carbohydr. Polym.* 62: 50-56.
- Smith, R. J. 1967. Production and use of hypochlorite oxidized starches. *In: Whistler R. L. and E. F. Paschall (eds). Starch Chemistry and Technology*. Academic Press, New York. pp: 620-625.
- SUN/Elgolfo.info. 2008. Avanza ley para prohibir bolsas de plástico en comercios. [http://www.elgolfo.info/17\\_noviembre\\_2008](http://www.elgolfo.info/17_noviembre_2008).
- Thomas, D. J., and W. A. Atwell. 1999. *Starches: Practical Guides for the Food Industry*. St. Paul, MN. USA. Eagan Press Handbook Series AACC. pp: 19-22.
- Walpole, R. E., R. H. Myers, y S. L. Myers. 1999. *Probabilidad y Estadística para Ingenieros*. 6ª ed. Prentice-Hall Hispanoamericana. México. pp: 481-482.
- Wang, Y. J., and L. Wang. 2003. Physicochemical properties of common and waxy corn starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. *Carbohydr. Polym.* 53: 207-217.
- Wurzburg, O. B. 1986. *Modified Starches: Properties and Uses*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp: 1-277.
- Xu, Y., and M. A. Hanna. 2005. Preparation and properties of biodegradable foams from starch acetate and poly (tetramethylene adipate-co-terephthalate). *Carbohydr. Polym.* 59: 521-529.
- Xu, Y., V. Miladinov, and M. A. Hanna. 2004. Synthesis and characterization of starch acetates with high substitution. *Cereal Chem.* 81: 735-740.
- Zamudio-Flores, P. B., A. Vargas-Torres, J. Pérez-González, E. Bosquez-Molina, and L. A. Bello-Pérez. 2006. Films prepared with oxidized banana starch: Mechanical and barrier properties. *Starch/Stärke* 58: 274-282.
- Zamudio-Flores, P. B., L. A. Bello-Pérez, A. Vargas-Torres, J. P. Hernández-Urbe, y C. A. Romero-Bastida. 2007. Caracterización parcial de películas preparadas con almidón oxidado de plátano. *Agrociencia* 41: 837-844.