



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Trabajo de Tesis Doctoral:

**APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE LAS FRACCIONES FIBROSAS
REMANENTES DEL PROCESAMIENTO DE RAÍCES Y TUBÉRCULOS
(R&T) DE USO AGROINDUSTRIAL**

Tesista: Lic. Karen Nataly Strack

Directoras: Dra. Sonia Zulma Viña y Dra. Cecilia Dini

Año: 2024



**Aprovechamiento
integral de las fracciones
fibrosas remanentes del
procesamiento de raíces
y tubérculos (R&T) de
uso agroindustrial**

Lic. Karen Nataly Strack

**Tesis doctoral dirigida por
la Dra. Sonia Zulma Viña y la Dra. Cecilia Dini**



El presente Trabajo de Tesis para optar al título de Doctora de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), UNLP- CIC-CONICET bajo la dirección de la Dra. Sonia Zulma Viña y la Dra. Cecilia Dini.

*"El aburrimiento se cura con curiosidad.
La curiosidad no se cura con nada."*

Dorothy Parker

Agradecimientos

Deseo expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas e instituciones que de una u otra manera hicieron posible la realización del presente Trabajo de Tesis:

A mis directoras, la Dra. Sonia Viña y la Dra. Cecilia Dini, por darme la oportunidad de desarrollarme y crecer en un área diferente a mi formación de base, por acompañarme y aconsejarme a lo largo de 6 años y apostar por mí como profesional. A Soni, que ha sido una brújula moral, tratándome siempre con empatía, cariño, y sobre todo, con contención. A Ceci, por haberme tenido la paciencia y dedicación de guiarme tanto en el laboratorio como en mi carrera profesional, empujándome a mejorar en cada paso.

A la Dra. Alejandra García, por ser una guía tanto laboral como personalmente, llenando cada espacio de buena energía. Por contagiarme las ganas de ser docente, enseñando con su ejemplo y pasión.

A la Agencia Nacional de Promoción de la Ciencia y Tecnología (ANPCyT) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por permitir financiar el presente trabajo.

A la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), que me formó durante tantos años, permitiéndome obtener el título de grado y optar por el de posgrado.

Al Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) por ser mi lugar de trabajo.

Al personal de la Estación Experimental del INTA (Montecarlo, Misiones) por suministrarme las raíces de ahípa y mandioca, en especial a Pablo Rohatsch y Hugo Fassola.

A Fernando Witzke y Fabián Dilkin por su buena predisposición para enviarme un residuo agroindustrial, así como para atender cualquier duda que nos iba surgiendo respecto a su procesamiento.

A las Prof. Marta Colares y Ana María Arambarri, quienes me brindaron su ayuda con los análisis microscópicos de ahipa.

Al Dr. Darío Cabezas, que me recibió con los brazos abiertos en su laboratorio, introduciéndome al mundo de las emulsiones, desde su formulación hasta la interpretación de resultados.

A los chicos del laboratorio de cereales, por prestarme equipamiento y enseñarme técnicas difíciles de realizar.

A las chicas de histología: Yuli, Flor O. y Flor V. por brindarme su experiencia en las técnicas utilizadas en el grupo, pero más aún por su compañía y aliento en la última etapa del desarrollo de esta Tesis.

A las personas con las que he compartido el laboratorio de vegetales en los inicios: Lu V., Lu G.F., Andre, Maga, Marti, Jairo, Matti, Nati, Fede, Majo. Por las lindas charlas y momentos juntos.

A las últimas incorporaciones: Luisa, Luz, Michelle y Danna, que me recordaron por qué hacía lo que hacía, y me motivaron a terminar esta etapa, haciéndola más amena y divertida.

A Andre, quien me enseñó a buscar nuevos horizontes, alentándome a encontrar mi vocación.

A mi grupo de teatro, tan importante para mantener la cordura. En especial, a Fer, Dai, Juli, Sofi, Adri y Flor.

A Sofi, amiga y profe de canto, que con mucha paciencia y amor me ayudó a salir de la estructura y disfrutar de aspectos de mí que no conocía.

A Lu G.F., la primera en recibirme y darme la bienvenida, ayudándome en la adaptación. Continuó siendo un pilar fundamental en mi paso por el CIDCA. Hoy agradezco nuestra amistad, que trasciende cualquier colaboración profesional, y nuestro compartido amor por los gatos.

A las hermanas que me dio la vida: Mica, Luli y Marti. Hemos compartido risas, llantos y sueños durante muchísimos años. A Mica, porque a pesar de estar a 600 km de distancia, seguimos estando muy cerca. A Luli, porque me desafiaba

constantemente a abrir la cabeza, y me escucha sin juzgar. A Marti, por ser mi medio durazno, y recordarme la importancia de jugársela por lo que uno desea.

A mis tías, Jime y Cris, que siempre han creído en mí, y apuestan por mi formación brindando una hermosa sensación de bienestar.

A mi abuela Mirta, que publicaba cada logro en el diario (cosas de pueblo) para que sus amigas supieran lo orgullosa que estaba de su nieta. Hoy ya no está en este plano, pero sé que me guía y acompaña en cada decisión.

A mis bebés, Kaiser y Nala, que con un mimo me reinician la vida y hacen que todo valga la pena.

A mi hermana, Caro, que me inspira con su visión de la vida para animarme a hacer cosas nuevas.

A mi papá, Carlos, del que aprendo siempre y me desafía a ser mejor persona en cada aspecto de la vida.

Y a mi mamá, Karina, la primera persona que llamo cuando tengo alguna noticia, sea buena o mala, que me acompaña y se enorgullece de cada paso que doy, y que con su abrazo hace que todo sea más liviano, brindando todo su amor.

Publicaciones

Durante el desarrollo del presente Trabajo de Tesis se publicaron los siguientes artículos en revistas científicas internacionales:

- “Effect of thermal and ultrasonic treatments on technological and physicochemical characteristics of fibrous residues from ahipa and cassava starch extraction.” Strack, K. N., Dini, C., García, M. A., & Viña, S. Z. (2021). *Future Foods*, 4, 100057.
- “Autoclaving and ultrasonication for reducing digestible starch in cassava pulp: modification of cell wall composition, sorption properties, and resistant starch content.” Strack, K. N., García, M. A., Cabezas, D. M., Viña, S. Z., & Dini, C. (2023). *International Journal of Food Science & Technology*, 58(9), 4911-4919.

En congresos:

- “Componentes anatómicos de residuos fibrosos obtenidos a partir de raíces de ahipa procesadas.” Strack, K.N.; Colares M; Arambarri, A.M.; Viña, S. Z. Artículo breve en Revista del VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICyTAC, 2018). Córdoba, Argentina.
- “Purificación del residuo fibroso de la extracción de almidón de ahipa (*Pachyrhizus ahipa*) con fines alimentarios.” Strack, K.N.; García, M.A.; Dini, C.; Viña, S.Z. Artículo breve en Revista del VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICyTAC, 2018). Córdoba, Argentina.
- “Composición y propiedades tecnológicas de productos enriquecidos en fibra provenientes de raíces tuberosas.” Strack, K.N.; Dini, C.; García, M.A.; Viña, S.Z. Artículo completo en Libro del XXI Congreso Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de alimentos & XVII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los alimentos (CyTAL-ALACCTA, 2019). Buenos Aires, Argentina.
- “Modificación de propiedades tecno-funcionales de residuos fibrosos de mandioca por efecto de tratamientos físicos.” Strack, K.N.; García, M.A.;

Dini, C.; Viña, S.Z. Artículo breve en Revista del VIII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICyTAC, 2022). Córdoba, Argentina.

- “Fracciones fibrosas provenientes de raíces de ahípa (*Pachyrhizus ahípa*) como potencial ingrediente alimentario.” Strack, K.N.; García, M.A.; Viña, S.Z.; Dini, C. Artículo breve en Revista del VIII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICyTAC, 2022). Córdoba, Argentina.
- Reutilización de cáscara de *Pachyrhizus ahípa* como emulsificante en la formulación de emulsiones Pickering O/W. Artículo breve en la Revista del XVIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los alimentos (CyTAL, 2023). Buenos Aires, Argentina.

En otros medios de divulgación:

- “Revalorización de residuos fibrosos de raíces tuberosas para su uso en alimentos.” Strack, K.N.; Dini, C.; García, M.A.; Viña, S.Z. Resumen en Revista del Seminario de Fuentes No Tradicionales de Fibra Dietaria (FANUS, 2019). Buenos Aires, Argentina.
- “Revalorización de residuos fibrosos provenientes de raíces tuberosas: efecto de tratamiento térmico y ultrasonido.” Strack, K.N.; Dini, C.; García, M.A.; Viña, S.Z. Resumen en Revista del Primer Taller de Biotecnología Aplicada a la Tecnología de Alimentos (2019). Universidad Tecnológica Nacional de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.
- “Tratamientos compatibles con el uso alimentario aplicados a los residuos fibrosos de la extracción de almidón de raíces de ahípa y mandioca.” Strack, K.N. Artículo completo en la Revista del Primer Encuentro Virtual de Jóvenes Investigadores de la Asociación de Universidades Grupo Montevideo (2020). Santiago de Chile, Chile.

Asimismo, se obtuvo una mención especial en el Premio de Fundación Argentina a la calidad agroalimentaria y al valor agregado (Convocatoria 2021) con el trabajo titulado: "Aprovechamiento de las fracciones fibrosas remanentes del procesamiento agroindustrial de raíces de mandioca". Integrantes: Lic. Karen Strack, Dras. María Alejandra García, Cecilia Dini y Sonia Viña. Fecha de entrega: diciembre de 2022.

Resumen

Las raíces y tubérculos (R&T) son descritos como alimentos básicos debido a su aporte de almidón y sus calorías derivadas y, además, pueden ser utilizados como fuente de fibra dietaria (FD). Considerando el creciente interés de los consumidores en llevar una alimentación saludable, así como el de la industria en el desarrollo de métodos de procesamiento para mejorar la funcionalidad de los alimentos, resulta importante el estudio de las R&T y la aplicación de tecnologías amigables con el medio ambiente, para la formulación de matrices alimentarias que cumplan con estos requerimientos y tendencias.

La ahípa (*Pachyrhizus ahípa*) y la mandioca (*Manihot esculenta*) producen raíces tuberosas donde almacenan almidón como polisacárido de reserva (45-65 % y 67-82 % en base seca, respectivamente), y tienen un contenido de fibra dietaria total (FDT) de 21-26 % (en ahípa) y 4-7 % (en mandioca) en base seca. En nuestro país, la mandioca se destaca por su desarrollo productivo y el volumen industrializado, principalmente en la provincia de Misiones, con destino al autoconsumo, al abastecimiento de la comercialización del producto en fresco y a proveer a la industria local. La ahípa, contrariamente, no alcanza actualmente una escala productiva de relevancia, aunque presenta características que la convierten en un cultivo novedoso de interés agroindustrial. El procesamiento de estas materias primas acarrea la generación de subproductos con potencial uso en alimentos funcionales como, por ejemplo, el bagazo de la extracción de almidón.

Dado que la ahípa es una raíz menos caracterizada que la mandioca, se estudió su morfología y se realizó un análisis químico de la parte interna de la misma (cilindro central) y de la cáscara. Esta última presentó un mayor contenido de lípidos, proteínas y oxalatos que el tejido interno. Para obtener información útil a fines de un potencial procesamiento de las raíces de ahípa para la extracción de su almidón, se obtuvieron los residuos fibrosos luego de seis extracciones acuosas de dicho polisacárido a partir de raíces peladas, se les aplicaron tratamientos físicos (en autoclave y con ultrasonido) y, por último, se trataron químicamente con agentes quelantes (EDTA y oxalato de sodio). Los residuos o bagazos se caracterizaron cuantificando almidón fácilmente extraíble, proteínas,

pectinas, compuestos fenólicos y oxalatos. Tanto las extracciones acuosas como los tratamientos físicos contribuyeron a la remoción gradual del almidón, pero no se observaron disminuciones adicionales en el contenido de dicho polisacárido con el tratamiento químico, por lo que este paso no fue considerado necesario. A partir de la información obtenida, se analizó el efecto de los tratamientos físicos, aplicados de manera conjunta e individual luego de las extracciones acuosas, en residuos fibrosos obtenidos de raíces de ahípa y también de mandioca. Ambos tratamientos (autoclavado y sonicación) facilitaron la remoción de almidón, principalmente el realizado en autoclave, y generaron modificaciones en la estructura de las fibras, especialmente en las derivadas de mandioca. Los residuos de ahípa presentaron valores mayores en las propiedades de sorción de agua y aceite, aunque no se observaron diferencias entre los distintos tratamientos, como sí ocurrió para los residuos de mandioca. Los tratamientos evaluados generaron cambios en la composición de lignocelulosa y hemicelulosa, asociados a las propiedades de sorción y la morfología de los residuos de mandioca. Todos los bagazos presentaron un relativamente alto contenido de FDT (27,2-32,3 % para los de ahípa y 14,5-21,4 % para los de mandioca). Si bien con la combinación de autoclave y ultrasonido se observaron diferencias en algunas propiedades al comparar los distintos residuos, el ultrasonido por sí mismo no produjo cambios significativos respecto al residuo de las extracciones acuosas. Se concluyó así que la mayor contribución a las modificaciones estructurales y fisicoquímicas se asocian a la acción del tratamiento térmico a presión (autoclave).

Para estudiar posibles aplicaciones de los residuos fibrosos tal como fueron obtenidos, se formularon emulsiones gruesas O/W (30/70) empleándolos como ingredientes que aporten fibra dietaria a este tipo de matrices. La inclusión de los bagazos de mandioca mostró ligera estabilidad de las emulsiones obtenidas, la cual se vio potenciada con el tratamiento con ultrasonido de las dispersiones acuosas, previo a la homogeneización con aceite. Dado que el comportamiento de los residuos fibrosos de ahípa no mostró aptitud para la estabilización de las emulsiones gruesas ensayadas, se caracterizó con mayor detalle la cáscara de las raíces de ahípa, obteniendo un material capaz de interactuar indistintamente con fases acuosas y lipídicas, reflejado en sus altas propiedades de sorción, que se consideraron potencialmente propicias para la formulación de

emulsiones. Por ello, se analizaron dispersiones acuosas de la cáscara de ahipa a distintos pHs (3, 5 y 7) para la obtención de emulsiones, observando que las dispersiones preparadas a pH 3 (valor inferior al pI de las proteínas de esta especie) mejoraron la estabilidad del sistema ensayado.

Considerando los resultados obtenidos, los residuos fibrosos de raíces tuberosas de ahipa y mandioca podrían ser utilizados como ingredientes en la formulación de alimentos funcionales, contribuyendo a la revalorización de estos cultivos y al uso de subproductos con el consiguiente beneficio económico y ambiental derivado.

Índice

INTRODUCCIÓN GENERAL	7
1. REVALORIZACIÓN DE RAÍCES Y TUBÉRCULOS (R&T) Y DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES	8
1.1. <i>Alimentos libres de gluten</i>	9
1.2. <i>Alimentos ricos en fibra dietaria</i>	10
2. CULTIVOS DE AHIPA Y MANDIOCA	12
2.1. <i>Pachyrhizus ahipa</i>	12
2.2. <i>Manihot esculenta</i>	14
3. COMPONENTES QUÍMICOS RELEVANTES EN R&T	16
3.1. <i>Almidón</i>	16
3.2. <i>Componentes de la pared celular</i>	18
3.3. <i>Fibra dietaria</i>	23
4. PROCESAMIENTO DE RAÍCES TUBEROSAS	24
CAPÍTULO 1	26
1. INTRODUCCIÓN.....	27
2. OBJETIVOS	30
3. MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1. <i>Material vegetal</i>	31
3.2. <i>Caracterización de las raíces</i>	32
3.2.1. Componentes estructurales.....	32
3.2.2. Obtención de harina y cáscara de ahipa	33
3.2.3. Caracterización química.....	34
3.2.3.1. Contenido de humedad	34
3.2.3.2. Fracción lipídica	35
3.2.3.3. Cuantificación de proteínas	35
3.2.3.4. Cuantificación de oxalatos.....	38
3.3. <i>Extracción de almidón y obtención de residuos fibrosos</i>	39
3.4. <i>Análisis microscópicos de los residuos fibrosos</i>	41
3.5. <i>Análisis químicos</i>	41
3.5.1. Cuantificación de almidón remanente fácilmente extraíble	41
3.5.2. Cuantificación de proteínas	42
3.5.3. Contenido de pectinas	42
3.5.4. Cuantificación de compuestos fenólicos.....	43
3.5.5. Contenido de oxalatos	44
3.6. <i>Medida de color</i>	45
3.7. <i>Espectros ATR-FTIR (Reflectancia total atenuada- Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier)</i>	47
3.8. <i>Análisis estadístico</i>	48
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.1. <i>Caracterización de las raíces</i>	48
4.1.1. Componentes estructurales de las raíces	48
4.1.2. Caracterización química de los tejidos internos (cilindro central) y externos (cáscaras).....	59
4.1.2.1. Contenido de humedad y materia seca.....	60
4.1.2.2. Fracción lipídica	60
4.1.2.3. Cuantificación de proteínas.....	61
4.1.2.4. Cuantificación de oxalatos.....	62
4.2. <i>Caracterización de los residuos fibrosos de la extracción de almidón del cilindro central ...</i>	63
4.2.1. Análisis microscópicos de los residuos fibrosos	64
4.2.2. Análisis químicos de los residuos	66
4.2.2.1. Cuantificación de almidón remanente fácilmente extraíble	66
4.2.2.2. Contenido de proteínas.....	69

4.2.2.3.	Contenido de pectinas.....	70
4.2.2.4.	Cuantificación de compuestos fenólicos	71
4.2.2.5.	Contenido de oxalatos.....	72
4.2.3.	Medida de color	73
4.2.4.	Espectros ATR-FTIR	74
5.	CONCLUSIONES.....	77
CAPÍTULO 2.....		79
1.	INTRODUCCIÓN.....	80
2.	OBJETIVOS	85
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	85
3.1.	<i>Material vegetal, obtención de residuos fibrosos y tratamientos físicos aplicados.....</i>	<i>85</i>
3.2.	<i>Análisis microscópicos.....</i>	<i>87</i>
3.3.	<i>Propiedades fisicoquímicas.....</i>	<i>88</i>
3.3.1.	Contenido de humedad, densidad aparente, capacidad de hinchamiento, capacidad de absorción y de retención de agua	88
3.3.2.	Capacidad de retención de aceite (CRAC)	90
3.4.	<i>Análisis químicos.....</i>	<i>90</i>
3.4.1.	Cuantificación de almidón remanente fácilmente extraíble.....	90
3.4.2.	Cuantificación de compuestos fenólicos	90
3.4.3.	Contenido de grupos carbonilos y carboxilos	91
3.5.	<i>Medida de color</i>	<i>93</i>
3.6.	<i>Tamaño de partícula.....</i>	<i>93</i>
3.7.	<i>Potencial zeta (ζ).....</i>	<i>94</i>
3.8.	<i>Análisis por difracción de rayos X</i>	<i>95</i>
3.9.	<i>Espectros ATR-FTIR (Reflectancia total atenuada - Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier).....</i>	<i>96</i>
3.10.	<i>Propiedades reológicas.....</i>	<i>96</i>
3.11.	<i>Caracterización de los residuos fibrosos obtenidos de un nuevo ciclo de cultivo</i>	<i>98</i>
3.11.1.	Contenido de humedad, proteínas y cenizas	98
3.11.2.	Cuantificación de almidón remanente fácilmente extraíble y total	98
3.11.3.	Cuantificación de fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA)	100
3.11.4.	Contenido de Fibra Dietaria Total (FDT), Insoluble (FDI) y Soluble (FDS).....	102
3.11.5.	Solubilidad del almidón	104
3.11.6.	Análisis termogravimétrico (TGA).....	106
3.12.	<i>Análisis estadístico.....</i>	<i>106</i>
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	107
4.1.	<i>Análisis microscópicos.....</i>	<i>107</i>
4.2.	<i>Propiedades fisicoquímicas.....</i>	<i>109</i>
4.3.	<i>Análisis químicos.....</i>	<i>113</i>
4.3.1.	Cuantificación de almidón remanente fácilmente extraíble.....	113
4.3.2.	Contenido de compuestos fenólicos.....	113
4.3.3.	Contenido de carbonilos y carboxilos	117
4.4.	<i>Medida de color</i>	<i>118</i>
4.5.	<i>Tamaño de partículas</i>	<i>118</i>
4.6.	<i>Potencial zeta (ζ).....</i>	<i>120</i>
4.7.	<i>Análisis de Difracción por rayos X.....</i>	<i>121</i>
4.8.	<i>Espectros ATR-FTIR</i>	<i>123</i>
4.9.	<i>Propiedades reológicas.....</i>	<i>124</i>
4.10.	<i>Composición y propiedades de residuos obtenidos de raíces del nuevo ciclo de cultivo</i>	<i>130</i>
4.10.1.	Caracterización química de los nuevos residuos de ahipa y mandioca. Efecto del orden de los tratamientos físicos en mandioca.....	130
4.10.1.1.	Contenido de humedad	130
4.10.1.2.	Cuantificación de almidón remanente fácilmente extraíble y total.....	130
4.10.1.3.	Contenido de Fibra Dietaria Total (FDT), Insoluble (FDI) y Soluble (FDS).....	133

4.10.1.4. Cuantificación de fibra detergente neutro por pretratamiento con α -amilasa pancreática porcina (FDN-APP)	134
4.10.2. Composición de los residuos seleccionados	136
4.10.2.1. Determinación de las fracciones de hemicelulosa y lignocelulosa	136
4.10.2.2. Contenido de proteínas	137
4.10.2.3. Contenido de cenizas	138
4.10.3. Solubilidad del almidón de mandioca en los residuos luego de los tratamientos físicos	139
4.10.4. Análisis termogravimétrico (TGA) de los residuos de mandioca luego de los tratamientos físicos	140
5. CONCLUSIONES	142
CAPÍTULO 3.....	144
1. INTRODUCCIÓN	145
2. OBJETIVOS	149
3. MATERIALES Y MÉTODOS	149
3.1. <i>Material vegetal</i>	149
3.2. <i>Formulación de emulsiones con residuos fibrosos de la extracción de almidón</i>	150
3.2.1. Preparación de dispersiones	150
3.2.2. Preparación de emulsiones	151
3.2.2.1. Homogeneización de las fases acuosa y dispersa	151
3.2.2.2. Análisis de la estabilidad de las emulsiones por dispersión múltiple de luz	151
3.2.2.3. Distribución del tamaño de partículas	153
3.3. <i>Composición y propiedades emulsificantes de la cáscara de raíces de ahípa</i>	153
3.3.1. Composición química	153
3.3.1.1. Contenido de humedad	153
3.3.1.2. Contenido de proteínas	153
3.3.1.3. Contenido de cenizas	154
3.3.1.4. Fracción lipídica	154
3.3.1.5. Contenido de fibra dietaria total	154
3.3.1.6. Cuantificación de compuestos fenólicos	155
3.3.2. Medida de color	155
3.3.3. Observaciones microscópicas	155
3.3.4. Propiedades de sorción: capacidad de hinchamiento, capacidad de absorción y de retención de agua, y capacidad de retención de aceite	155
3.3.5. Ángulo de contacto	156
3.3.6. Formulación de emulsiones	157
3.3.6.1. Preparación de dispersiones	157
3.3.6.2. Compuestos fenólicos en dispersión acuosa	157
3.3.6.3. Preparación de emulsiones	158
3.3.6.4. Análisis de la estabilidad de la emulsión por dispersión múltiple de luz	158
3.3.6.5. Distribución del tamaño de partículas	158
3.3.6.6. Observaciones microscópicas de las emulsiones	158
3.4. <i>Análisis estadístico</i>	159
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	159
4.1. <i>Formulación de emulsiones con residuos fibrosos de la extracción de almidón de ahípa y mandioca</i>	159
4.1.1. Evaluación visual de la estabilidad de las emulsiones	159
4.1.2. Evaluación de la estabilidad de emulsiones formuladas con residuos de mandioca por análisis en Turbiscan	161
4.1.3. Efecto del sonicado de las suspensiones de residuos de mandioca sobre la estabilidad de las emulsiones	166
4.2. <i>Composición y propiedades emulsificantes de la cáscara de la raíz de ahípa</i>	169
4.2.1. Rendimiento, color y morfología de las cáscaras de ahípa molidas	169
4.2.2. Composición química de las fracciones de cáscara de ahípa molida	171
4.2.2.1. Composición proximal	171
4.2.2.2. Contenido de fibra dietaria total (FDT) y compuestos fenólicos	174
4.2.3. Propiedades de sorción	175
4.2.4. Ángulo de contacto	177

4.2.5. Emulsiones formuladas con la fracción fina de la cáscara de ahipa	180
4.2.5.1. Determinación de compuestos fenólicos en la dispersión acuosa	180
4.2.5.2. Caracterización de las emulsiones	181
4.2.5.3. Observaciones microscópicas de las emulsiones	188
5. CONCLUSIONES	191
ANEXO	193
1. INTRODUCCIÓN	194
2. OBJETIVO	195
3. MATERIALES Y MÉTODOS	195
3.1. <i>Obtención del bagazo o “afrecho” de mandioca</i>	195
3.2. <i>Caracterización física de los residuos</i>	197
3.2.1. Distribución de tamaño de partículas	197
3.2.2. Medida de color.....	198
3.3. <i>Caracterización química</i>	198
3.3.1. Contenido de humedad	198
3.3.2. Contenido de almidón total.....	199
3.3.3. Contenido de proteínas	199
3.3.4. Fracción lipídica	199
3.3.5. Compuestos fenólicos.....	199
3.4. <i>Propiedades de sorción</i>	199
4. RESULTADOS	199
4.1. <i>Caracterización física</i>	200
4.2. <i>Caracterización química</i>	201
4.3. <i>Propiedades de sorción</i>	203
5. CONCLUSIONES	205
CONCLUSIONES GENERALES.....	206
BIBLIOGRAFÍA	211

Listado de abreviaturas

A: residuo fibroso de ahipa luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas (Cap. 2)

A1: residuo fibroso de ahipa luego de la obtención de almidón a partir de una extracción acuosa (Cap. 1)

A6: residuo fibroso de ahipa luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas (Cap. 1)

AA: residuo fibroso de ahipa luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas sometido a tratamiento en autoclave (Cap. 2)

AAU: residuo fibroso de ahipa luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas sometido a tratamientos en autoclave y ultrasonido (Cap. 2)

AEO: residuo fibroso de ahipa luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas sometido a tratamientos físicos y químico (EDTA + oxalato) (Cap. 1)

AG: ácido galacturónico

ATF: residuo fibroso de ahipa luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas sometido a tratamientos físicos (autoclave y ultrasonido) (Cap. 1)

EAG: equivalentes de ácido gálico

FD: fibra dietaria

FDA: fibra detergente ácido

FDI: fibra dietaria insoluble

FDN: fibra detergente neutro

FDN-APP: fibra detergente neutro pretratada con α -amilasa pancreática porcina

FDN-BL: fibra detergente neutro pretratada con α -amilasa termoestable de *Bacillus licheniformis*

FDS: fibra dietaria soluble

FDT: fibra dietaria total

FF: fracción fina de la cáscara de ahipa (Cap. 3)

FG: fracción gruesa de la cáscara de ahipa (Cap. 3)

FTE: compuestos fenólicos totales extraíbles

M: residuo fibroso de mandioca luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas (Cap. 2)

M_{sonic}: residuo fibroso de mandioca luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas, con un posterior tratamiento de sus dispersiones acuosas (para formular emulsiones) con ultrasonido (Cap. 3)

MA: residuo fibroso de mandioca luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas sometido a tratamiento en autoclave (Cap. 2)

MA_{sonic}: residuo fibroso de mandioca luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas, con un posterior tratamiento de sus dispersiones acuosas (para formular emulsiones) con ultrasonido (Cap. 3)

MAU: residuo fibroso de mandioca luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas sometido a tratamientos en autoclave y ultrasonido (Cap. 2)

MU: residuo fibroso de mandioca luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas sometido a tratamiento con ultrasonido (Cap. 2)

MUA: residuo fibroso de mandioca luego de la obtención de almidón a partir de seis extracciones acuosas sometido a tratamiento con ultrasonido y autoclave (Cap. 2)

RC: residuo fibroso proveniente de la Cooperativa CAISA.

R&T: raíces y tubérculos



Introducción general



1. Revalorización de raíces y tubérculos (R&T) y de residuos agroindustriales

El crecimiento de la población mundial que, según un reporte de las Naciones Unidas, llegará a 8.600 millones de habitantes en el año 2030 (ONU, 2022) ejerce una presión sobre la disponibilidad de los recursos frente a la que resulta necesario implementar los principios de la economía circular. En ésta, el valor de los productos, los materiales y los recursos permanecen en la economía durante el mayor tiempo posible, y se minimiza la generación de residuos (Suárez-Eiroa et al., 2019). Aplicar este enfoque al procesamiento de productos vegetales y la producción de alimentos implica el empleo de procesos de extracción y recuperación de compuestos de interés y la valorización de los residuos y de los subproductos.

A su vez, el envejecimiento de la población y el marcado aumento en la expectativa de vida de las personas, desencadenan nuevas problemáticas para la salud que se vinculan con la industria alimentaria (ONU, 2022). Se amplía permanentemente la demanda de alimentos y suplementos dietéticos funcionales de acción preventiva, fisiológicamente activos, destinados a diferentes grupos vulnerables de la población y se incrementará, por lo tanto, el desarrollo de productos saludables, nutricionalmente diferenciados, destinados a poblaciones con necesidades específicas (pacientes celíacos, hipertensos, diabéticos, con riesgo de disminución de masa ósea, entre otros).

Frente a las patologías asociadas a malos hábitos alimentarios, que tienen cada vez mayor incidencia, resulta imperioso diversificar las dietas y aumentar el consumo de nutrientes. Se ha señalado en muchas oportunidades que la elevada proporción de productos ultraprocesados en la alimentación se asocia sistemáticamente con un mayor riesgo de ingesta inadecuada de nutrientes críticos y con el desarrollo de sobrepeso, obesidad y otras enfermedades no transmisibles (Machado et al., 2020).

Por otra parte, las dietas veganas, que excluyen completamente a los alimentos y subproductos de origen animal, han ganado popularidad, especialmente en la última década y en el segmento de la población referido como *millennials*. Se ha observado que las dietas veganas tienen un menor aporte de proteínas en

comparación con los demás tipos de regímenes alimentarios y que el veganismo se asocia también con déficits de ciertas vitaminas y minerales (Bakaloudi et al., 2021). Es necesario, por lo tanto, evaluar exhaustivamente este tipo de dietas y promover el desarrollo de alternativas alimentarias de origen vegetal que permitan su adecuación a las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud, en lo que respecta a la ingesta de macro y micronutrientes.

Una vía para contribuir a resolver estas cuestiones es el agregado de valor a materias primas tradicionales y, simultáneamente, la evaluación de nuevas fuentes alimentarias provenientes de cultivos subutilizados, que conduzcan a diversificar la ingesta. Las raíces y tubérculos (R&T) constituyen una alternativa de interés ya que, además de proporcionar almidón y fibra, son naturalmente libres de gluten y, según el caso, presentan beneficios derivados de ciertas propiedades bioactivas (Chandrasekara, 2018).

1.1. Alimentos libres de gluten

Un grupo poblacional con necesidades nutricionales específicas es el de las personas celíacas. La celiaquía es una enfermedad crónica, inmunomediada y sistémica, desencadenada por la ingesta de gluten (proteínas compuestas por gliadinas y gluteninas) del trigo, avena, cebada y centeno (TACC), que afectan principalmente al intestino delgado. La prevalencia de esta enfermedad en la población general es del 1%. Es más frecuente en las mujeres y puede manifestarse a cualquier edad (Ministerio de Salud de la Nación, 2017). Existe asimismo una afección denominada “intolerancia al gluten no celíaca” en la cual las personas experimentan trastornos similares a los de la celiaquía, pero presentan resultados negativos en las pruebas diagnósticas para dicha enfermedad (Valenti et al., 2017). Hasta el momento, el único tratamiento para estas afecciones es la dietoterapia, es decir, mantener una ingesta estrictamente libre de gluten de por vida.

Para los pacientes celíacos resulta difícil lograr un balance nutricional adecuado, ya que además de evitarse los panificados que contienen TACC, es necesario dejar de consumir una amplia gama de productos, dado que las harinas y almidones derivados de cereales TACC también se usan como espesantes y para dar textura a diversos alimentos como aderezos, salsas, postres lácteos, etc.

La creciente demanda de productos libres de gluten, atribuida al aumento en el diagnóstico de trastornos relacionados con este grupo de proteínas y a la elección consciente de ciertos consumidores de eliminar el gluten de sus dietas, ha establecido a la producción de alimentos sin TACC como una de las ramas de crecimiento dinámico en la industria alimentaria. Las R&T contribuyen también a ampliar la oferta de materias primas e ingredientes libres de gluten, proporcionando almidones, harinas y fibras aptas para su incorporación en este tipo de productos.

1.2. Alimentos ricos en fibra dietaria

Con el creciente interés en las terapias naturales y en los planes de alimentación saludable, la recomendación de un mayor consumo de fibra dietaria (FD) va en aumento. Los alimentos vegetales son la fuente de FD por excelencia. Particularmente, gran parte de las fracciones componentes de la fibra (celulosa, lignina, hemicelulosas, pectinas, gomas, mucílagos) son los principales constituyentes de la pared celular vegetal (Morales de la Peña et al., 2020). La fibra dietaria juega un rol importante en la disminución del riesgo de desórdenes fisiológicos y metabólicos tales como constipación, diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares y diverticulosis (Jia et al., 2020), motivo por el cual ha sido incorporada en una amplia variedad de alimentos, fundamentalmente en lácteos, carnes, pescado y productos de panadería (Rosell et al., 2009a). Las funciones fisiológicas de la fibra dietaria son frecuentemente atribuidas a sus propiedades fisicoquímicas (viscosidad, capacidad de absorción de agua, hinchamiento o combinación con lípidos), a sus propiedades reológicas y a la susceptibilidad a la degradación bacteriana o fermentación.

Una mayor ingesta de fibra se ha relacionado con una mejora en la sensibilidad a la insulina, el perfil lipídico y la función endotelial. También se asocia a la reducción de la inflamación y la modulación de la disbiosis intestinal (Yang et al., 2020; Sharpton et al., 2021).

La aparición de nuevas fuentes de fibra dietaria, junto con el desarrollo de métodos de procesamiento para mejorar su funcionalidad, abre nuevas posibilidades para diseñar alimentos enriquecidos en fibra. Constituye un desafío para la industria fomentar la producción de productos ricos en fibra y el consumo

regular en una gama cada vez mayor de estos alimentos (Redgwell & Fischer, 2005).

Dentro de las materias primas alimentarias de origen vegetal, las raíces y tubérculos (R&T) se describen como alimentos básicos por su aporte de almidón y las calorías derivadas, especialmente en países de regiones tropicales y subtropicales (Wani et al., 2017), pero poco se ha señalado sobre su uso como fuentes de fibra dietaria y de compuestos bioactivos (Rinaldo, 2020).

Los cultivos de R&T pueden formar diversos tipos de estructuras de almacenamiento subterráneas, como tubérculos, raíces principales pivotantes, raíces tuberosas (como en los casos de la mandioca y la ahípa), estructuras de transición entre hipocótilo y raíz, rizomas, cormos, entre otras (**Figura I.1**). La mayoría de estos cultivos se caracterizan por tener altos niveles de humedad (68–82%) y carbohidratos (16–30%), y niveles bajos de proteínas (0,1–2,0%) y lípidos (0,1–0,9%) (Nabeshima et al., 2020). Aunque el alto contenido de humedad facilita el procesamiento para la extracción de almidón, también hace que las R&T sean muy perecederas después de la cosecha.

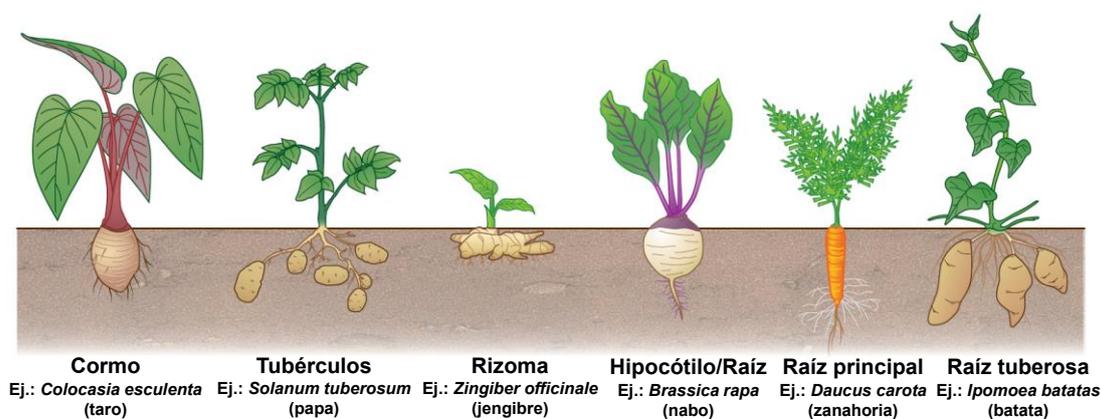


Figura I.1. Diferentes órganos de almacenamiento presentes en cultivos de raíces y tubérculos (R&T).

Fuente: Zierer et al. (2021)

La mayor parte de las R&T presenta almidón como carbohidrato de reserva, aunque algunas son también ricas en azúcares libres o fibras solubles. El contenido de fibra de las R&T está relacionado, además de la fuente botánica, con el cultivar y la época de cosecha. Por ejemplo, cuando las raíces de

mandioca permanecen en el suelo después de la etapa de madurez, la lignificación de las raíces las torna duras y fibrosas, perjudicando así el uso industrial para la producción de almidón y harina. En general, presentan contenidos proteicos reducidos, que sólo son importantes para el consumo en grandes cantidades, por ejemplo, por parte de poblaciones de bajos ingresos que no cuentan con otras fuentes de proteínas. En general, las proteínas de esta fuente no son consideradas de alto valor biológico, ya que carecen de ciertos aminoácidos, como lisina, metionina y treonina, dependiendo del tipo de cultivo.

2. Cultivos de ahípa y mandioca

Tanto la ahípa (*Pachyrhizus ahípa*) como la mandioca (*Manihot esculenta*) representan materias primas muy interesantes, potencialmente complementarias, para el desarrollo de alimentos con propiedades tecnofuncionales de calidad.

2.1. *Pachyrhizus ahípa*

La ahípa (*Pachyrhizus ahípa* (Wedd.) Parodi) es una planta perteneciente a la familia *Fabaceae* o *Leguminosae*, que produce raíces tuberosas (**Figura 1.2**). Es nativa de Sudamérica y actualmente se produce, a muy pequeña escala, en las regiones de los valles andinos. Sin embargo, podría extenderse a otras regiones agroecológicas con relativa facilidad por su adaptabilidad (López et al., 2012). El rendimiento en la producción de ahípa depende de las accesiones¹ utilizadas, y las fechas y densidades de siembra, entre otros factores (López et al., 2012), pero están comprendidos entre 10,7 y 20,8 t/ha, aproximadamente (López et al., 2010). En la producción de mandioca, el rendimiento también se ve afectado por las distintas condiciones de cultivo, y varía entre 19,2-28,2 t/ha (Polthanee, Janthajam & Promkhambut, 2014). En el caso de la papa, si bien algunos países como Estados Unidos, Francia y Alemania pueden alcanzar rendimientos de hasta 45 t/ha, el promedio para la mayoría de los países es de aproximadamente 20 t/ha (Koch et al., 2020).

¹ Una accesión es un lote de semillas de una especie, recolectadas en un sitio particular y en un momento dado. Se lo identifica con un código de recolección que acompaña al lote desde que se obtiene en el terreno hasta su conservación definitiva.



Figura 1.2. A) Plantas de ahípa con su parte aérea y raíces (gentileza Ing. Agr. Pablo Rohatsch EEA INTA-Montecarlo, Misiones, 2021). **B)** Raíces de ahípa lavadas y cortadas transversalmente.

Las raíces tuberosas de ahípa presentan en su interior un color blanco, en algunos casos con puntos de color púrpura o violeta, debido a la presencia de antocianinas (Dini et al., 2020), y un sabor dulce derivado del contenido de azúcares libres, con una textura crujiente, semejante a la de una manzana (López et al., 2012). Es una especie subutilizada que se consume sólo en pequeñas comunidades de la zona andina. Generalmente las raíces se comen crudas en bocadillos y ensaladas o también pueden ser hervidas y acompañar platos de forma similar a la mandioca, la papa o la batata, así como incluirse en sopas, salteados o conservas.

La ahípa almacena entre 43-65 % de almidón (en base seca) como polisacárido de reserva en sus raíces (Dini et al., 2013), siendo así una materia prima que puede presentar potencialidad de uso a nivel industrial.

Sus raíces contienen una cantidad relativamente alta de proteínas respecto a otras R&T (8-11% base seca), debido a la simbiosis con bacterias del grupo de los rizobios que posibilitan la fijación del N₂ atmosférico (Rodríguez-Navarro et al., 2000), lo que deriva en un requerimiento reducido de fertilizantes que aporten nitrógeno. Siendo estas proteínas no-gliadinas, la ahípa resulta apta como ingrediente para la elaboración de productos libres de gluten. También presenta

un alto contenido de fibra dietaria total que oscila entre 20,8-25,9 % de la materia seca, dependiendo de la accesión (Dini et al., 2013). Esto puede fomentar también su utilización para producir alimentos ricos en fibra, como se mencionó previamente.

En el presente Trabajo de Tesis se emplearon raíces de ahípa cultivadas en la provincia de Misiones, a partir del contacto establecido en el año 2004 con profesionales de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Montecarlo del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Los materiales corresponden a las accesiones IRNAS 9, 11 y 13. La denominación IRNAS hace referencia a que su origen es el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (España). Estos materiales fueron ensayados y evaluados periódicamente en la EEA-INTA Montecarlo (Ings. P. H. Rohatsch y H. E. Fassola), y provistos originalmente por el Dr. E. Leidi (IRNAS, Sevilla, España).

En los ensayos de evaluación conducidos por los profesionales de la EEA-INTA Montecarlo, las siembras se realizaron desde mediados de agosto hasta principios de diciembre, con los mejores resultados (emergencia más rápida y uniforme) obtenidos para las de mediados de septiembre a principios de noviembre. Generalmente, alrededor de un mes y medio después de la siembra las plantas comienzan a florecer y continúan produciendo flores hasta fines de marzo-abril (cuando desciende la temperatura en la región). Por lo común, en mayo se inicia el detenimiento del crecimiento y posteriormente la muerte de la parte aérea, considerando ese momento como el más indicado para la cosecha de las raíces, siendo la duración total del ciclo de entre 7 y 8 meses.

2.2. *Manihot esculenta*

La mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), perteneciente a la familia *Euphorbiaceae*, es un arbusto semileñoso que prospera en regiones tropicales y subtropicales. Se adapta a períodos de sequía y a una fertilidad relativamente baja del suelo, lo que la convierte en un cultivo de elección en el contexto de la adaptación al cambio climático (**Figura I.3**).

Actualmente, en Argentina, el cultivo de mandioca se lleva a cabo en la región noreste (NEA), en las provincias de Corrientes, Chaco, Formosa y Misiones, donde constituye un cultivo regional, de arraigo cultural y relevancia

socioeconómica (Burgos, 2018). Según datos suministrados por la División Estadísticas de la FAO, en el año 2021 se cultivaron en nuestro país unas 19.890 hectáreas de mandioca, alcanzando una producción de 196.465 toneladas (FAOSTAT, 2023).



Figura I.3. A) Planta de mandioca incluyendo la parte aérea y las raíces. **B)** Cosecha de raíces.

Fuente: gentileza Ing. Agr. Pablo Rohatsch, EEA INTA-Montecarlo, Misiones, 2021.

La mandioca es una fuente de almidón libre de gluten, cuyo contenido varía entre 67-82 % en base seca (Niba et al., 2006). Es por ello que su harina es utilizada para la elaboración de panificados aptos para celíacos. La fibra dietaria total conforma el 4-7 % de la materia seca, y las proteínas entre 1-2 % (Charles et al., 2005).

3. Componentes químicos relevantes en R&T

3.1. Almidón

El almidón es un polisacárido de reserva energética y de carbono que en los tejidos vegetales se presenta en forma de gránulos. El tamaño, forma y estructura de los mismos difieren según la fuente botánica de la cual provienen. Está compuesto principalmente por dos polímeros de glucosa: amilosa y amilopectina (**Figura I.4**). Tanto la amilosa como la amilopectina son polímeros de residuos de α -D-glucosa unidos por enlaces α -(1 \rightarrow 4) formando cadenas más cortas o más largas (Fennema, 1996).

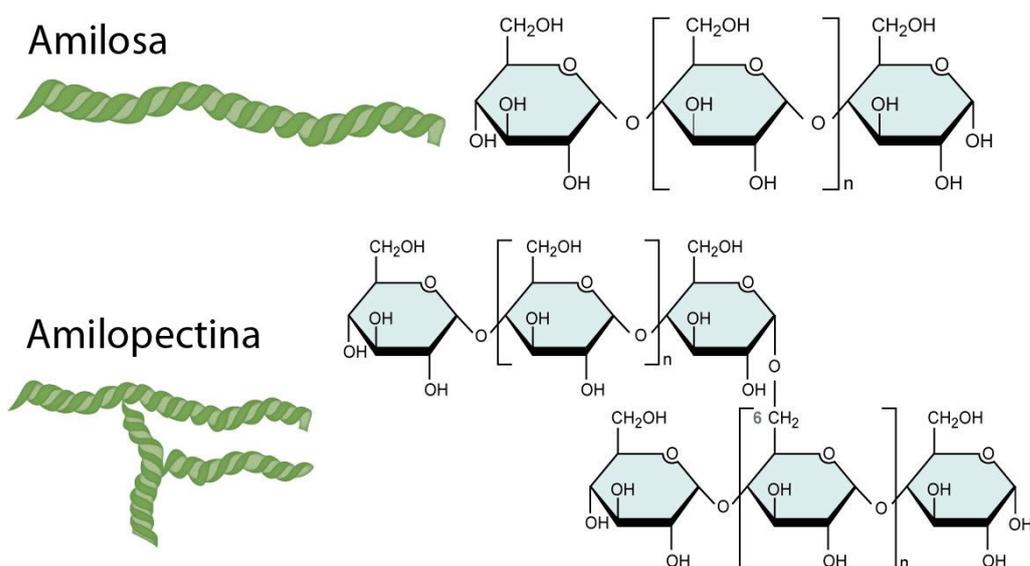


Figura I.4. Esquema de la estructura de la amilosa y de la amilopectina.

Imagen adaptada de Sanyang et al. (2018).

La amilopectina, el componente principal de la mayoría de los almidones, está constituida por cadenas cortas de α -D-glucosa concatenadas fundamentalmente por enlaces α -(1 \rightarrow 4) y altamente ramificadas, con un 4-5 % de enlaces α -(1 \rightarrow 6) (Zobel, 1988). Por calentamiento en agua, proporciona soluciones claras y de alta viscosidad. Sus soluciones no tienen casi tendencia a la retrogradación, y tampoco presentan envejecimiento ni formación de gel, aunque la concentración de las mismas sea muy elevada.

La amilosa, por su parte, consiste en cadenas largas de restos de α -D-glucopiranosilo unidos por enlaces α -(1 \rightarrow 4), haciendo que la molécula sea lineal o ligeramente ramificada (Thomas & Atwell, 1999; Tester, Karkalas & Qi, 2004); esta característica le confiere algunas propiedades únicas, como por ejemplo su capacidad para formar complejos con yodo, alcoholes o ácidos orgánicos y la tendencia de las cadenas a asociarse, precipitando en la solución. Cuando se enfría, la amilosa presenta una fuerte tendencia a la retrogradación, donde las cadenas se asocian formando geles firmes, aumentando así la viscosidad del sistema.

Aunque los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, cuando se calientan en un medio acuoso, se hinchan. Inicialmente el hinchamiento es reversible; sin embargo, cuando se alcanza una cierta temperatura, éste llega a ser irreversible afectando la estructura del gránulo (Lupano, 2013). Este proceso es conocido como gelatinización y ocurre en un intervalo de temperaturas dado. Este intervalo depende del tipo de almidón y del entorno, ya que los gránulos presentan diferente resistencia de acuerdo a su fuente botánica, tamaño, composición y grado de cristalinidad, además de las condiciones experimentales como pH, humedad, entre otras. Al finalizar este fenómeno se genera una pasta en la que coexisten cadenas de amilosa de bajo peso molecular altamente hidratadas que rodean a los restos de los gránulos, también hidratados (**Figura I.5**).

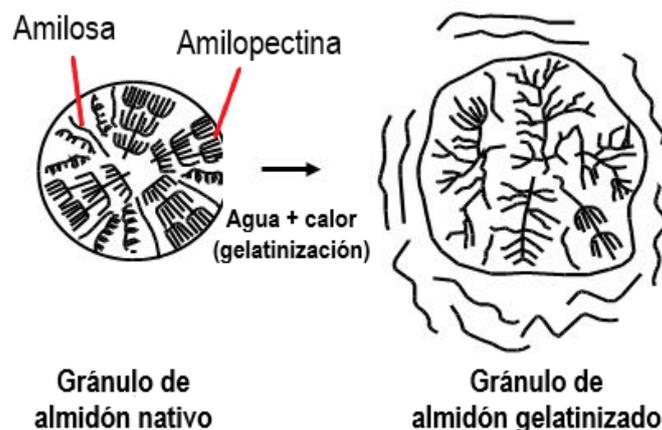


Figura I.5. Esquema del proceso de gelatinización del almidón.

Imagen adaptada de <https://craftdistilleredu.wordpress.com/2014/08/21/starch-gelatinization/>

3.2. Componentes de la pared celular

La pared celular es una estructura que brinda soporte, otorgando rigidez y delimitando los distintos tipos celulares que forman los tejidos y órganos de una planta. Provee resistencia a la célula frente a procesos osmóticos, debido a que el citoplasma es hipertónico respecto al exterior celular, por lo que puede ingresar agua al mismo hasta llegar al punto de turgencia que permite dicha pared. Además, puede tener un rol importante en la comunicación intercelular debido a que forma una interfaz entre células adyacentes (Keegstra, 2010).

Las paredes de las células vegetales generalmente se dividen en dos categorías: paredes primarias, que rodean células en crecimiento o capaces de crecer, y paredes secundarias que son estructuras engrosadas que contienen lignina y que se encuentran en células especializadas, como los elementos de los tejidos xilemáticos, vasos leñosos y traqueidas, que forman parte del sistema conductor. Las células del xilema se caracterizan por presentar paredes secundarias muy engrosadas reforzadas con lignina.

En la intersección de las paredes celulares se ubica la lámina o laminilla media, una sustancia viscosa con un alto contenido de pectinas y proteínas (George, Chae & Bressler, 2016).

Como se muestra en la **Figura I.6**, en las paredes celulares primarias las fibras de celulosa se encuentran embebidas en una matriz de hemicelulosas entrecruzadas con pectinas, las cuales interactúan con proteínas estructurales, que le proveen flexibilidad y fuerza.

El componente más característico de la pared celular es la celulosa, que se encuentra en forma de fibras generadas por la unión de microfibrillas de celulosa. La celulosa normalmente comprende entre el 20 y 30% de la materia seca de la pared celular del tejido parenquimático. Este tejido prevalece en la mayoría de los órganos, formando una estructura continua; son células poco especializadas, aunque existen parénquimas de reserva, como pueden ser los amilíferos, en los que se acumula almidón.

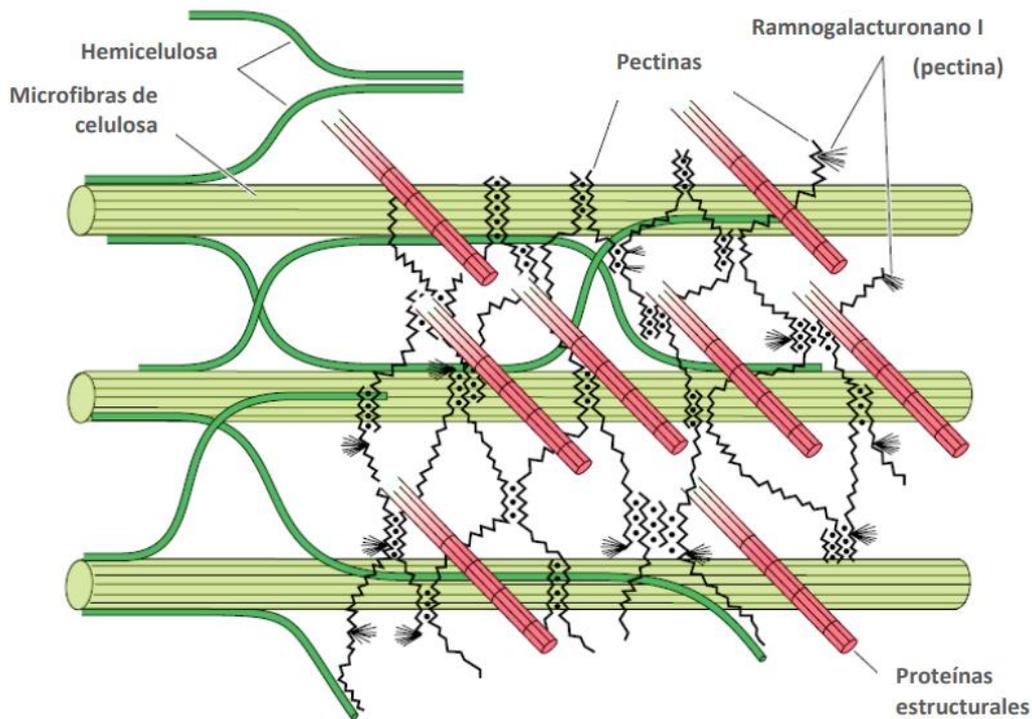


Figura I.6. Esquema de los principales componentes estructurales de la pared celular primaria y su posible disposición.

Fuente: Taiz & Zeiger (2002).

Químicamente la celulosa es un polisacárido lineal formado por moléculas de D-glucosa unidas por enlaces glucosídicos en configuración β -(1 \rightarrow 4) (**Figura I.7**). La disposición ecuatorial de los grupos hidroxilo en la molécula de celulosa, y la inversión alternativa de los residuos individuales causada por el enlace β , permite que las moléculas de celulosa formen enlaces de hidrógeno fuertes, tanto intra como intermoleculares, lo que la hace insoluble (Cho, 2001). Como se indicó anteriormente, la celulosa se deposita en la pared como microfibrillas, formadas a partir de la asociación de un gran número de moléculas individuales. Estudios de difracción de rayos X han demostrado que las moléculas de celulosa forman una estructura cristalina en la microfibrilla. Sin embargo, una proporción significativa de la celulosa en la pared celular vegetal está presente en forma amorfa, no cristalina (Cho, 2001).

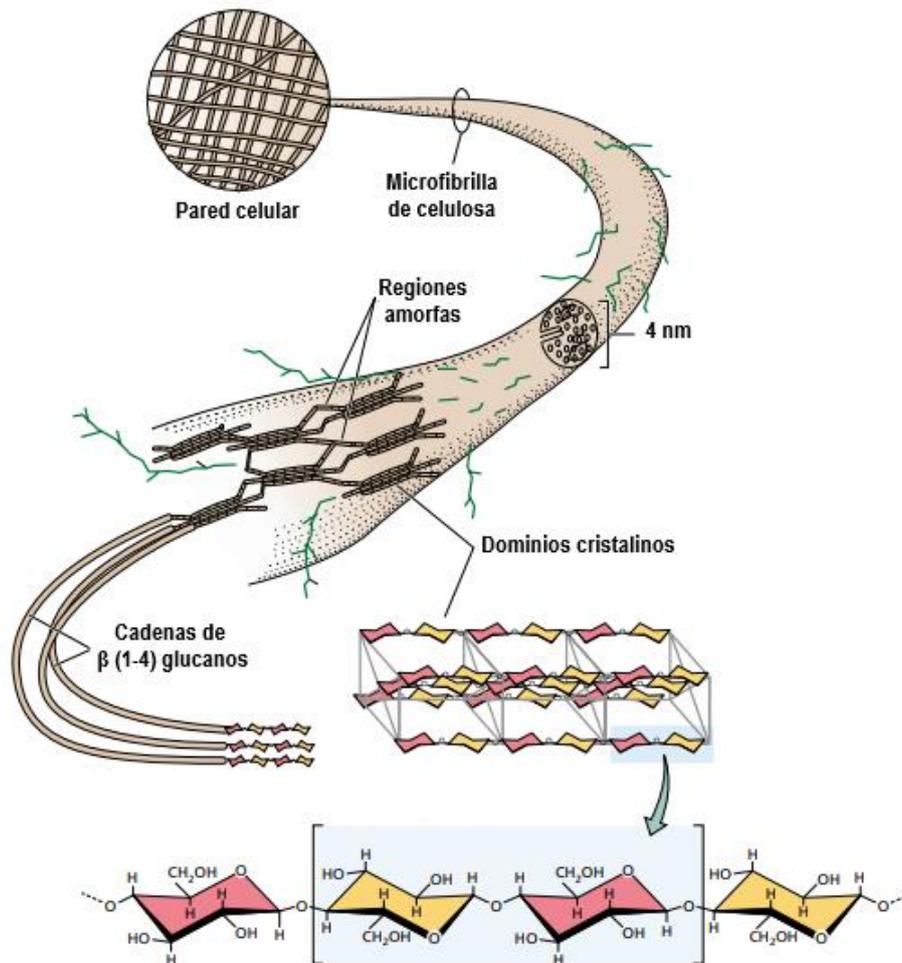


Figura I.7. Diagrama de la estructura de la celulosa y su deposición en la pared celular.

Imagen adaptada de Taiz & Zeiger (2002).

Otro componente importante de la pared celular es la hemicelulosa, que representa entre el 7 y 10 % de su peso seco. Es un heteropolisacárido compuesto en su mayoría por xiloglucanos, los cuales están formados por un esqueleto celulósico de D-glucanos unidos por enlaces β -(1 \rightarrow 4), a los cuales se unen al C-6 cadenas laterales de entre uno y tres residuos de azúcares. En cada cadena lateral, los residuos de xilosilo son el primer azúcar unido al esqueleto, pero estas cadenas laterales también pueden contener residuos de manosilo, arabinosilo, galactosilo o fucosilo (**Figura I.8**). La hemicelulosa se une a la celulosa formando una especie de adhesivo entre las microfibrillas (Rao et al., 2023).

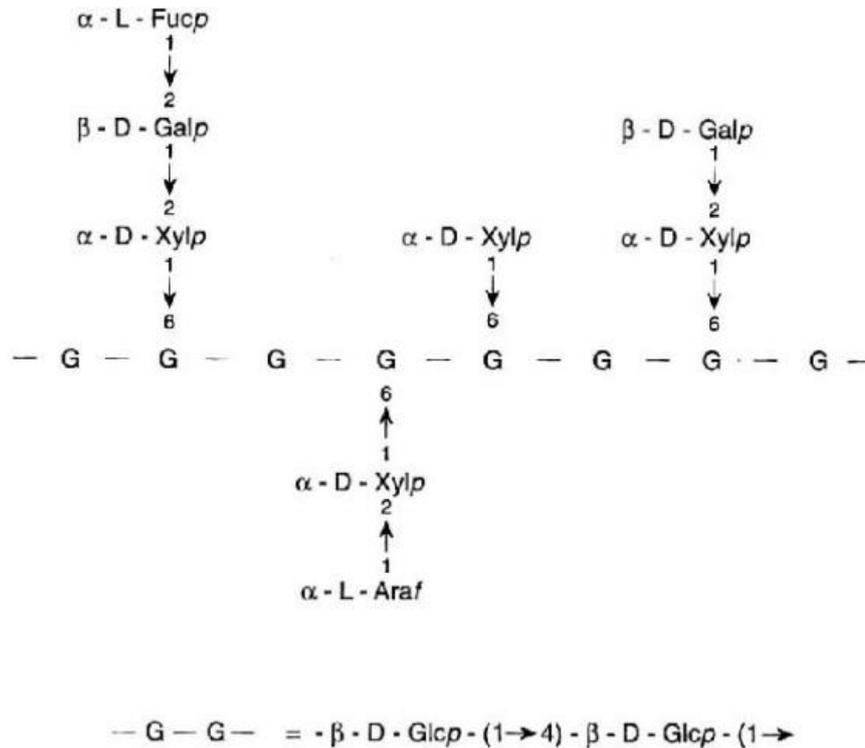


Figura I.8. Características estructurales de las cadenas laterales de xiloglucanos de la pared celular.

Fuente: Cho (2001).

Además de las hemicelulosas, otros componentes que generan adherencia entre las fibrillas de celulosa son los polisacáridos pécticos o pectinas. Éstos se componen principalmente de residuos de α -D-galacturonosilo (residuos de ácido galacturónico) unidos por enlaces α -(1 \rightarrow 4), que están parcialmente esterificados con grupos metilo. Intercalados con los residuos de galacturonosilo hay residuos de ramnosilo, que se unen a las cadenas principales de la pectina por enlaces α -(1 \rightarrow 2) y que también pueden portar cadenas laterales compuestas principalmente de galactosilo y residuos de arabinosilo unidos al C-4 (**Figura I.9**). La frecuencia con la que se presentan los residuos de ramnosilo en las cadenas de galacturonano varía, con un promedio de entre 1 en 50 y 1 en 15, dependiendo del tejido del que se aísla.

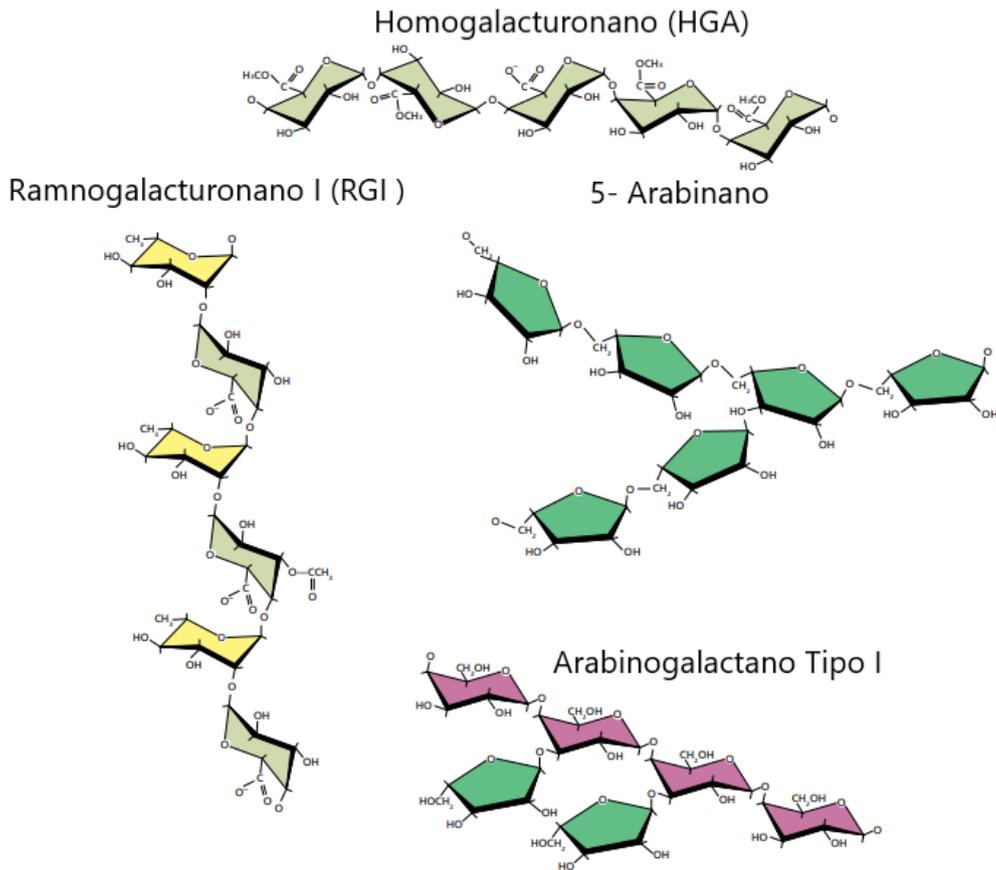


Figura I.9. Estructuras parciales de las pectinas más comunes.
Imagen adaptada de Taiz & Zeiger (2002).

Tal como se señaló previamente, algunos tejidos especializados experimentan un engrosamiento secundario de las paredes celulares. Esto puede conducir a un aumento masivo en el espesor de la pared. Durante dicho engrosamiento secundario se depositan xilanos ácidos, lignina y pequeñas cantidades de glucomananos (Cho, 2001).

La lignina es un polímero aromático complejo, amorfo, tridimensional, de cadena larga y heterogéneo. Pertenece a la clase de los compuestos fenólicos. Se trata de una estructura de alto peso molecular formada por la polimerización de fenilpropanoides (**Figura I.10**). Los principales compuestos monoméricos son el alcohol coniferílico, sinapílico y *p*-cumarílico. Alrededor de 100 monómeros forman el polímero de lignina, que resulta resistente a la degradación química y biológica, otorgando rigidez a la pared celular y aportando resistencia a la compresión. Genera una estructura impermeable y resistente frente al ataque microbiano y al estrés oxidativo (Ponnusamy et al., 2019).

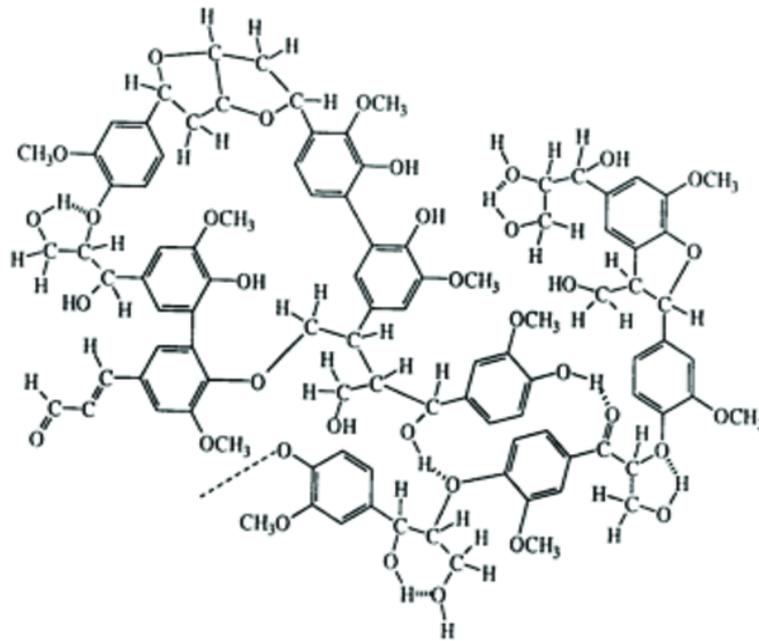


Figura I.10. Esquema de la estructura de la lignina.

Fuente: Batalla et al. (2016)

3.3. Fibra dietaria

El concepto de fibra dietaria (FD) fue evolucionando a lo largo del tiempo debido al progreso en las mediciones analíticas, los nuevos conocimientos nutricionales y fisiológicos, y de acuerdo con los intereses de la industria alimentaria (Tejada-Ortigoza et al., 2016). En los años 70s se definía como “los restos de la pared celular vegetal que no son hidrolizados por las enzimas digestivas del hombre”. En 1999, la Asociación Americana de Químicos de Cereales (AACC, por sus siglas en inglés) propuso dos definiciones similares; la primera menciona el origen de la FD, limitándose a fuentes vegetales, y la segunda incluye los aspectos fisiológicos. Luego, esta definición se extendió incluyendo al almidón resistente y a los oligosacáridos no digeribles. Finalmente, se llegó a la definición actual, que indica que la fibra dietaria incluye a los polímeros de carbohidratos con diez o más unidades monoméricas, que no son hidrolizados por las enzimas endógenas en el intestino delgado de los humanos, y se encuentran naturalmente en los alimentos. También se considera FD a los polímeros de carbohidratos sintéticos con beneficios fisiológicos comprobados que promueven la salud.

Respecto a las propiedades tecnofuncionales de la fibra dietaria, su capacidad de retención de agua y aceite le confieren, entre otras cosas, el potencial uso para estabilizar emulsiones, reemplazando grasas, harinas o azúcares, modificando la textura y las propiedades sensoriales de los productos alimenticios y reduciendo la sinéresis (la separación de líquido de un gel causada por la contracción) (Manthei et al., 2023).

La fibra dietaria comprende a la Fibra Dietaria Soluble (FDS) e Insoluble (FDI). La FDS está compuesta por polisacáridos no celulósicos, con cadenas laterales irregulares, que incluyen oligosacáridos y algunos polisacáridos no digeribles como inulina, gomas, pectinas y ciertos β -glucanos. Por su parte, la FDI presenta cadenas laterales regulares, e incluye celulosa, lignina y algunas hemicelulosas (Tejada-Ortigoza et al., 2016; He et al., 2022).

Las frutas presentan la mayor cantidad de fibra dietaria soluble, mientras que las legumbres y las hortalizas, poseen menor proporción de la misma.

Aunque la FDS no es digerida en el intestino delgado, la microbiota del intestino grueso la fermenta fácilmente (Mudgil, 2017). Al disolverse en agua, estas fibras pueden formar un gel viscoso. Este efecto puede utilizarse en la formulación de alimentos que requieran una estructura tipo gel.

La FDI no es digerida en el tracto gastrointestinal, y en el intestino grueso hay muy poca o nula fermentación (Mudgil, 2017). Las fibras insolubles generalmente aumentan la masa fecal y la excreción de ácidos biliares, mientras disminuyen el tiempo de tránsito intestinal.

4. Procesamiento de raíces tuberosas

La mandioca es consumida como un alimento básico en muchos países en vía de desarrollo, siendo su producción destinada principalmente al consumo en fresco y a la obtención de almidón (Scott, 2021).

Se estima que el procesamiento de raíces frescas de mandioca genera entre 8,85 y 10,62 toneladas de residuos líquidos por tonelada de mandioca fresca procesada, que contiene aproximadamente 1% de sólidos totales (Ekop et al., 2019). Además, se producen entre 0,93 y 1,12 toneladas de bagazo húmedo y cáscaras de mandioca por tonelada de mandioca seca procesada.

Las aguas residuales de la obtención de almidón son débilmente ácidas, y el bagazo de mandioca contiene entre 40,1% y 75,1% de almidón (en peso seco) y entre 14,9% y 50,6% de fibra (Zhang et al., 2016). Es por esto que dicho bagazo es de gran interés industrial ya que, como potenciales usos, destacan la producción de bioetanol y biogás, la producción de envases biodegradables, debido a su gran contenido de almidón residual, e incluso la formulación de alimentos funcionales (Balbin et al., 2022; Akmeemana et al., 2023). Muchos productores descartan el agua residual y el bagazo como desechos, y otros utilizan el bagazo para la alimentación de animales.

En estudios previos del grupo de investigación se encontró que, a escala de laboratorio, seis extracciones acuosas sucesivas de almidón a partir de raíces de mandioca peladas resultan suficientes para que el proceso se considere eficiente (Díaz et al., 2016). Es por ello que en el presente Trabajo de Tesis se estudiaron los residuos de dichas extracciones, así como su tratamiento posterior, enfocado al uso en alimentos.

Por otra parte, como se mencionó previamente, *P. ahipa* no es un cultivo ampliamente difundido. Desde el punto de vista industrial, podría plantearse como principal interés la extracción de almidón, ya que puede considerarse una fuente de almidón alternativa a otras R&T producidos para este fin (Dini et al., 2013). Las raíces de ahipa tienen mayor contenido de fibra que las de mandioca, por lo que sería importante la reutilización de los residuos fibrosos de la extracción de almidón, tanto del bagazo como de la cáscara, ya sea como fuente de compuestos extraíbles (proteínas, por ejemplo), o como ingrediente funcional, para incrementar el valor del cultivo y a su vez disminuir los desperdicios durante el procesamiento.

Por lo expuesto anteriormente, este Trabajo de Tesis se centra en el estudio de los componentes y propiedades del bagazo de la extracción, a escala de laboratorio, del almidón de ahipa y de mandioca, como así también de la cáscara de ahipa. Se indagó en la potencial aplicación de estos subproductos como ingredientes alimentarios. Asimismo, se analizó un residuo proveniente de la obtención de almidón de mandioca a escala industrial (**Anexo**).



Capítulo 1.
Caracterización de las
raíces de ahípa y de los
residuos fibrosos
provenientes de la
extracción de almidón,
sometidos a
tratamientos físicos y
químicos



1. Introducción

Además del almidón de asimilación o transitorio, derivado de la fotosíntesis, que se acumula en los cloroplastos de las hojas y otros órganos fotosintéticos, el almidón como polisacárido de reserva está presente en distintas partes de las plantas. Este almidón de reserva se almacena en órganos especializados, como tubérculos (por ejemplo, papa), cormos (como taro), raíces tuberosas (como mandioca o batata), granos (como maíz y trigo) y, en algunos casos, en el tronco o tallos (como en ciertas palmeras) (Hüttner Kringel et al., 2020). Se forma a partir de los glúcidos sencillos resultantes de la fotosíntesis, que se transportan (principalmente como sacarosa) desde las hojas a estos órganos de almacenamiento. Su principal función es almacenar energía a largo plazo, ya que se moviliza y utiliza durante los periodos de crecimiento activo o cuando la planta necesita energía adicional, como durante la germinación de las semillas. La extracción de almidón se ha limitado, tradicionalmente, a unos pocos cultivos como el maíz, el trigo, el arroz, la papa y la mandioca. Sin embargo, surgen nuevas fuentes botánicas no convencionales de almidón, incluidas raíces, tubérculos y granos de legumbres de origen local que podrían competir con los cultivos más difundidos. Los almidones obtenidos de estas fuentes presentan características que los diferencian de los provenientes de cultivos tradicionales, y en algunos casos pueden tener mejor aptitud para cierto tipo de productos alimentarios, lo que a su vez podría repercutir en un aumento de su producción y rentabilidad (Lovera, Pérez & Laurentin, 2017). Por lo tanto, existe un interés creciente en identificar fuentes alternativas de almidón con propiedades novedosas y específicas, para ampliar la oferta o disponibilidad de este tipo de productos.

Como ya se ha mencionado, la ahípa acumula almidón libre de gluten, con un rendimiento que ronda los 565 g/ kg de raíz (base seca) (López et al., 2010), y podría constituir un potencial complemento a fuentes más difundidas como mandioca o papa. En comparación a estas últimas, la ahípa tiene un mayor contenido de fibra. La fibra dietaria total para raíces de ahípa enteras (con cáscara) se encuentra alrededor del 21-26 % en base seca (Dini et al., 2013),

mientras que en mandioca y papa, el contenido de fibra se encuentra alrededor del 8-9 % en base seca (Chandrasekara, 2018).

Las raíces de ahípa se caracterizan por tener una “piel” o “cáscara” más gruesa que la de mandioca y es necesario retirarla para su procesamiento. Por el contrario, en el caso de la mandioca, no resulta indispensable retirar las capas más profundas de la cáscara antes de la extracción del almidón. Por este motivo, la obtención de almidón de ahípa a nivel industrial generaría mayor cantidad de residuos que al procesar los otros materiales mencionados. Se ha determinado que, en condiciones de laboratorio, al procesar 13,3 kg de raíces de ahípa para la obtención de 1 kg de almidón, se generan alrededor de 5,3 kg de residuos (base húmeda), de los cuales 2 kg (38 %) corresponden a la piel o cáscara y 3,3 kg (62 %) al bagazo remanente. En el procesamiento industrial para la extracción de almidón de raíces de mandioca se producen entre 0,93 y 1,12 toneladas de residuo (denominado pulpa de mandioca) por tonelada de raíces procesadas. Este valor, aparentemente superior al de ahípa, se debe al elevado contenido de humedad que presenta este residuo a nivel industrial (mayor al 85%) (Escaramboni et al., 2018).

Según ha informado la FAO (FAO, 2019), anualmente se generan 1.300 millones de toneladas de descartes y desperdicios de alimentos. En el caso específico de las R&T, esta enorme cantidad de biomasa no aprovechada puede perderse en diferentes etapas de la cadena de producción y comercialización: antes, durante y después de la cosecha, durante el transporte, almacenamiento y distribución, en el procesamiento y envasado, en la venta minorista y en el consumo doméstico (Bayram et al., 2021). Las raíces, tubérculos y semillas oleaginosas son las fuentes vegetales que generan desperdicios en mayor proporción (25%) con respecto a la cantidad producida. Las frutas y hortalizas son la segunda fuente más importante, con un 21%, seguidas de los cereales y las legumbres con un 14% (FAO, 2019). La industria agroalimentaria genera una cantidad importante de residuos y subproductos, contribuyendo los diferentes órganos y componentes vegetales, como cáscaras, pulpas, pieles, orujos, raíces, tallos, carozos, hojas y semillas, al 40-50% del descarte total dependiendo del material a procesar (Coman et al., 2020).

La industria alimentaria produce residuos, tanto en forma sólida como líquida, localizados en las plantas procesadoras. Se debe tener en cuenta el impacto

ambiental que generan los residuos. Cuando los desechos se depositan en vertederos, su descomposición libera metano y dióxido de carbono, que contribuyen al 11 % de los gases de efecto invernadero en el mundo (Saba et al., 2023). El reciclaje de estos materiales y subproductos reduce las emisiones de gases de efecto invernadero y permite recuperar nutrientes valiosos y energía.

Por lo tanto, los residuos son en sí mismos una materia prima crucial y un recurso renovable, con un papel bien definido para desempeñar en el marco conceptual de la bioeconomía circular (Weber et al., 2020). En este contexto surge el concepto de reutilización de residuos agroindustriales que pueden seguir diversos destinos, apuntando a la viabilidad económica y la sostenibilidad como marcos de la economía circular. Cabe destacar que las pérdidas y desperdicios cuantitativos relacionados con la producción y uso de raíces y tubérculos representan un 45 % anual a nivel global (Weber et al., 2020).

En cuanto a su procesamiento, la separación del almidón de las raíces y los tubérculos (R&T) presenta ventajas en comparación con las legumbres como fuentes de almidón alternativas a los cereales, debido a que las R&T contienen gránulos de almidón más grandes que se separan fácilmente por sedimentación. Por otra parte, los granos de legumbres tienen un mayor contenido de proteínas, algunas con propiedades floculantes, motivo por el que sedimentan junto con el almidón durante los procedimientos de separación. Las R&T, en general, contienen una proporción muy baja de proteínas y lípidos, lo que facilita el aislamiento del almidón. Sin embargo, la presencia de fibras finas en estos materiales suele dificultar una completa separación (Hüttner Kringel et al., 2020). El aislamiento del almidón de las R&T está influenciado también por la presencia y el tipo de pigmentos (como en el caso de la batata) y de compuestos fenólicos. Los pasos implicados en la extracción del almidón a partir de R&T consisten en el lavado de los materiales frescos, seguido del picado y rallado de la materia prima en un medio acuoso, para romper los tejidos y las paredes celulares vegetales y liberar el almidón. Luego se busca separar los componentes fibrosos mediante tamizados y posteriormente concentrar la suspensión (lechada de almidón) mediante decantación o centrifugación. En ciertos casos se adiciona una baja proporción (0,1-0,2 %) de hidróxido de sodio (NaOH), metabisulfito de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) o bisulfito de sodio (NaHSO_3) al agua de extracción. Con la

alcalinización se busca eliminar las proteínas de la superficie del almidón y los tratamientos con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ y NaHSO_3 apuntan a minimizar el pardeamiento durante el aislamiento del mismo (Hüttner Kringel et al., 2020). Sin embargo, se puede concluir que utilizar sólo agua para aislar almidón permite obtener altos rendimientos y un buen grado de pureza, sin necesidad de generar efluentes del tratamiento químico e incrementar los costos.

Los residuos sólidos del procesamiento de materias primas y alimentos, entre ellos los remanentes de la extracción de almidón de R&T, se depositan principalmente en vertederos o se compostan, mientras que los residuos líquidos se desechan y pasan por sistemas de tratamiento de aguas residuales o se vierten directamente en cursos de agua (Saba et al., 2023).

Los desechos agroindustriales de origen vegetal contienen principalmente materia orgánica biodegradable compuesta por lípidos, proteínas, glúcidos (monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos), y otros productos metabólicos como lignina, pigmentos y compuestos antioxidantes. Estos residuos, algunos sólidos y otros como suspensiones con cantidades variables de sólidos, presentan alta demanda química (DQO) y biológica de oxígeno (DBO). Como alternativas, pueden destinarse a digestión anaeróbica o fermentación y culminar con la producción de biocombustibles, como una forma rentable de utilizar estos residuos (Capilla et al., 2021). Otro enfoque es el de recuperarlos y obtener nuevos ingredientes que sirvan de insumos para otras industrias procesadoras. Los métodos de valorización sostenibles y tecnológicamente avanzados son fundamentales para proteger el medio ambiente y sustentar el desarrollo de la bioeconomía (Belwal et al., 2020). Conocer la composición y estructura de estos residuos es crucial para poder agregar valor a estos subproductos.

2. Objetivos

- Estudiar los componentes anatómicos de las raíces de ahípa e identificar aquellos que están presentes en los residuos fibrosos provenientes de la extracción de almidón.

- Analizar ciertos componentes químicos relevantes desde el punto de vista funcional de los tejidos internos de las raíces (harina) y de sus cáscaras, individualmente.
- Evaluar tanto química como físicamente los residuos fibrosos obtenidos a partir de la extracción de almidón de las raíces de ahípa.
- Analizar el efecto de dos tipos de tratamientos: físicos (con autoclave y ultrasonido) y químicos (con ácido etilendiaminotetraacético y oxalato) sobre los residuos fibrosos y sus propiedades.

3. Materiales y métodos

3.1. Material vegetal

Las raíces de ahípa (accesión IRNAS 9, *Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología - Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Sevilla, España*) se cultivaron en la Provincia de Misiones, Departamento Iguazú, Municipio Puerto Esperanza, Lote 63, Paraje Esperanza Centro. Las coordenadas geográficas corresponden a 25°59'51,29" S; 54°29'52,10" O. Luego de la cosecha, fueron enviadas inmediatamente a los laboratorios del CIDCA. Una vez recibidas, se seleccionaron aquellas que no presentaban daños físicos y/o efectuados por microorganismos. Éstas fueron lavadas con agua corriente para eliminar los restos de tierra, desinfectadas por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO, 250 ppm de cloro activo, 10 min), y secadas por oreo a temperatura ambiente por un período entre 24 y 48 horas. Luego fueron peladas, excluyendo así la "cáscara" (parte periférica que comprende desde el cambium vascular hasta la superficie externa) (**Figura 1.1**) y cortadas en cubos de 2 cm de lado, aproximadamente. Las raíces desprovistas de su cáscara corresponden a lo que denominaremos "cilindro central" que comprende, desde un punto de vista anatómico, parte del tejido cambial, el xilema secundario y el parénquima de reserva.

Las "cáscaras" se separaron para su caracterización y fueron a su vez reservadas para posteriores análisis de aplicación en emulsiones (**Capítulo 3**).

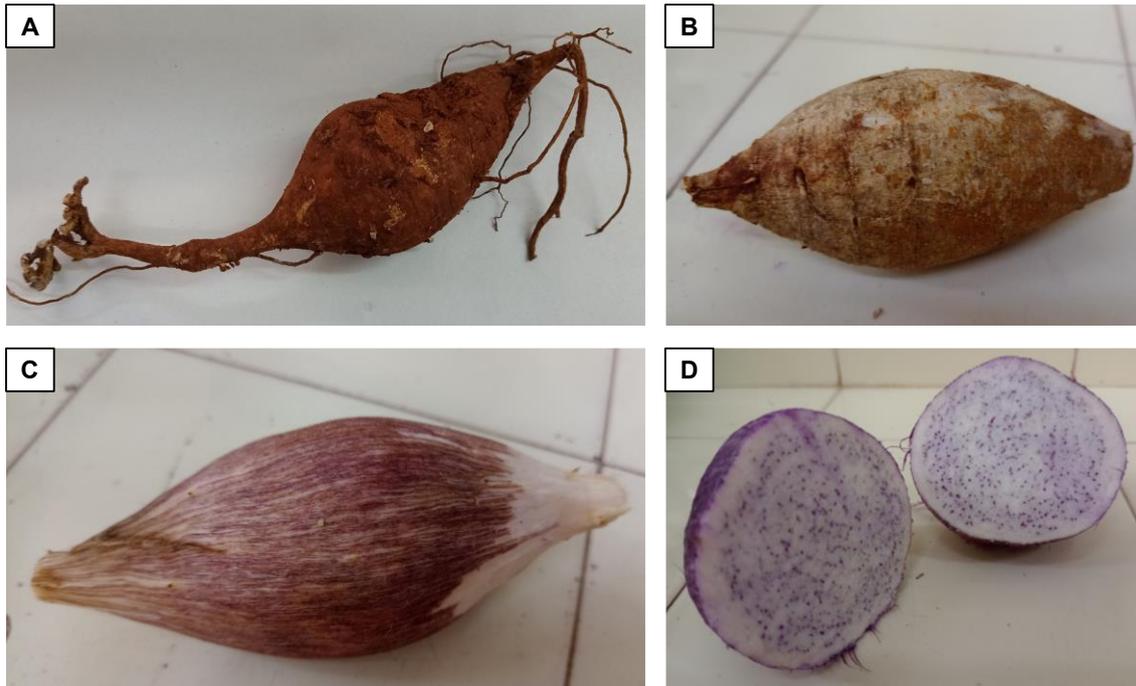


Figura 1.1. Raíces de ahipa accesión IRNAS 9. **A)** Material tal como se recibe en el laboratorio, con restos de tierra y porciones no tuberizadas de la raíz. **B)** Raíz tuberosa lavada y desinfectada. **C)** Raíz pelada manualmente. **D)** Corte transversal de la raíz sin cáscara (cilindro central).

3.2. Caracterización de las raíces

3.2.1. Componentes estructurales

Una fracción de las raíces peladas y cubeteadas fue fijada y conservada en una solución de alcohol etílico 96° (50 mL), agua destilada (35 mL), formaldehído (10 mL) y ácido acético glacial (5 mL) (FAA) (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). A partir de este material, se obtuvieron secciones delgadas transversales y longitudinales a mano alzada, con hojas de afeitar. Las secciones se aclararon mediante inmersiones en solución de NaClO (50 %) a fin de eliminar los contenidos celulares, se enjuagaron varias veces en agua destilada y se montaron en gelatina-glicerina con safranina (80 %) (Johansen, 1940). Las estructuras anatómicas correspondientes al cilindro central se observaron en un microscopio óptico Gemalux XSZ-H equipado con una cámara Moticam 1000 acoplada al ocular del microscopio, con el software Motic Image Plus, y con un microscopio óptico Nikon E200 LED, asociado al software Micrometrics SE Premium.

Por otra parte, las cáscaras de las raíces, que fueron conservadas mediante congelación a -20°C , se hidrataron y sumergieron en etanol 70° . Las secciones transversales se obtuvieron a mano alzada con hojas de afeitar. Los cortes más delgados se aclararon mediante inmersión en solución de NaClO (50 %) y se enjuagaron tres veces con agua destilada (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Para la diafanización y vista en superficie de los tejidos se siguió el método de Franklin (1945) modificado, colocando porciones del material en alcohol 96° y llevando a ebullición durante 10 min. Luego de realizar tres lavados con agua destilada, las muestras se sumergieron en NaClO hasta decoloración parcial, seguido nuevamente de tres lavados con agua destilada. A continuación, se colocaron en una mezcla al 5 % de H_2O_2 : ácido acético en partes iguales, durante 48 horas. Finalmente se lavaron con agua destilada, se volvieron a colocar en NaClO hasta total decoloración y se enjuagaron tres veces más.

Para su clarificación, los cortes se mantuvieron durante 24 horas en hidrato de cloral (5 %). Posteriormente, todas las secciones transversales y las diafanizaciones se montaron en gelatina-glicerina con safranina. Los tejidos y estructuras en los montajes de cortes de las cáscaras se analizaron y fotografiaron ($100\times$ - $400\times$) con microscopio óptico como se mencionó previamente.

Por otra parte, para tener un valor estimado de la densidad de cristales en las fibras, se realizó un conteo de los mismos en la felodermis interna vista en superficie (**Figura 1.13 E**). La densidad se expresó como número de cristales/ mm^2 . A su vez, se estimó el tamaño de dichos cristales a partir de la observación microscópica (**Figura 1.12 F**), utilizando el software ImageJ 1.52a (Java 1.8). Teniendo en cuenta la forma de los mismos, se midió la dimensión de mayor longitud.

Las determinaciones anatómicas fueron realizadas en colaboración con la Prof. Ana María Arambarri, del Curso Morfología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la UNLP.

3.2.2. Obtención de harina y cáscara de ahípa

Con el fin de estudiar su composición química, cubos del cilindro central de las raíces (aproximadamente 2 cm de lado) y sus respectivas cáscaras se secaron

en estufa de convección a 50°C, por separado (**Figura 1.2**). Luego de 72 h, las muestras fueron molidas (molino HC-250Y, Damai) hasta polvo fino, obteniéndose por un lado la *harina de raíces de ahipa* y por otro, la *cáscara molida*.



Figura 1.2. Piezas del cilindro central secadas a 50°C (**A**) y luego molidas (**C**) y cáscaras de ahipa secadas a la misma temperatura (**B**) y luego molidas (**D**).

3.2.3. Caracterización química

3.2.3.1. Contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó gravimétricamente según el método AOAC 925.10 (AOAC, 1990), mediante secado en estufa a 105°C hasta peso constante. Los resultados se expresaron como porcentaje (% p/p).

3.2.3.2. Fracción lipídica

La extracción de las muestras se realizó con hexano en un dispositivo Soxhlet, según el método normalizado AOAC 920.39 (AOAC, 1990). Muestras de harina y cáscara (6 y 4 g, respectivamente) se pesaron, por duplicado, en cartuchos de papel de filtro. Posteriormente, se introdujeron dentro de la unidad de extracción del equipo, la que se conectó por la parte inferior a un balón (donde se recoge la materia grasa) y a un refrigerante por la parte superior. Una vez armado el equipo se colocó sobre una manta calefactora. A lo largo del proceso de extracción, el hexano se lleva a ebullición (~69°C), se condensa, cae, toma contacto con la muestra y luego se sifona repetidamente dentro del balón de ebullición (**Figura 1.3**). En general, el procedimiento se lleva a cabo durante 8 ciclos de extracción. Una vez recuperado y evaporado el solvente, se pesa el residuo obtenido (lípidos totales) en el balón previamente pesado. Los resultados se expresaron como porcentaje (%) en base seca.

3.2.3.3. Cuantificación de proteínas

Se determinó el contenido de proteína total de la cáscara por el método Kjeldahl (AOAC, 1990), ya que el mismo no había sido determinado en esta fracción en trabajos previos del grupo, a diferencia del contenido de proteínas de la harina (sin cáscara). El método Kjeldahl cuantifica el nitrógeno total, proveniente principalmente de las proteínas y de otras fuentes de nitrógeno no proteico (ácidos nucleicos, por ejemplo) y, mediante un factor de conversión, se estima la cantidad de proteínas totales presentes en la muestra (proteína bruta o cruda).

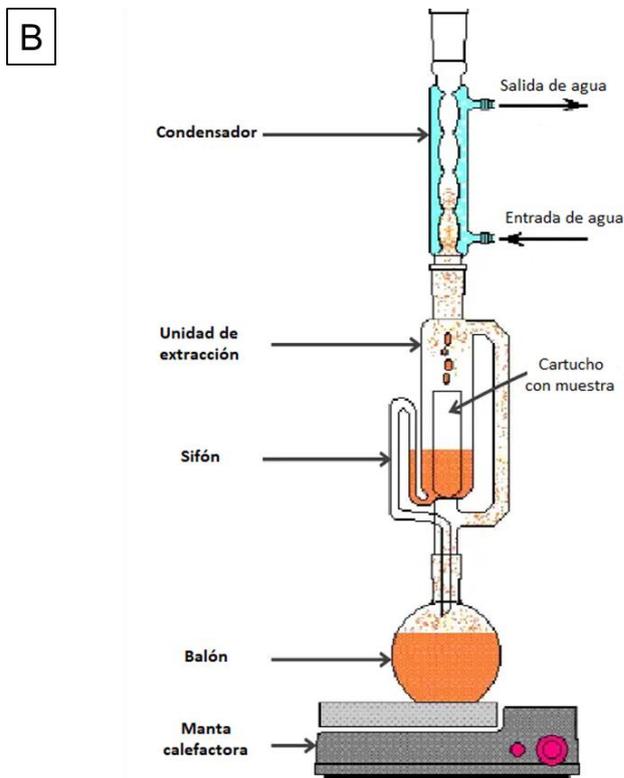


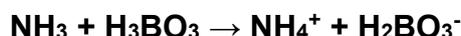
Figura 1.3. A) Equipo de extracción Soxhlet utilizado. **B)** Esquema del funcionamiento. Imagen adaptada de <https://es.scribd.com/document/364810326/Metodo-de-Soxhlet>

El método consiste en tres pasos: digestión, destilación y titulación. La digestión se realizó en un digestor Büchi K-435 (Suiza), con 25 mL de ácido sulfúrico concentrado en presencia de mezcla catalizadora ($\text{CuSO}_4:\text{Na}_2\text{SO}_4$, 1:10), hasta disolución y oxidación completa de la muestra (obtención de una solución

translúcida). El nitrógeno contenido en la misma se convierte en sulfato de amonio según la siguiente reacción:



Para la destilación se utilizó una unidad de destilación Büchi K-350 (Suiza). A la muestra previamente enfriada se le añadió un exceso de solución de hidróxido de sodio (32 % p/v) para neutralizar el H₂SO₄ y alcalinizar el medio, lo cual torna la muestra de un color pardo oscuro. De esta manera se obtiene amoníaco (NH₃) que puede ser separado por destilación para ser colectado en un Erlenmeyer con 50 mL de solución 4 % p/v de ácido bórico (H₃BO₃) y 5 gotas del indicador Mortimer (cuya composición es 20 mg de rojo de metilo + 100 mg de verde de bromocresol + 100 mL etanol). Este indicador presenta un viraje a pH cercano a 5,0 (que es el pH del ácido bórico al 4-5 %). El indicador es rojo a dicho pH y se vuelve azul cuando se recibe el NH₃ destilado, que alcaliniza el medio.



Finalmente, el destilado recogido se tituló con una solución de H₂SO₄ valorada (0,1 N normalizado con NaOH) hasta que el color del mismo viró nuevamente al rojo claro. Se realizó un ensayo en blanco para cuantificar el nitrógeno que podrían aportar los reactivos. Con los datos obtenidos se calculó el contenido de proteínas, expresado en porcentaje (% p/p), a partir de la siguiente ecuación (**Ec. 1.1**):

$$\text{Proteína cruda (\%)} = \frac{(V_{\text{titulación}} - V_{\text{blanco}}) \times N \times P_{\text{meqN}} \times f}{(m_{\text{muestra}})} \times 100 \quad [\text{Ec. 1.1}]$$

Donde $V_{\text{titulación}}$ y V_{blanco} son los volúmenes (mL) de solución de H₂SO₄ de normalidad conocida (N) consumidos para la titulación de la muestra y el blanco, respectivamente; P_{meqN} es el peso de un miliequivalente del nitrógeno (0,014 g/meq); m_{muestra} el peso de muestra seca (g); y f el factor de conversión de N a

proteína, que depende de la muestra que se analiza. Para las muestras de ahípa, se utilizó 5,1 como factor de conversión, que es el que corresponde a estas proteínas de acuerdo con Dini et al. (2021). Sin embargo, para poder comparar con los valores disponibles en bibliografía, también se calculó el contenido de proteínas con el factor de conversión 6,25, usualmente utilizado en el análisis de muestras de alimentos.

3.2.3.4. Cuantificación de oxalatos

Dini et al. (2013) encontraron que las raíces enteras de ahípa de distintas accesiones tienen un contenido de oxalatos que varía entre 58-217 mg de ácido oxálico/100 g. Según dicho estudio, la accesión IRNAS 9 tiene uno de los valores más altos, alcanzando los 209,86 mg/100 g. Sin embargo, no hay datos respecto a los valores específicos correspondientes al cilindro central y a la cáscara de las raíces de ahípa, por separado. Por esta razón, se cuantificó el contenido de oxalatos en ambas muestras, siguiendo el protocolo de Makkar et al. (2007) con modificaciones.

Para preparar el extracto, se añadieron 10 mL de HCl 3 N a 1 g de muestra en un tubo Falcon de 15 mL y se homogeneizó durante 3 minutos a 17.000 rpm en un homogeneizador Ultra Turrax T25 (IKA- Labortechnik, GmbH & Co., Staufen, Alemania). Luego se lavó la sonda utilizando 2 mL de HCl 3 N. El tubo se centrifugó durante 5 minutos a 3000 ×g a 4°C. El sobrenadante se recogió en un matraz aforado de 25 mL, mientras que el precipitado se extrajo nuevamente con 8 mL de HCl 3 N, repitiendo el procedimiento descrito previamente. Finalmente, se completó el volumen final a 25 mL con HCl 3 N.

Se tomaron 10 mL de la solución obtenida y se colocaron en tubos Falcon de 50 mL, se agregaron 15 mL de agua destilada y 5 mL de reactivo tungstofosfórico (2,5 g de tungstato de sodio dihidratado, $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) que se disolvieron en una mezcla de 4 mL de H_3PO_4 (70 % p/v) y agua destilada, hasta alcanzar un volumen de 100 mL. Se mezcló por inversión, se dejó reposar durante 5 h, y luego se centrifugó a 3000 ×g durante 5 minutos.

Se tomaron 20 mL del sobrenadante y se agregó NH_4OH (12,5 %) gota a gota hasta alcanzar un pH de 4,0-4,5. Se le agregaron 5 mL de buffer acetato

conteniendo CaCl_2 2,25 mM (pH 4,5), se revolvió con varilla de vidrio y se almacenó durante la noche a temperatura ambiente.

Los tubos se centrifugaron a 3000 \times g durante 15 minutos hasta obtener un sedimento compacto. Luego, se decantó el sobrenadante con una inversión suave y continua del tubo de centrifuga sobre un papel de filtro, procurando no perturbar el precipitado de oxalato de calcio formado.

El precipitado se lavó con 20 mL de una solución de lavado fría (ácido acético 5 % con oxalato de calcio saturado), filtrada inmediatamente antes de usar. Se repitió la centrifugación y los pasos de decantación, cuidando que el precipitado se drene completamente.

Se agregaron 5 mL de una solución de H_2SO_4 (1 mL de H_2SO_4 concentrado + 9 mL de agua destilada) trasvasando a un vaso de precipitados, y se calentó por 3 minutos en un baño de agua hirviendo. Como blanco se utilizaron 5 mL de la solución de H_2SO_4 .

Se dejó enfriar hasta 55-60°C y se tituló con una solución de KMnO_4 ~0,01 N (0,0086 N) hasta que el color rosado persistiera durante 30 segundos.

El contenido de oxalatos se determinó utilizando la siguiente ecuación (**Ec. 1.2**):

$$\frac{\text{mg ácido oxálico}}{100 \text{ g muestra}} = 100 \times \frac{\left[V_p \times \left(0,45 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times \frac{0,0086}{0,01} \right) \times \left(\frac{25}{10} \right) \right]}{\text{masa (g)}} \quad \text{[Ec. 1.2]}$$

Donde V_p es el volumen de KMnO_4 ~0,01 N consumido, 0,45 son los mg de ácido oxálico anhidro $(\text{COOH})_2$ equivalentes a 1 mL de KMnO_4 0,01 N, 25/10 es el factor de dilución y 100 es el factor para expresar el contenido de ácido oxálico en 100 g de muestra.

3.3. Extracción de almidón y obtención de residuos fibrosos

La extracción de almidón se efectuó según Díaz et al. (2016), utilizando la “pulpa” (cilindro central) de las raíces, tejido reservante propiamente dicho, donde predomina este polisacárido. Para ello, se agregó agua al material (2 L de agua por kg de raíces), se procesó utilizando una licuadora de mano, se mezcló vigorosamente, y se filtró a través de tela muselina, eliminando de esta manera

los compuestos hidrosolubles y otros que, como el almidón, se dispersan y suspenden en el agua.

El bagazo se recuperó luego de la filtración y se extrajo almidón nuevamente, como se describió anteriormente. En total se realizaron seis extracciones acuosas sucesivas donde, luego de la primera y la última, se apartó una fracción de los residuos insolubles para ser estudiados (residuos denominados A1 y A6, respectivamente; A = Ahipa). El número de extracciones se fijó a partir de trabajos previos donde se observó que 6 extracciones resultaban suficientes para alcanzar una remoción mayoritaria del almidón (Díaz et al., 2016).

El remanente de la sexta extracción se resuspendió en agua destilada (1:1) y se sometió a dos tratamientos físicos consecutivos: primeramente, un tratamiento térmico (en autoclave a 121°C, 1 atm de sobrepresión, 15 minutos), seguido por un tratamiento ultrasónico en baño de hielo (5 pulsos de 1 minuto cada uno, 20 kHz, 750 W, a 80% de amplitud) empleando un Procesador Líquido Ultrasónico Vibra-Cell™ VCX-750 (Sonics & Materials Inc., Newtown, EE. UU.).

El residuo resultante de los pasos de tratamiento en autoclave y con ultrasonido fue filtrado a través de tela muselina y se apartó una fracción del mismo (residuo de los tratamientos físicos: ATF; A = Ahipa; TF = Tratamientos Físicos) para su caracterización.

Con el bagazo restante, se realizaron dos extracciones de 1 hora cada una, complementadas con agitación magnética, con una solución de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 0,05 M y oxalato de sodio ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) 0,05 M, en una proporción de 3 L de solución por kg de residuo. Este tratamiento se realizó con el fin de desensamblar componentes de la pared celular mediante la quelación de iones involucrados en la estabilización de dicha estructura, y así liberar gránulos de almidón que podrían estar retenidos en la matriz fibrosa.

Una vez finalizadas las extracciones con EDTA y $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, se filtró a través de tela para obtener finalmente el residuo denominado AEO (residuo de la extracción con EDTA y oxalato; A = Ahipa; E = EDTA; O = Oxalato) (**Figura 1.4**). Todos los residuos obtenidos (A1, A6, ATF y AEO) fueron secados a 40°C en estufa de convección durante 72 h, molidos a polvo fino y almacenados en recipientes sellados herméticamente hasta el momento de su análisis.

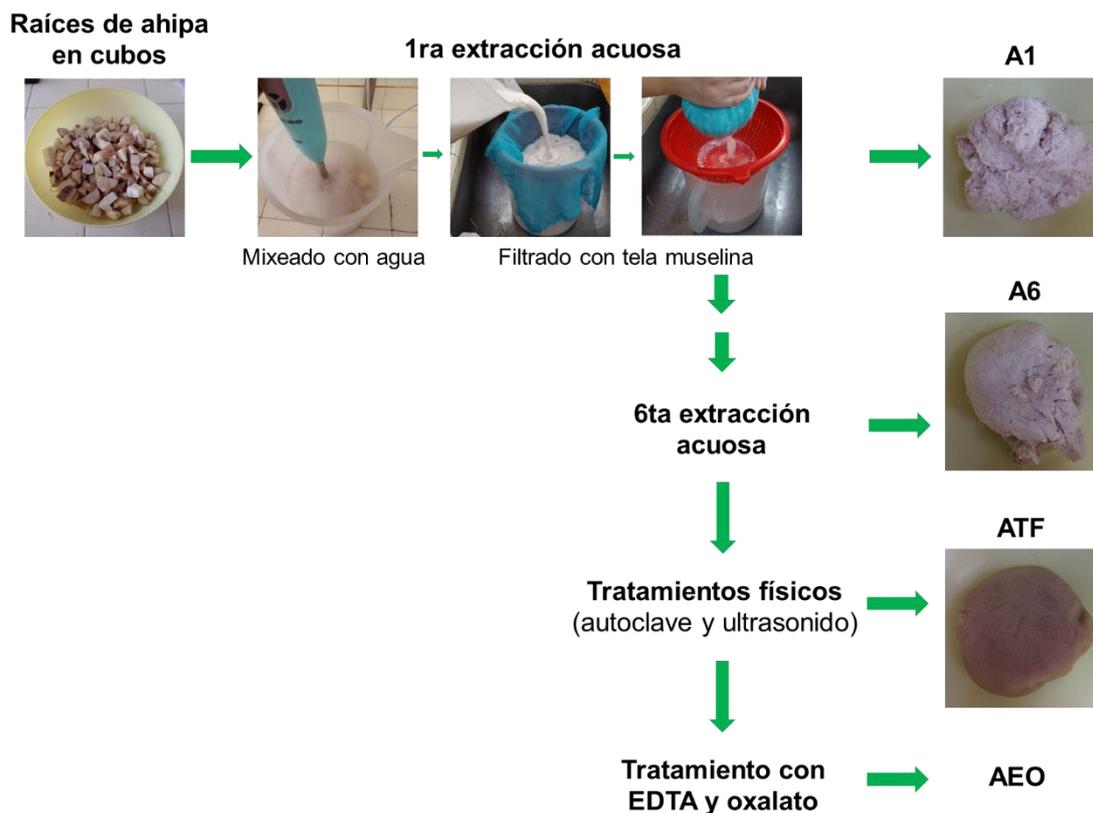


Figura 1.4. Diagrama de flujo del proceso de extracción de almidón y obtención de los residuos fibrosos A1, A6, ATF y AEO.

3.4. Análisis microscópicos de los residuos fibrosos

Para la observación de elementos anatómicos presentes en los bagazos obtenidos, cada residuo se trató con NaOH (3 % p/v) durante 5 min a ebullición, para facilitar el ablandamiento, disociación y clarificación de los componentes histológicos. Se montaron muestras en glicerina:agua (1:1) y se observaron en un microscopio óptico Gemalux XSZ-H. Se tomaron microfotografías con una cámara digital haciendo uso del software Motic Image Plus 2.0.

3.5. Análisis químicos

3.5.1. Cuantificación de almidón remanente fácilmente extraíble

Para la cuantificación del almidón remanente fácilmente extraíble (libre) en los residuos fibrosos obtenidos, se utilizó el método descrito por Cole et al. (2016) con modificaciones, donde el almidón se extrae por agitación, luego se suspende con asistencia de ultrasonido y microondas y se emplean reactivos iodométricos,

yodato potásico (KIO_3) y yoduro de potasio (KI), para medir finalmente la absorbancia a 600 nm.

Para esto, muestras de 0,5 g de cada residuo fibroso se dispersaron en 10 mL de agua destilada, agitando vigorosamente en vortex cada 10 minutos durante 2 horas. Luego las dispersiones fueron filtradas, utilizando la fracción líquida para las determinaciones. Se colocaron 100 μ L de las mismas en Erlenmeyers de 125 mL (previamente pesados) y se diluyó con agua destilada hasta alcanzar un volumen de 10 mL. Se registró nuevamente el peso de cada Erlenmeyer con su contenido y se cubrió con vidrio de reloj para realizar un tratamiento en microondas (marca Aurora, modelo Rupha 25, 800 W) durante 1 minuto a máxima potencia. El líquido se dejó enfriar a temperatura ambiente y el peso se reconstituyó a su valor inicial, utilizando agua destilada.

Seguidamente, cada muestra fue sometida a un tratamiento ultrasónico en baño de hielo durante 5 minutos utilizando un Procesador Líquido Ultrasónico Vibra-Cell™ VCX-750 (Sonics & Materials Inc., Newtown, EE. UU.) con una punta sonicadora de 20 kHz y 750 W, al 60 % de amplitud.

Se tomaron alícuotas de las muestras (800 μ L) y se les añadieron 200 μ L de HCl 0,25 M y 1 mL de reactivo iodométrico (KIO_3 1 mM / KI 5 mM), dejándolas reposar durante 30 minutos en la oscuridad. Luego, se midió la absorbancia a 600 nm en espectrofotómetro (Hitachi, modelo U-1900, Japón). Las curvas de calibración se construyeron utilizando almidón nativo de ahipa en concentraciones de 50 a 300 ppm sometidas a los mismos procesos que el sobrenadante de los residuos fibrosos.

3.5.2. Cuantificación de proteínas

El contenido de proteína total de los residuos se determinó por el método Kjeldahl (AOAC, 1990), tal como se explicó previamente (**sección 3.2.3.3** del presente **Capítulo**).

3.5.3. Contenido de pectinas

El contenido de pectinas se determinó siguiendo el protocolo descrito por Filisetti-Cozzi et al. (1991), a partir de la cantidad de ácido galacturónico (AG) presente

en los residuos. Las pectinas se extrajeron a partir de los mismos con una solución de HCl (pH 2,5) en una proporción de 1:3 (sólido:solución), a 80°C durante 4 horas, agitando en vórtex cada 30 minutos, y luego se centrifugó a máxima velocidad durante 10 minutos. El sobrenadante se trató con tetraborato de sodio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,0125 M, preparado en H_2SO_4 concentrado) y con *m*-hidroxifenilo al 0,15 % p/v en NaOH al 0,05 % p/v. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 520 nm en espectrofotómetro.

Con la solución ácida y el calor durante la extracción, se hidrolizan los polímeros que contienen ácidos urónicos, los cuales permanecen en el sobrenadante. El tetraborato de sodio permite la detección del ácido D-manurónico y mejora la producción de color del ácido D-glucurónico (Blumenkrantz, 1973); en el caso del *m*-hidroxifenilo, se produce reacción con los ácidos urónicos de manera tal que no haya una gran interferencia frente a la presencia de azúcares neutros, debido al pardeamiento que puede ocurrir con el calentamiento de la muestra analizada.

La curva de calibración se realizó siguiendo los mismos pasos que para el sobrenadante de la extracción, empleando soluciones que contenían entre 0 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de AG en agua.

3.5.4. Cuantificación de compuestos fenólicos

Se cuantificaron los compuestos fenólicos totales, no taninos y taninos (calculados estos últimos por diferencia), siguiendo el procedimiento descrito por Makkar et al. (2007).

Primero se realizó la extracción de compuestos fenólicos utilizando una solución de acetona en agua al 70 %, en una relación 1:10 (muestra sólida:solución), e incubando en baño con ultrasonido (Branson 2510 E-DTH, 245W, México) a temperatura ambiente, durante 20 minutos. Luego se centrifugó a 2000 $\times g$, durante 10 minutos a 4°C. El sobrenadante correspondiente se utilizó para la determinación de compuestos fenólicos totales por el método de Folin-Ciocalteu.

Para el análisis de compuestos fenólicos no taninos, se implementó un procesamiento adicional, donde se trató el extracto obtenido anteriormente con una suspensión 0,1 g/mL de polivinilpolipirrolidona (PVPP) en relación 1:1. Este

componente permite la unión de los taninos a su matriz, provocando la precipitación de los mismos (Makkar et al., 2007) y, de esta manera, pueden separarse de los compuestos fenólicos no taninos que quedan en la fase líquida. La suspensión en contacto con el extracto se mezcló por agitación en vortex y se incubó durante 15 minutos a 4°C. Finalmente, se centrifugó a 2000 ×g, durante 10 minutos a 4°C, reteniendo el sobrenadante que se utilizó para la reacción de Folin-Ciocalteu. El reactivo de Folin-Ciocalteu está constituido por una mezcla de ácido tungstofosfórico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que se reduce a una mezcla de óxidos azules de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}) al oxidarse las sustancias reductoras presentes en la muestra (**Figura 1.5 A**). La coloración azul que se desarrolla posee una absorbancia máxima a 760 nm.

Para desarrollar dicha reacción, a 1000 µL de agua destilada se le agregaron 50 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu y un volumen adecuado del extracto obtenido previamente (por ejemplo, 300 µL); esta solución se agitó en vortex y se dejó reposar durante 3 minutos. Posteriormente, se añadieron 100 µL de Na_2CO_3 20 % p/v (preparado en NaOH 0,1 N), se agitó en vortex y se llevó a un volumen final de 2500 µL con agua destilada.

Esta mezcla de reacción se dejó reposar durante 90 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Finalmente se midió la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro (Hitachi, modelo U-1900, Japón).

Se realizó una curva de calibración utilizando ácido gálico en acetona 70 % como estándar, en un rango de concentraciones entre 0 a 10 µg/mL (**Figura 1.5 B**).

3.5.5. Contenido de oxalatos

Se determinó el contenido de oxalatos de acuerdo a lo detallado en la **sección 3.2.3.4** del presente **Capítulo**. Esta cuantificación se realizó para los residuos A1, A6 y ATF pero no para AEO, debido a que esta muestra recibió precisamente un tratamiento con oxalato que puede haber dejado residuos, por lo que la medida no sería adecuada.

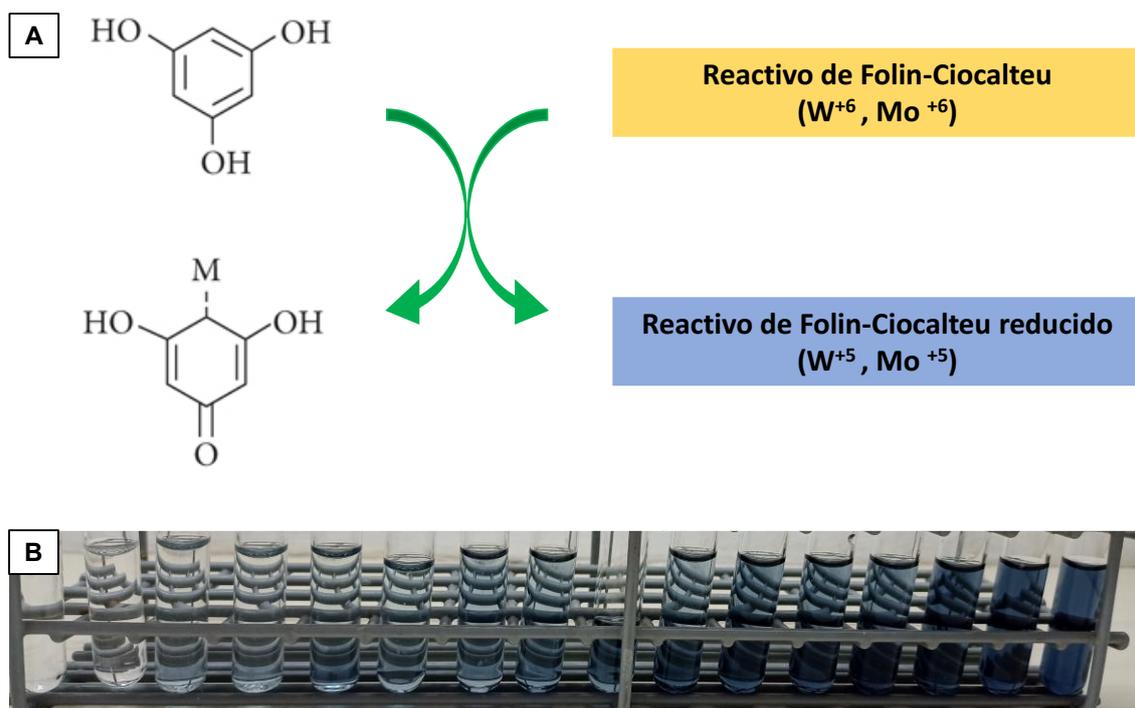


Figura 1.5. A) Representación química del cambio de color en la reacción de Folin-Ciocalteu (W, tungsteno; Mo, molibdeno reaccionando con grupos de polifenoles en una reacción de oxidación-reducción). Imagen adaptada de Carmona-Hernández et al. (2021). **B)** Curva de calibración de la reacción realizada con ácido gálico.

3.6. Medida de color

Para esta determinación se utilizó un colorímetro CR-400 (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japón), calibrado con una placa estándar blanca (L^* : 94,96; a^* : -0,15; b^* : 2,82). Al efecto, las muestras se dispusieron en placas de Petri de vidrio, generando una leve presión sobre la superficie para que quede homogénea, y se tomaron medidas de color por quintuplicado, cada una proveniente del promedio de tres centelleos realizados por el equipo.

Se registraron las coordenadas L^* , a^* y b^* de la escala CIE (*Commission Internationale de l'Éclairage*). En este sistema, el parámetro L^* representa la luminosidad y varía entre 0, para el negro mate, y 100 para el blanco; a^* , representa la variación rojo-verde, tomando valores positivos para el primero y negativos para el segundo; por último, b^* representa la variación amarillo-azul, siendo positivo para el primero y negativo para el segundo (**Figura 1.6**).

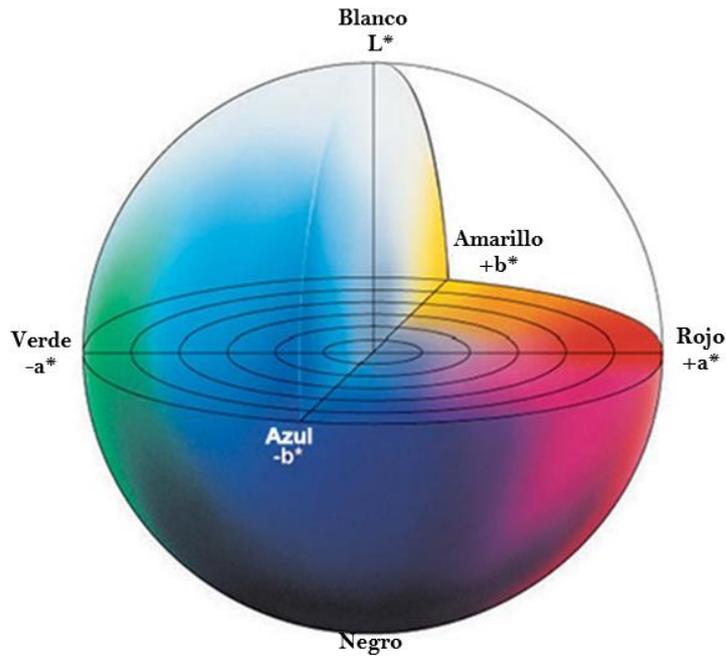


Figura 1.6. Parámetros de color superficial: luminosidad (L^*) y cromaticidad a^* (rojo-verde) y b^* (amarillo-azul).

Fuente: Díaz, A. (2021).

Los resultados se expresaron como diferencia total de color (ΔE) (**Ecuación 1.3**):

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad [\text{Ec. 1.3}]$$

Donde ΔL^* , Δa^* y Δb^* representan las diferencias entre los valores de las respectivas coordenadas para las muestras y los correspondientes a la placa de calibración.

A partir de los valores registrados para las coordenadas L^* , a^* y b^* , se calculó también el índice de pardeamiento (IP) según Buera et al. (1986) utilizando las siguientes ecuaciones (**Ecuaciones 1.4 y 1.5**):

$$x = \frac{a^* + 1,75 L^*}{5,645 L^* + a^* - 3,012 b^*} \quad [\text{Ec. 1.4}]$$

$$IP = \frac{100 (x - 0,31)}{0,172} \quad [\text{Ec. 1.5}]$$

3.7. Espectros ATR-FTIR (Reflectancia total atenuada- Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier)

La espectroscopía infrarroja es una de las técnicas espectroscópicas más utilizadas para estudiar el material de las paredes celulares vegetales. La principal ventaja de este método es su alta sensibilidad.

Existen distintos métodos de espectroscopía infrarroja (Griffiths, 2007), como el modo de transmitancia, reflectancia difusa, microespectroscopía y reflectancia total atenuada (ATR, por sus siglas en inglés). Esta última es un método de análisis muy conveniente, que no requiere calentamiento, prensado o trituración de las muestras, permitiendo ahorrar tiempo y evitar tratamientos que puedan provocar cambios estructurales no deseados en las mismas.

Las muestras A1, A6, ATF y AEO se analizaron mediante ATR-FTIR en un espectrómetro Thermo Nicolet iS10 con un accesorio ATR de diamante (Thermo Scientific, MA, EE. UU.) (**Figura 1.7**).

El accesorio de ATR consta de un cristal ópticamente denso dentro del cual el haz de IR es reflejado y permite medir las atenuaciones producidas en el mismo a distintas frecuencias, al entrar en contacto con la muestra.

Los residuos se presionaron sobre la superficie del cristal y el espectro se obtuvo mediante la adición conjunta de 64 escaneos con una resolución espectral de 4 cm^{-1} en el rango de 400-4000 cm^{-1} , debido a que es la más utilizada en el estudio de objetos biológicos (Fellah et al., 2009). Cada muestra se registró cinco veces. Los datos se analizaron utilizando el software OMNIC (versión 8.3, Thermo Scientific, MA, EE. UU.) y los espectros se corrigieron en la línea base, se normalizó la escala, y se determinaron las posiciones de los picos.

En las muestras estudiadas, se determinó el porcentaje de similitud en la región de las huellas dactilares de azúcares (900-1200 cm^{-1}) entre los espectros de los residuos fibrosos de ahípa y los correspondientes a polvos de almidón nativo y gelatinizado de la misma especie, con los que se generó una biblioteca espectral (Strack et al., 2021).



Figura 1.7. Espectrómetro Thermo Nicolet iS10 con accesorio ATR de diamante.

3.8. Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron al menos por triplicado. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza seguido de la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher ($p=0,05$). Se utilizó el software InfoStat (Di Rienzo et al., 2012).

4. Resultados y discusión

4.1. Caracterización de las raíces

4.1.1. Componentes estructurales de las raíces

A nivel morfológico, el sistema subterráneo de *Pachyrhizus ahipa* consta de dos porciones: un xilopodio, que se caracteriza por ser una porción más o menos cilíndrica, leñosa y lignificada, cercana a la superficie y del cual emergen nuevos brotes, y una porción tuberosa predominantemente fusiforme (Milanez & Moraes-Dallaqua, 2003) (**Figura 1.8**) que está constituida por la raíz tuberosa de la planta, de corteza amarronada que, internamente, presenta numerosos canales que suelen contener pigmentos y son fácilmente visibles al separar la cáscara (**Figura 1.1 C**).

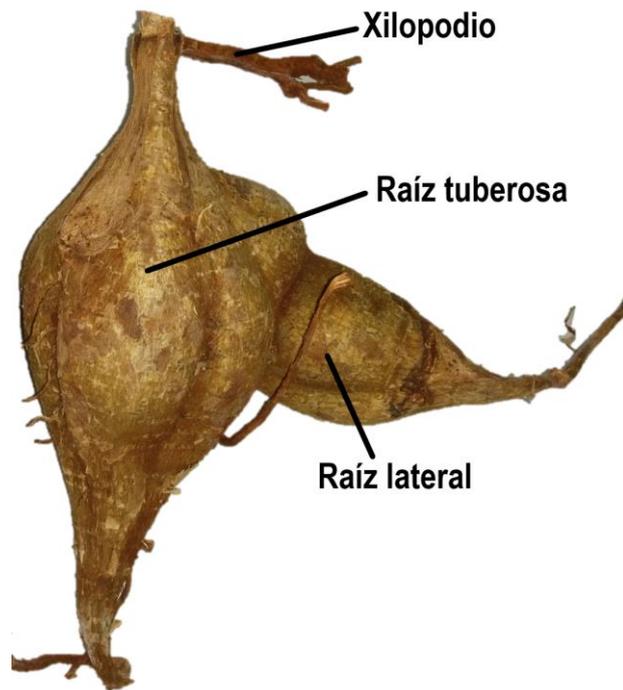


Figura 1.8. Sistema subterráneo de una planta adulta de *Pachyrhizus ahipa*.

Desde el punto de vista anatómico, como marco conceptual general, introduciremos la descripción de los componentes anatómicos observables en raíces jóvenes (de una a dos semanas de desarrollo) y que corresponden al denominado *crecimiento primario* de la raíz. Cabe aclarar que esta distribución de caracteres anatómicos no es observable en las raíces de plantas maduras, tal como se reciben en nuestro laboratorio y que fueron el material empleado en el presente Trabajo de Tesis. Sin embargo, esta descripción se considera necesaria para una mejor comprensión de los elementos anatómicos correspondientes al *crecimiento secundario* radical, que reviste mayor complejidad.

En un corte transversal de raíces que presentan *crecimiento primario*, pueden distinguirse, desde el exterior hacia el interior, las siguientes zonas: la epidermis o rizodermis, el córtex radical, y el cilindro vascular o central (**Figura 1.9**).

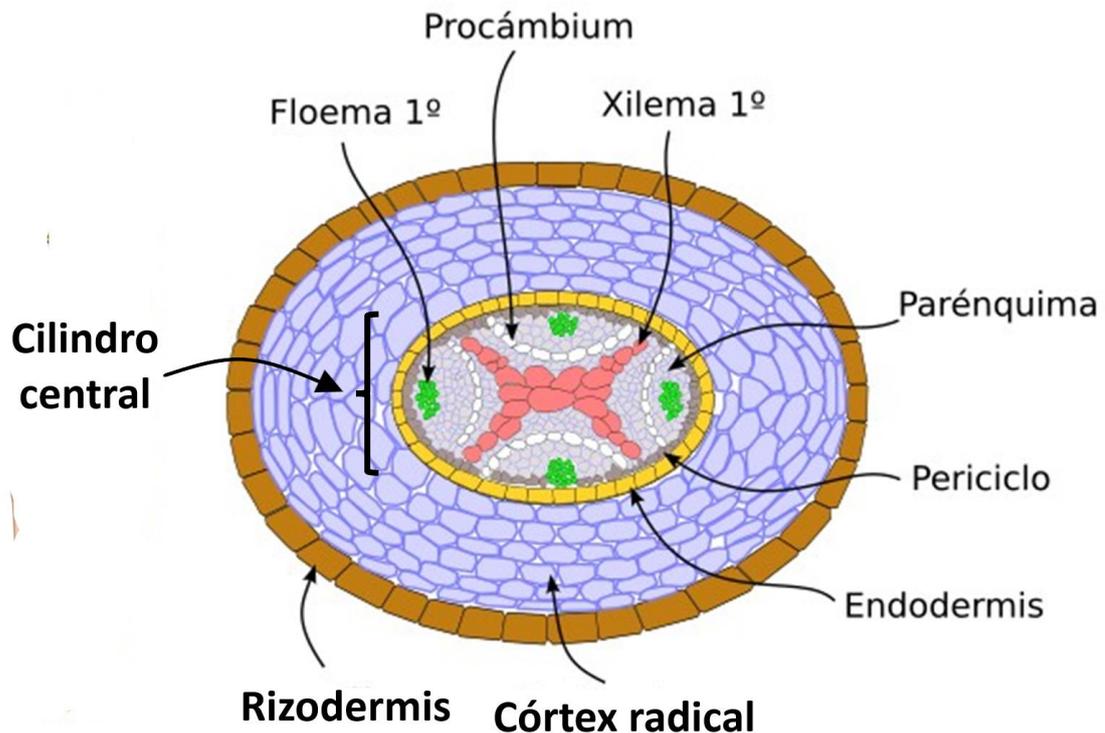


Figura 1.9. Organización de una raíz primaria típica (corte transversal).

Adaptada de

https://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-v/guiada_o_v_rprimario.php

La *rizodermis* (**Figura 1.9**) consiste en una o varias capas de células que protegen la raíz y facilitan el intercambio de gases y la absorción de agua y nutrientes, debido a la permeabilidad de las paredes celulares y a la producción de pelos radicales en una región ubicada a corta distancia del meristema² apical (**Figura 1.10**).

El *córtex* de la raíz (**Figura 1.9**) está formado principalmente por células parenquimáticas de paredes delgadas, que presentan variaciones de acuerdo al hábitat y las condiciones de crecimiento de las plantas. La capa más interna del

² Los meristemas son regiones de crecimiento activo en las plantas, compuestas por células indiferenciadas que tienen la capacidad de dividirse y luego diferenciarse en diversos tipos de células vegetales. Estas zonas son responsables del crecimiento y desarrollo del vegetal, incluyendo el alargamiento de tallos y raíces (crecimiento primario) y el aumento de grosor (crecimiento secundario).

córtex corresponde a la endodermis, característica de las raíces de Espermatófitas³.

Finalmente, hacia el interior de la raíz se encuentra el *cilindro central* o *cilindro vascular* (**Figura 1.9**), donde se distingue el periciclo, constituido generalmente por una capa de células poco diferenciadas, con propiedades meristemáticas, que da origen, en las raíces con crecimiento secundario, a parte de los meristemas laterales (*cambium vascular* y *felógeno*) como así también a las raíces laterales.

Hasta aquí se ha descrito la *estructura primaria* de las raíces en general. A partir de ésta, se producen grandes variaciones en cuanto al *crecimiento secundario*, dependiendo de las distintas especies vegetales y los diferentes tipos de raíces. Con el desarrollo de estructura secundaria, las raíces se engrosan y, cuando alcanzan estadios avanzados de crecimiento, los tejidos más externos (la rizodermis y el córtex) son desplazados por los tejidos de conducción⁴ secundarios (floema y xilema secundarios, originados a partir del cambium vascular) (**Figura 1.10**) y por la peridermis⁵ (originada a partir del felógeno).

El felógeno se origina en el periciclo (**Figuras 1.9 y 1.10**) y al dividirse produce súber hacia la periferia y felodermis hacia el centro, que conforman en conjunto la peridermis. Esta peridermis desplaza a la endodermis y a los restantes tejidos primarios del córtex que se ubican más externamente. En resumen, las capas que constituyen la peridermis son:

- a) el súber, tejido formado por células muertas, que proporcionan una barrera impermeable y protectora y que, generalmente, es responsable de la textura y color característico de la "cáscara" de las raíces.
- b) el felógeno, que como ya se ha señalado es un tipo de meristema lateral, secundario, representado por capas generadoras de nuevas células que se

³ Las Espermatófitas son el gran grupo de plantas que se caracterizan por producir semillas e incluye a las Gimnospermas (como los pinos y otras coníferas) y a las Angiospermas (las plantas con flores).

⁴ Los tejidos de conducción en las plantas, conocidos como xilema y floema, son estructuras especializadas encargadas de transportar agua, nutrientes y sustancias orgánicas a través del cuerpo vegetal. El xilema conduce principalmente agua y minerales desde las raíces hacia las partes aéreas, mientras que el floema distribuye los productos de la fotosíntesis, principalmente bajo la forma de sacarosa, desde las hojas hacia todas las partes de la planta.

⁵ La peridermis es un tejido protector en las plantas que reemplaza a la epidermis en órganos (tallos, raíces) que experimentan crecimiento secundario.

transformarán en súber hacia el exterior y que conformarán la felodermis hacia el interior.

c) la felodermis, que corresponde a la capa interna de la peridermis.

De acuerdo con Fahn (1985), las porciones maduras de las raíces, que presentan este crecimiento secundario en grosor, cumplen fundamentalmente con la función de anclaje al suelo y de almacenamiento de sustancias de reserva. El crecimiento secundario es una de las características más complejas del desarrollo de las raíces.

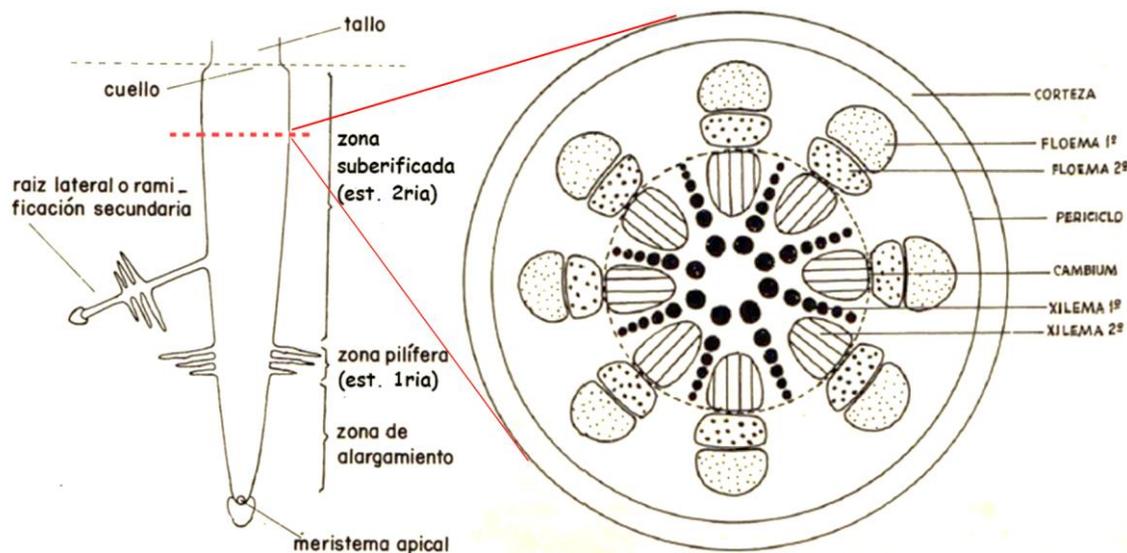


Figura 1.10. Estructura secundaria de una raíz típica.

Adaptado de: Dimitri & Orfila (1985).

En las raíces tuberosas de jícama (*Pachyrhizus erosus*), se produce un engrosamiento por la formación del cambium vascular que origina tejidos secundarios (Dabydeen, 1990). También se genera la tuberización a nivel del xilema secundario por el desarrollo de células parenquimáticas de almacenamiento (principalmente de polisacáridos).

Milanez & Moraes-Dallaqua (2003) realizaron un estudio pormenorizado de la ontogénesis⁶ del sistema subterráneo de *P. ahipa*. Estas autoras señalaron que en raíces de ahipa con 17 días de desarrollo ya se observó crecimiento

⁶ En este contexto, la *ontogénesis* se refiere al desarrollo y crecimiento de un órgano vegetal (específicamente la raíz), desde su inicio como una estructura primordial hasta su forma y función maduras. Incluye los cambios morfológicos, celulares y fisiológicos que ocurren durante la formación y diferenciación del órgano dentro del ciclo de vida de la planta.

secundario en las mismas, con un cambium de aspecto circular, una rizodermis que aún permanecía intacta, y con la aparición de felógeno en las capas externas del periciclo. A medida que continuó la actividad cambial, se observó la presencia de amplios radios parenquimáticos en el xilema secundario en raíces con 35 días de desarrollo. Aquí la rizodermis y el córtex fueron desplazados y el felógeno produjo súber e, internamente, células parenquimáticas conteniendo productos coloreados que constituyen la felodermis (Milanez & Moraes-Dallaqua, 2003). En la región primaria del floema se observó también la formación de fibras. A los 60 días se inició el proceso de tuberización debido a la producción de una cantidad mucho mayor de células parenquimáticas por parte del cambium, formando el parénquima de reserva de la raíz (Milanez & Moraes-Dallaqua, 2003).

La variabilidad en la anatomía radical resulta principalmente de los diferentes orígenes del cambium (Basconsuelo et al., 2011). En la especie *Pachyrhizus ahipa*, además del cambium regular se forman otros meristemas cambiales accesorios como resultado de un proceso de dediferenciación que se produce en las células del parénquima asociado al floema o en el xilema (Basconsuelo et al., 2011; Milanez & Moraes-Dallaqua, 2003).



Figura 1.11. Imágenes **A)** macroscópica y **B)** microscópica (100×) de un corte transversal de la raíz de ahipa con cáscara.

En la **Figura 1.11** se pueden observar las secciones de las raíces de ahipa con las que se trabajó en la presente Trabajo de Tesis, con y sin aumento, mostrando la parte que se desprende como cáscara, a partir del cambium vascular, y el

cilindro central, que corresponde mayoritariamente al xilema secundario y el parénquima reservante.

En la **Figura 1.12** se observan los cortes transversales de las cáscaras de ahípa, mientras que la **Figura 1.13** corresponde a las microfotografías de las cáscaras diafanizadas vistas en superficie.

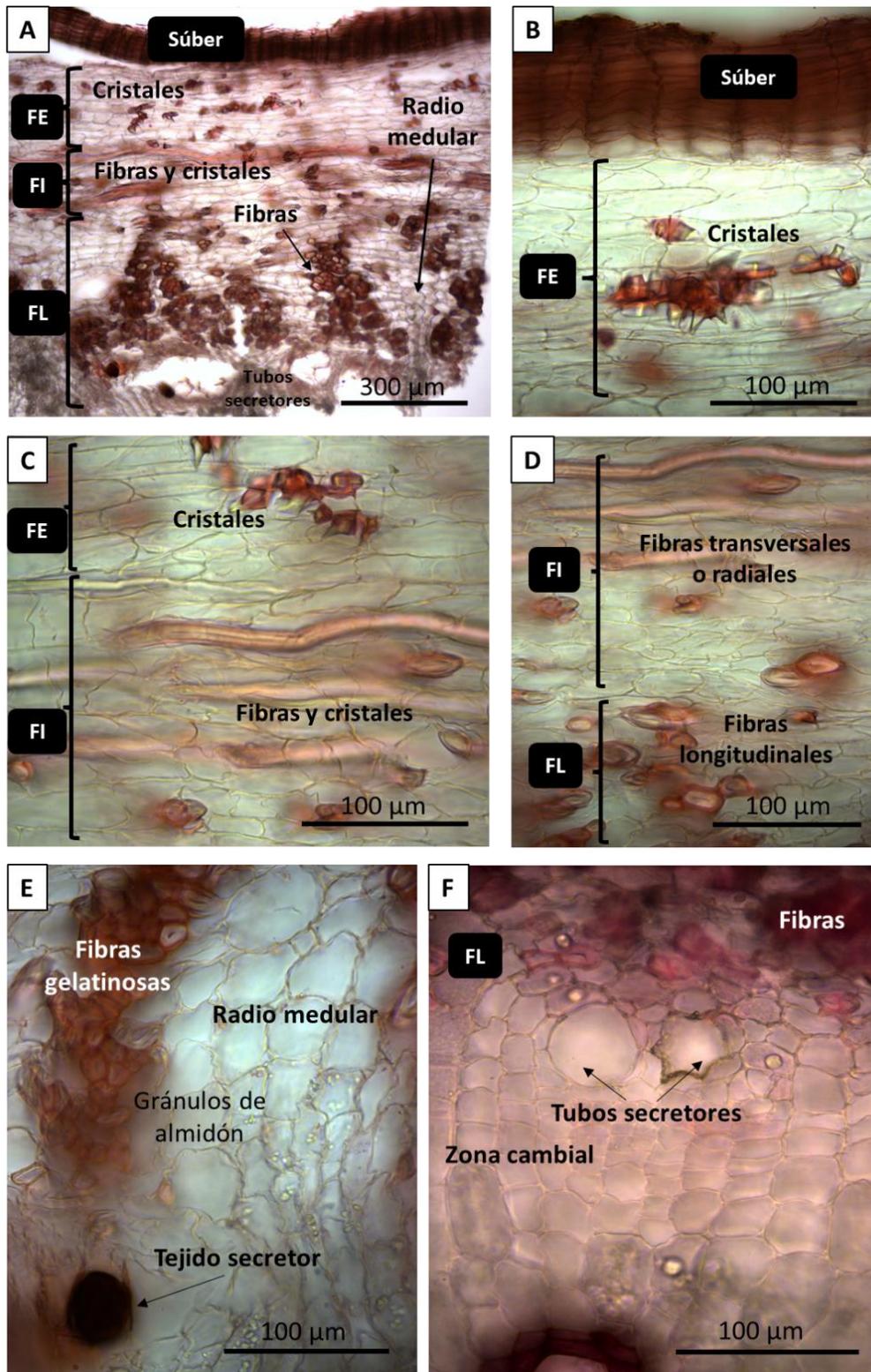


Figura 1.12. **A)** Corte transversal (CT) de la cáscara donde se observan componentes como fibras, cristales, estructuras secretoras y radios medulares (100×). **B)** CT de la cáscara, detalles de la peridermis (súber + felodermis) (400×). **C)** CT con detalles de ambos sectores (externo e interno) de la felodermis (400×). **D)** CT con detalles del sector felodermis interna-floema, donde se muestran las distintas disposiciones de las fibras en cada uno (400×). **E)** CT del floema donde se observan las fibras gelatinosas en detalle, un radio medular con gránulos de almidón y una estructura secretora (400×). **F)** CT de la zona cambial, en el límite entre la “cáscara” y el cilindro central (400×).

FE: felodermis externa; **FI:** felodermis interna; **FL:** floema.

Al analizar los componentes anatómicos de las cáscaras de raíces de ahípa se identificaron, más externamente, aproximadamente unas diez capas de células con sus paredes tangenciales de mayor longitud que las radiales, que en su conjunto forman el súber (**Figura 1.12 A y B; Figura 1.13 A y B**). Vistas en superficie, estas células se disponen a modo de celdas y muestran paredes relativamente engrosadas, de color ligeramente pardo, probablemente debido a la presencia de suberina como material de impregnación (**Figura 1.13 B**).

A continuación del súber se observó el desarrollo de una felodermis constituida por varias capas de células de bordes ligeramente irregulares, donde se destaca la presencia de abundantes cristales. En este tejido se distinguió entre felodermis externa (**Figuras 1.12 C y 1.13 C y D**) e interna (**Figura 1.12 D y 1.13 E y F**), observándose en esta última la presencia de fibras transversales o radiales (**Figuras 1.12 C y D**).

Ya se ha indicado que en muchas plantas se depositan, en algunas de sus células, excedentes de sustancias inorgánicas, entre ellas sales de calcio que forman cristales. Los más frecuentes son los cristales de oxalato de calcio y se presentan en formas diversas: como cristales rectangulares o piramidales (prismas), agregados esferoidales de cristales prismáticos (drusas) como los descritos en raíces de *Ipomoea batatas* (batata), o bajo la apariencia de cristales finos y alargados, que terminan en sus extremos en sendas puntas afiladas (rafidios) o en caras planas (estiloides) y que se hallan frecuentemente dispuestos en haces (Fahn, 1982).

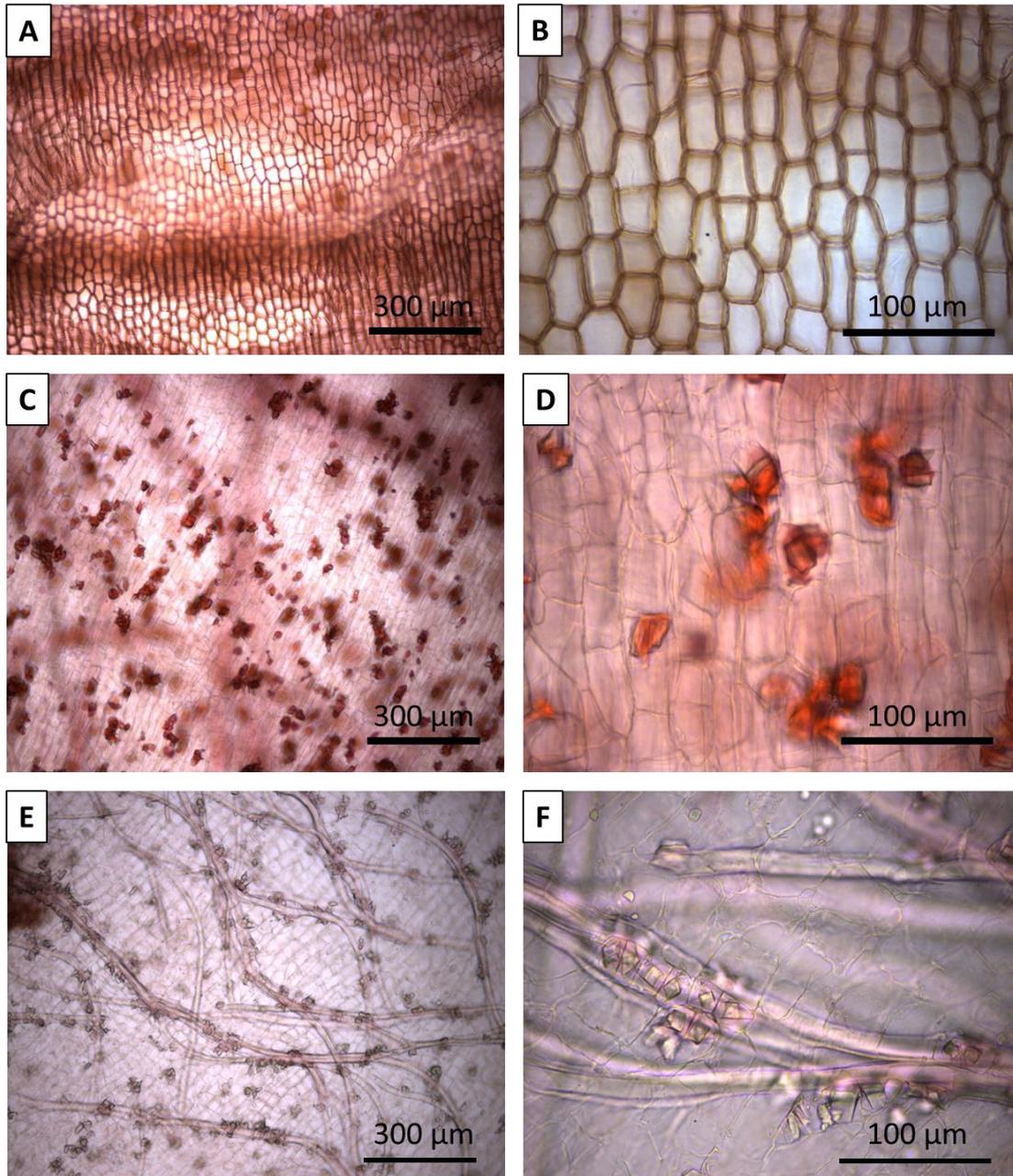


Figura 1.13. Vista en superficie del súber **A)** 100× y **B)** 400×; de la felodermis externa cristalífera **C)** 100× y **D)** 400×; y de la felodermis interna, con fibras transversales acompañadas de cristales **E)** 100× y **F)** 400×.

Además de tener funciones fisiológicas y estructurales que mejoran el funcionamiento normal de las células vegetales, la producción de cristales de oxalato permite regular la concentración de Ca^{+2} en las células de diferentes especies de plantas, lo cual es relevante ya que este ion es un importante macronutriente para el desarrollo vegetal (Altamirano et al., 2018). Es por esto que se midió la densidad de dichos cristales en la cáscara de ahípa, así como su

tamaño. Se encontró que la felodermis interna contiene alrededor de 246 cristales/mm², con un tamaño de $14 \pm 2 \mu\text{m}$ y una forma prismática (**Figura 1.13 F**). Este tipo de morfología de cristales prismáticos puede producirse cuando el transporte de calcio está limitado por la lignificación de las paredes celulares (Borchert, 1984).

Continuando con el análisis microscópico realizado, se observó que hacia el interior se dispone el floema (**Figuras 1.13 A, D y F**) con abundantes fibras, mayoritariamente longitudinales.

Entre las células del parénquima de reserva se observaron grupos dispersos de fibras que Milanez & Moraes-Dallaqua (2003) mencionan como “fibras gelatinosas” (fibras G) (**Figura 1.12 E**). Las fibras G se encuentran en diversos tejidos de las plantas vasculares⁷. Las Angiospermas presentan la mayor diversidad de localización de fibras G en diferentes tejidos y órganos (Sousa-Baena & Onyenedum, 2022).

Típicamente, las fibras son células especializadas en el sostén, comunes en varios tejidos vegetales, con extremos aguzados y una pared celular secundaria gruesa, compuesta de microfibrillas de celulosa, hemicelulosas y, a menudo, impregnada de lignina. Esta estructura celular y composición química proporcionan el soporte estructural de los órganos vegetales.

Por el contrario, las fibras G se distinguen de las fibras típicas por la presencia de una capa G engrosada más interna, que confiere propiedades contráctiles derivadas de su composición, arquitectura, localización e interacciones entre polímeros de la pared celular. La capa G está formada en un 75 % por microfibrillas de celulosa altamente cristalina, incrustadas en una matriz porosa no celulósica (25 %) similar a un gel, compuesta por pectinas, arabinogalactanos, xiloglucanos y mananos (Sousa-Baena & Onyenedum, 2022). Se ha verificado escasa lignificación de estos componentes. Estas fibras particulares aportarían no sólo a la fibra dietaria insoluble sino también a la fracción de fibra soluble, que puede ser parcialmente transformada por la microbiota del intestino, a través del proceso de fermentación (Mudgil & Barak, 2013).

⁷ Las *plantas vasculares* (helechos, licopodios, gimnospermas, angiospermas), también conocidas como traqueófitas, son un amplio grupo de plantas que poseen tejidos conductores especializados: el xilema y el floema. Se diferencian de las plantas no vasculares, como musgos y hepáticas, por poseer sistemas de conducción complejos y una organización corporal más diferenciada, que incluye raíces, tallos y hojas verdaderas.

En la **Figura 1.14** pueden observarse elementos del cilindro central de las raíces de ahípa en cortes transversales y longitudinales.

Como se indicó previamente, en el presente Trabajo de Tesis se empleó el colorante safranina para la tinción de los cortes obtenidos a mano alzada del cilindro central de las raíces de ahípa, que tiñe las paredes secundarias lignificadas de color rojo intenso, mientras que las paredes de las células parenquimáticas adquieren color rosado. Sin embargo, cabe señalar que este colorante no es específico para la detección de lignina.

Los elementos anatómicos presentes en las observaciones del cilindro central fueron mayoritariamente células del parénquima reservante y componentes de tejidos de sostén y conducción (xilema en este caso) (**Figura 1.14**). En el cilindro central, algunas de las fibras presentes se encontraron libres en el parénquima de reserva de almidón (**Figura 1.14 A y B**), frecuentemente asociadas a células conteniendo cristales (**Figura 1.14 D**). Se visualizaron asimismo células parenquimáticas adosadas a los vasos xilemáticos, conteniendo escaso almidón o cristales, presumiblemente de oxalato de calcio. El parénquima, además de reservar carbohidratos, puede también presentar células especializadas que se diferencian de las células circundantes y tienen un rol específico, denominadas idioblastos. Estas células pueden variar en forma, tamaño y contenido, y desempeñan funciones diversas. Los idioblastos a menudo contienen sustancias acumuladas o estructuras particulares que cumplen funciones específicas, como ocurre con los idioblastos que contienen cristales o taninos. En lo que respecta a los tejidos de conducción, se observaron vasos leñosos (vasos xilemáticos) acompañados por fibras (**Figura 1.14 E**).

El análisis de componentes anatómicos de las distintas partes que conforman las raíces de ahípa proporcionó información para abordar las determinaciones químicas y caracterizar las fracciones derivadas del procesamiento de estos materiales.

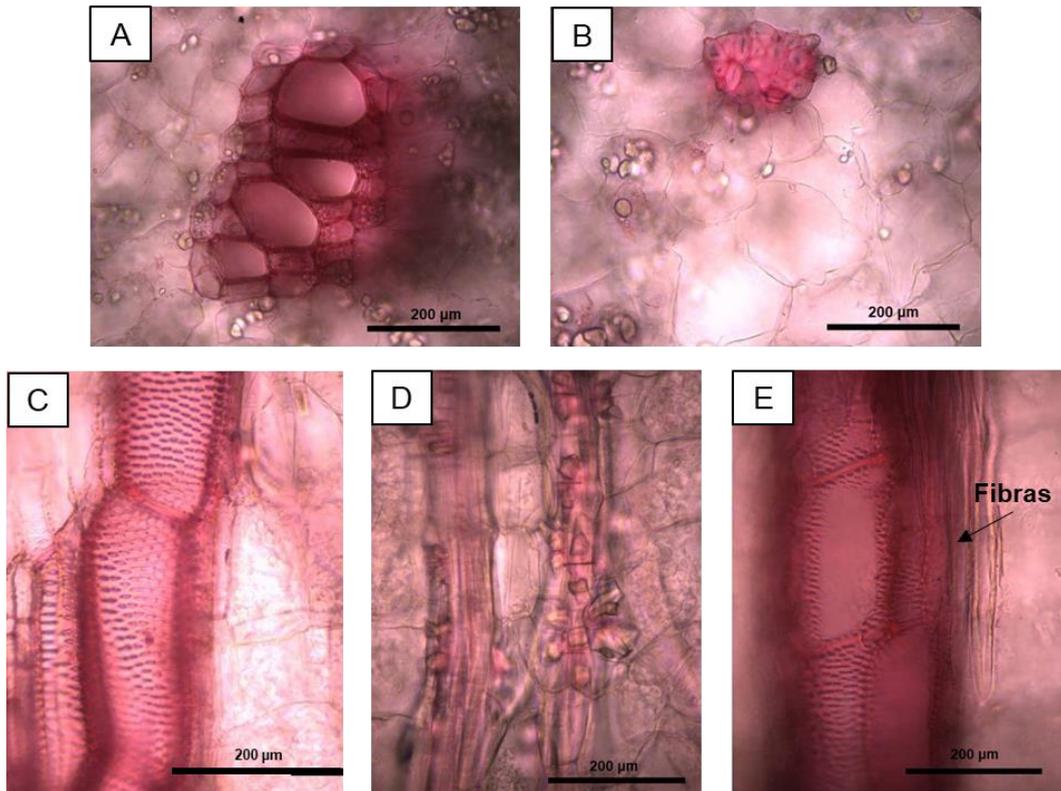


Figura 1.14. Elementos anatómicos observados en cortes a mano alzada de raíces de ahipa (cilindro central) con tinción de safranina (400×). **A)** Corte transversal (CT) donde se observan vasos leñosos del cilindro central (rosa intenso) con parénquima amilífero asociado (rosa claro). **B)** CT que muestra fibras del cilindro central agrupadas (rosa intenso) inmersas en el parénquima de reserva (rosa claro). **C)** Corte longitudinal (CL) del cilindro central, en el que se observan elementos de vasos punteados. **D)** CL de fibras del cilindro central mostrando el parénquima cristalífero asociado. **E)** CL del cilindro central, donde se observan elementos de vasos reticulados y fibras junto a los mismos.

4.1.2. Caracterización química de los tejidos internos (cilindro central) y externos (cáscaras)

La composición química de los tejidos internos y externos de las raíces de ahipa se realizó sobre el material parcialmente deshidratado a 50°C y molido (**Figuras 1.2 C y D**). Los materiales obtenidos luego de este procesamiento serán denominados *harina* (proveniente del tejido interno) y *cáscara* (del externo).

4.1.2.1. Contenido de humedad y materia seca

Como se detalló previamente, la harina de raíces de ahípa se procesó a partir del secado a 50°C y la molienda de cubos obtenidos del cilindro central. El rendimiento de la harina fue del 25,0 % del peso fresco de raíz y su contenido de humedad fue $6,98 \pm 0,05$ % (**Tabla 1.1**).

El rendimiento de la harina fue superior al de otras raíces y tubérculos andinos como el yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y la mashua (*Tropaeolum tuberosum*), cuyos rendimientos se encontraron en los rangos de 9-14 y 7-20 %, respectivamente (Leidi et al., 2018).

En el caso de la cáscara, el material parcialmente seco y molido representó el 38,3 % del peso fresco, y presentó una humedad residual del $5,55 \pm 0,07$ % (**Tabla 1.1**), similar a lo obtenido por Dusuki et al. (2020) para cáscaras de mandioca (*M. esculenta*, 5,77 %) y para dos variedades de batata (*Ipomoea batatas*, 6,02-6,69 %).

Tabla 1.1. Caracterización química de harina y cáscara de ahípa.

Muestra	Humedad (% p/p)	Fracción lipídica (% p/p)	Proteínas f =5,1 (% p/p)	Proteínas f =6,25 (% p/p)	Oxalatos (mg ác. oxálico/ 100g)
Harina	$6,98 \pm 0,05$ ^b	$0,36 \pm 0,0$ ^a	7,3 *	9,0 *	$61,84 \pm 7,29$ ^a
Cáscara	$5,55 \pm 0,07$ ^a	$1,11 \pm 0,09$ ^b	$11,63 \pm 0,05$	$14,25 \pm 0,06$	$784,13 \pm 46,65$ ^b

Los valores están expresados en base seca. El asterisco indica que el resultado corresponde a lo reportado por Doporto et al. (2011).

Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

4.1.2.2. Fracción lipídica

La fracción lipídica de la harina fue 0,36 % (**Tabla 1.1**), inferior al 0,62 % obtenido previamente en el grupo para raíces enteras (con cáscara) secadas y molidas (Dini et al., 2013). Sin embargo, teniendo en cuenta que el cilindro central representa aproximadamente el 85 % de la raíz, esta diferencia podría deberse

al aporte lipídico de la cáscara. La misma presentó un valor de 1,11 % (**Tabla 1.1**), similar a lo obtenido por Dusuki et al. (2020) para cáscaras de batata con valores entre 0,83-1,77 %.

Buckman et al. (2018) informaron un contenido de lípidos de 0,57 % para la harina de jícama (*P. erosus*) pelada, mientras que, para mandioca, también sin cáscara, Fakir et al. (2012) hallaron valores en el rango de 0,80-1,87 % para siete variedades de esta especie.

El bajo contenido de lípidos es una cualidad deseable en ciertos ingredientes alimentarios ya que se reduce el riesgo de oxidación de ácidos grasos, previniendo así el desarrollo de sabores desagradables resultantes de la rancidez; además, estos ingredientes pueden ser incluidos en preparaciones de bajo tenor lipídico (Buckman et al., 2018).

4.1.2.3. Cuantificación de proteínas

Como se ha discutido previamente, las raíces de ahípa tienen un contenido de proteínas elevado en comparación a otras raíces y tubérculos. En el caso de la cáscara de ahípa de la accesión IRNAS 9, se encontró que la misma posee 14,25 % de proteínas (calculado utilizando 6,25 como factor de conversión) (**Tabla 1.1**). Existen antecedentes de trabajos previos del grupo donde se determinó el contenido de proteínas de la harina de ahípa. Al respecto Doporto et al. (2011) reportaron valores de $9,0 \pm 0,4$ % (**Tabla 1.1**) para el producto obtenido a partir de raíces peladas, rebanadas y deshidratadas.

Se ha determinado que las proteínas presentes en raíces de ahípa son altamente solubles (Dini et al., 2021), ya que están compuestas por un 59 % de ácido aspártico (aminoácido no esencial que contiene un grupo carboxilo en su cadena lateral, otorgándole la posibilidad de portar carga negativa de acuerdo al pH del medio). Esto deriva en un punto isoeléctrico relativamente bajo (pI 3,64) en comparación a otras proteínas de origen alimenticio. Esta solubilidad es una característica deseada en alimentos, mayormente en aquellas proteínas destinadas a actuar como emulsificantes.

En cuanto a los aminoácidos esenciales, todos ellos (es decir, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina e histidina)

están presentes en las proteínas de ahípa. Estos aminoácidos esenciales representan el 19,2 % del contenido de aminoácidos totales (Dini et al., 2021). Las proteínas de ahípa no son en su mayoría de reserva, y no son prolaminas (Doporto, 2012), por lo que son aptas para el consumo por parte de personas con celiaquía e intolerancia al gluten, ya que las prolaminas (gliadinas) junto a las gluteninas son las encargadas de formar el complejo proteico en cuestión. En el caso de las raíces de *Pachyrhizus erosus*, una especie más difundida del género *Pachyrhizus*, vulgarmente conocida como jícama, se determinó una fracción proteica del 6,03 % p/p (Buckman et al., 2018), inferior al valor hallado para las raíces de ahípa. En lo que respecta a otros géneros y especies productoras de raíces y tubérculos, Wichrowska & Szczepanek (2020) encontraron que para la papa este valor es superior (entre 9,91 y 11,44 % p/p). Las raíces de batata tienen un contenido de proteínas que varía entre 3 y 10 % p/p, dependiendo de la variedad estudiada (Sherry, 2003). A diferencia de la ahípa, que no presenta típicas proteínas de almacenamiento, la principal proteína que cumple esta función en la raíz de batata y que representa aproximadamente el 80% de la proteína total de la raíz, se denomina esporamina (Sun et al., 2012).

4.1.2.4. Cuantificación de oxalatos

En un trabajo previo del grupo (Dini et al., 2013) se determinó que uno de los principales antinutrientes presentes en raíces de ahípa son los oxalatos. Los cristales de oxalatos pueden ser considerados como antinutrientes, ya que un contenido elevado de los mismos se refleja en un sabor acre y reacciones irritativas, lo que puede limitar el consumo en fresco de los productos, como ocurre con la especie *Xanthosoma sagittifolium*, productora de tubérculos (Ramos et al., 2020).

Al respecto, según Bargagli et al. (2020), el consumo diario de oxalatos en adultos se estima entre 183 y 214 mg por día. Se ha demostrado que el exceso de oxalatos en la dieta puede relacionarse con distintas afecciones y lesiones en los riñones, como por ejemplo un ascenso en la excreción urinaria de oxalato de calcio, seguido de la formación y deposición de cristales, formando cálculos renales (Coe et al., 2005).

El contenido de oxalatos en raíces enteras de ahípa encontrado por Dini et al. (2013) fue de 214,63 mg de ácido oxálico/ 100 g, mientras que en la harina obtenida en el presente Trabajo de Tesis a partir de la raíz pelada fue de 61,84 ± 7,29 mg de ácido oxálico/ 100 g. La mayor parte de este compuesto se encuentra en la cáscara, con un valor de 784,13 ± 46,65 mg/100 g (**Tabla 1.1**). Como se mencionó previamente, el cilindro central (o pulpa) de las raíces de ahípa corresponden al 85% de la masa fresca total de las mismas. Teniendo en cuenta la proporción de materia seca de la pulpa y de la cáscara, podemos estimar que el contenido total de oxalatos en las raíces de ahípa obtenidas en el presente Trabajo de Tesis sería de 214,96 mg de ácido oxálico /100 g, lo cual se condice con lo encontrado previamente.

En *Pachyrhizus tuberosus*, otra especie diferente pero perteneciente al mismo género botánico que la ahípa, el contenido de oxalato de calcio reportado en raíces enteras fue de 499,67±0,1 mg de oxalato de calcio/100 g (Ramos et al., 2020), lo que equivaldría a 351,33 mg de ácido oxálico/100 g, un 64% más que en ahípa. En referencia a otros vegetales aprovechados por sus órganos subterráneos, los tubérculos de oca (*Oxalis tuberosa*) se caracterizan por tener un alto contenido de oxalatos (413,3-1167,8 mg de ácido oxálico/100 g), mayormente en la forma de sales de oxalato solubles (Ross et al., 1999). Estos valores son muy superiores a los encontrados en el cilindro central de ahípa, por lo que la harina de ahípa no sería una fuente importante de estos antinutrientes. Como pudo observarse en las **Figuras 1.12 y 1.13**, se encontraron cristales, particularmente en la felodermis de la cáscara, tanto libres como asociados a fibras. La presencia de cristales fue muy superior en la cáscara respecto al cilindro central, y la cuantificación de ácido oxálico en este tejido arrojó un valor de 784 ± 46 mg de ácido oxálico/ 100 g de cáscara, casi 13 veces superior al de la harina obtenida a partir del cilindro central, lo que refuerza la evidencia de que los cristales observados corresponden a oxalatos.

4.2. Caracterización de los residuos fibrosos de la extracción de almidón del cilindro central

El tratamiento en autoclave, es decir, con calor húmedo, es el agente esterilizante más frecuentemente utilizado, ya que destruye eficazmente los microorganismos por desnaturalización de proteínas, entre ellas las que actúan

como enzimas, y mediante desestabilización de las membranas (Pérez-Uz et al., 2011). Los rangos de temperatura aceptados para este tipo de tratamiento están entre 118-134°C. El procedimiento más habitual de esterilización consiste en someter el material a una temperatura de 121°C (1 atm de sobrepresión), durante al menos 15 minutos (Boca et al., 2002). Sin embargo, estos parámetros se pueden modificar dependiendo de condiciones tales como el volumen a esterilizar, la composición, y la naturaleza del medio. Es por esto que se consideró que el tratamiento efectuado sobre el residuo fibroso podría, además de inducir cambios estructurales que modifiquen sus propiedades funcionales, eliminar su carga microbiana y aumentar su vida útil.

Por otra parte, el ultrasonido es una onda de sonido mecánica de una frecuencia superior a 20 kHz; tiene la ventaja de presentar un bajo consumo de energía. Además, es eficiente en la disociación de biomasa, debido a que posee buena directividad y una fuerte capacidad de penetración (Ji et al., 2021). La cavitación ultrasónica, es decir el fenómeno que produce el ultrasonido utilizado en un medio líquido, ayuda a romper los enlaces de hidrógeno y éter, contribuyendo a liberar así la lignina y los carbohidratos de muestras vegetales. Se ha mencionado también que podría romper la estructura cristalina de la celulosa (Ong & Wu, 2020).

Por otra parte, los iones Ca^{+2} tienen un rol importante en las paredes celulares, ya que participan en interacciones entre algunos de los polisacáridos que la conforman, particularmente con las pectinas, favoreciendo la unión de las mismas a la matriz de la pared celular (Demarty, Morvan & Thellier, 1984). Es por ello que, agregando agentes quelantes al medio, se pueden secuestrar iones Ca^{+2} y modificar en parte el ensamblaje de los componentes (Renard & Thibault, 1993). De esta forma, podría modificarse la estructura de los residuos.

4.2.1. Análisis microscópicos de los residuos fibrosos

Imágenes obtenidas a partir de los disociados de los residuos tratados con NaOH (3 % p/v) para su observación al microscopio se muestran en la **Figura 1.15**. A grandes rasgos, los mismos elementos anatómicos descritos en los cortes obtenidos a partir de las raíces fijadas en solución de formaldehído-alcohol-ácido acético (FAA) pudieron identificarse en los disociados correspondientes.

Se pudo observar que en el residuo de la primera extracción acuosa (A1), las fibras que se visualizan no presentaron grandes modificaciones respecto a lo que se observó en los cortes histológicos de las raíces de ahípa (**Figura 1.14 E**). Debido a que el tratamiento implementado para la obtención de A1 no induce mayores modificaciones físicas ni químicas, sino que consiste en una única extracción con agua, es esperable que el material sólo haya sufrido la pérdida de compuestos solubles y dispersables en agua.

Luego de atravesar las seis extracciones acuosas, en el residuo A6 fue posible también evidenciar parte del parénquima cristalífero visualizado previamente (**Figura 1.14 D**), aunque, posterior a los tratamientos físicos con autoclave y ultrasonido, en el residuo ATF se pudieron observar los cristales aparentemente adheridos sobre algunas fibras.

Ya se indicó previamente (**sección 3.2.3.4**) que los cristales prismáticos observados en las muestras de ahípa podrían ser de oxalato, corroborando lo hallado por Dini et al. (2013), quienes determinaron que el contenido de oxalatos de las raíces de ahípa de la accesión IRNAS 9 es de los más altos en comparación con otras accesiones como IRNAS 5 y 11 (176,43 y 58,37 mg/100 g, respectivamente).

Por otra parte, y complementando lo analizado en la **sección 3.2.3.4**, se ha reportado la presencia de cristales de oxalato de calcio en varios géneros examinados de la familia *Leguminosae* (Leguminosas) (*Cajanus*, *Desmodium*, *Glycine*, *Lespedeza*, *Phaseolus*, *Vigna*) que tienen nódulos en sus raíces y exportan ureidos (productos intermediarios importantes en el proceso de fijación biológica de nitrógeno) (Sutherland & Sprent, 1984). Cabe considerar, como información adicional, que Rodríguez-Navarro et al. (2009) estudiando el potencial de fijación de N₂ de plantas de *P. ahípa*, informaron que la composición del xilema mostró una concentración creciente de ureidos que podría estar relacionada con la maduración de los nódulos a nivel de las raíces.

En base al análisis microscópico efectuado, podría decirse que, luego de los tratamientos físicos implementados para la obtención de residuos fibrosos de ahípa, los cristales podrían quedar más expuestos y extraerse con mayor facilidad.

Como puede observarse en la **Figura 1.15**, en el residuo tratado con EDTA y oxalato (AEO) persisten fragmentos del tejido de conducción xilemático, formados por miembros de vasos reticulados.

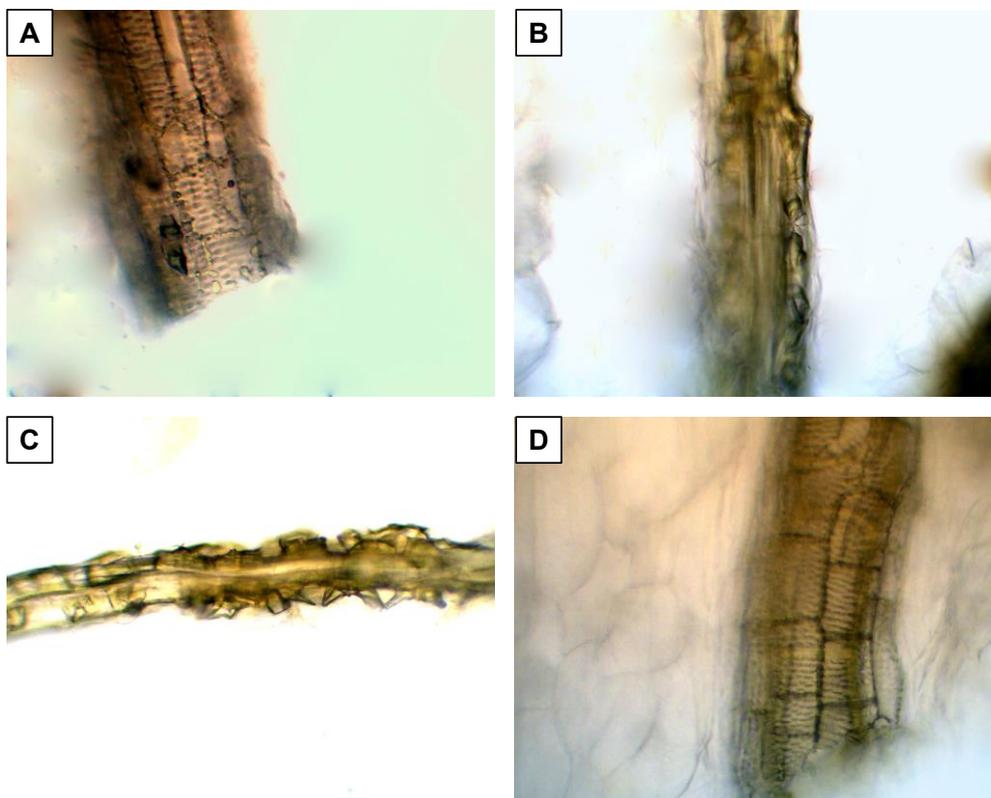


Figura 1.15. Micrografías (250×) de los residuos fibrosos tratados con NaOH (3% p/v) montados en glicerina: agua (1:1). **A)** A1, **B)** A6, **C)** ATF y **D)** AEO

4.2.2. Análisis químicos de los residuos

4.2.2.1. Cuantificación de almidón remanente fácilmente extraíble

Según estudios previos del grupo, la harina de ahípa tiene un 46,9 % p/p de almidón total (Doporto et al., 2011).

En el primer paso de extracción, el residuo A1 presentó un contenido de almidón del 44,44 % p/p (**Tabla 1.2**). Si bien esta reducción parece poco significativa, se observó abundante almidón en suspensión en esta primera lechada, por lo que se debe considerar también la pérdida de agua y de componentes solubles en similar proporción al almidón, generando un efecto de aparente “conservación” del contenido de este polisacárido. Luego de los seis pasos de extracción acuosa, se observó un descenso de poco más de la mitad (19,49%), indicando,

ahora sí, la pérdida de una mayor proporción de almidón respecto a otros componentes celulares.

Los residuos de la extracción de almidón de papa, pueden contener hasta un 37 % p/p de almidón remanente (Fritsch et al., 2017), con un contenido inicial de almidón en el tubérculo de papa de aproximadamente 70 % (Jiménez-Hernández, 2007), lo que representa, en proporción, una eficiencia menor de extracción que en las raíces de ahipa.

El calentamiento ejercido durante el tratamiento en autoclave del bagazo obtenido provocó el hinchamiento irreversible y la pérdida de la estructura de los gránulos de almidón remanentes en los residuos.

Por esta razón, después de los tratamientos físicos implementados, principalmente el autoclave (121°C), se esperaría que el almidón retenido luego de las extracciones acuosas pueda ser eliminado de la matriz, ya que la temperatura del autoclave supera ampliamente a la de gelatinización del almidón de ahipa, que se presenta en un rango de 64,2 a 70,5°C (López & García, 2012); esto coincide con la notoria disminución en el contenido de almidón verificada para el residuo ATF, donde el nivel de almidón remanente fácilmente extraíble fue de 3,54 % p/p, por lo que representaría un ingrediente con menor contenido calórico para su uso en alimentos.

El uso de autoclave, además de reducir el contenido de almidón residual, genera una modificación en la estructura de la fibra. Li et al. (2019) reportaron que durante la exposición térmica por tratamiento en autoclave de residuos de cuajada de soja (tofu), se degrada primero la hemicelulosa y luego la celulosa. Como resultado, se observaron aumentos en la cantidad de fibra dietaria soluble (FDS), en la viscosidad aparente y en el grado de solubilidad.

Finalmente, luego del tratamiento con EDTA y oxalato (AEO), no hubo diferencias significativas en el contenido de almidón remanente fácilmente extraíble ($p < 0,05$) con respecto al residuo anterior. Este tratamiento, en las condiciones ensayadas, no estaría induciendo cambios sustanciales en la estructura de la fibra y, por ende, en la liberación del almidón presente dentro de éstas.

Tabla 1.2. Composición química de los residuos de ahípa.

Muestra	Almidón extraíble (% p/p)	Proteínas (% p/p) f=5,1	Proteínas (% p/p) f=6,25	Pectinas (µg AG/ g muestra)	FTE (mg EAG/ 100g)	Taninos (mg EAG/ 100g)	Taninos (% de FTE)	Oxalatos (mg AO/100 g)
A1	44,44 ± 0,28 ^c	2,38 ± 0,06 ^{a,b}	2,92 ± 0,07 ^{a,b}	267,2 ± 21,3 ^a	101,2 ± 10,42 ^b	59,09	58,4	77,77 ± 7,33 ^a
A6	19,49 ± 0,36 ^b	2,50 ± 0,16 ^b	3,06 ± 0,20 ^b	216,7 ± 4,8 ^a	30,32 ± 2,32 ^a	20,30	67,0	72,10 ^a
ATF	3,54 ± 0,07 ^a	2,05 ± 0,08 ^a	2,51 ± 0,10 ^a	229,3 ± 0,7 ^a	25,35 ± 2,31 ^a	19,60	77,5	73,89 ± 3,60 ^a
AEO	2,12 ± 0,08 ^a	ND	ND	375,7 ± 27,4 ^b	16,41 ± 0,69 ^a	11,62	70,7	ND

FTE: fenoles totales extraíbles; EAG: equivalentes de ácido gálico; AO: ácido oxálico. ND: no determinable por esta técnica.

Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05).

4.2.2.2. *Contenido de proteínas*

En lo que respecta a los residuos fibrosos obtenidos en el presente Trabajo de Tesis, pudo observarse que, luego de la primera extracción acuosa (A1), el contenido proteico fue 2,38 % p/p (**Tabla 1.2**), evidenciando la pérdida de parte de las proteínas solubles. En la sexta extracción acuosa (A6), la proporción de este componente aumentó levemente (2,50 % p/p), lo cual puede deberse a la extracción del almidón remanente que, en proporción, resultó mayor a la de otros componentes como las proteínas. En cuanto al residuo tratado con autoclave y ultrasonido (ATF), el tenor de proteínas descendió hasta 2,05 % p/p, no presentando diferencias significativas con el residuo A1. No se determinó la cantidad de proteínas por este método en el residuo AEO, debido a que pueden haber quedado restos de EDTA en la matriz y es necesario considerar que este agente quelante contiene nitrógeno en su estructura (elemento que, como ha sido indicado anteriormente, se determina en la cuantificación por el método Kjeldahl como base para la estimación de proteínas totales).

En la obtención de residuos luego de la extracción de almidón a partir de distintas variedades de batata y papa realizado por Ju et al. (2017), se observó que el contenido de proteínas se encontraba en un rango de 1,61 a 3,98, y de 1,72 a 3,94 % p/p, respectivamente. Dichos autores plantean que, gracias a su contenido proteico, así como el de otros nutrientes (fibra dietaria y minerales), estos residuos deberían ser utilizados directa y completamente en la producción alimenticia.

La mayoría de los aislados de proteínas vegetales comerciales disponibles en la actualidad emplean una técnica de extracción y fraccionamiento en húmedo que provoca una gran desnaturalización y agregación de las proteínas, lo que afecta gravemente a la funcionalidad, debido a las condiciones severas utilizadas (Sim et al., 2021). En este sentido, el uso del residuo tal como se obtiene de la extracción del almidón (A6) podría resultar mejor en su aporte de proteínas, aunque con mayor contenido de almidón que el tratado en autoclave.

4.2.2.3. Contenido de pectinas

El primer residuo de ahipa (A1) mostró un valor muy bajo de pectinas ($267,2 \mu\text{g/g} = 0,027 \text{ \% p/p}$), cuantificadas como ácido galacturónico (**Tabla 1.2**). Este resultado era esperable ya que, en raíces del mismo género que las de ahipa, como las de jícama (*P. erosus*), el contenido de pectinas se encuentra en el rango de 0,7 a 1,9 % p/p (González-Vázquez et al., 2022).

La pectina soluble en agua contiene una fracción de moléculas que son de naturaleza no iónica y están unidas de forma no covalente a las paredes celulares vegetales (Mierczyńska, 2015). Cuanto más extenso sea el procedimiento para eliminar el almidón, mayor es la pérdida de polisacáridos solubles en agua, entre ellos las pectinas (Giusti & Wrolstad, 2001). Sin embargo, en el caso de los residuos de ahipa, las etapas de extracción subsiguientes, que generaron los residuos A6 y ATF, no presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el contenido de pectinas respecto al primer residuo (A1), (**Tabla 1.2**).

La fracción de pectina soluble en quelantes se puede extraer con agentes como imidazol o EDTA, ya que los polímeros de pectina se unen mediante enlaces iónicos a la pared celular, por ejemplo, a través de iones de calcio (Chandel et al., 2022). Por tal motivo, secuestrando dichos iones podría debilitarse la unión a la pared celular y extraerlas más fácilmente.

Luego del tratamiento con agentes quelantes (EDTA y oxalato) se observó un aumento del contenido de pectinas del residuo (AEO), presentando un valor de $375,7 \mu\text{g/g} = 0,038 \text{ \% p/p}$ (**Tabla 1.2**). Este aumento aparente en el contenido de polisacáridos pécticos puede deberse a la desestructuración de los restos de pectina presentes en el residuo, permitiendo una mayor cuantificación de la misma.

Dado que este último paso de tratamiento químico no produjo una modificación considerable en la estructura de la fibra, presentando morfología y composición similares a las observadas previo al tratamiento químico, se determinó que este paso podría descartarse.

4.2.2.4. Cuantificación de compuestos fenólicos

Cuando se considera el uso de los residuos de la extracción de almidón de ahípa como potenciales ingredientes alimentarios, resulta importante conocer tanto el contenido de taninos, que pueden funcionar como factores antinutricionales, como de compuestos fenólicos oxidables que pudieran producir cambios en el producto durante su almacenamiento.

Los compuestos polifenólicos son los antioxidantes más abundantes en la dieta humana y están presentes en gran medida en alimentos y bebidas de origen vegetal (Nardini, 2022). Los taninos son considerados factores antinutricionales por formar complejos con diversos tipos de moléculas, incluyendo no sólo proteínas (entre ellas las enzimas digestivas) sino también carbohidratos, vitaminas y minerales. Además, las interacciones entre los compuestos fenólicos y la matriz alimentaria cambian durante la digestión debido a que los alimentos experimentan varias transiciones y transformaciones (Vaz et al., 2022).

La denominada fibra dietaria antioxidante es un componente que contiene cantidades significativas de antioxidantes naturales asociados con la matriz de fibra (Subiria-Cueto et al., 2021). Está compuesta por polifenoles no extraíbles, unidos a la fibra dietaria, y presenta distinta biodisponibilidad (Wang et al., 2023). Los ácidos hidroxicinámicos, tanto monoméricos como poliméricos, y los taninos, son los principales compuestos fenólicos asociados a la fibra dietaria, con la que interaccionan tanto covalente como no covalentemente (Subiria-Cueto et al., 2021). Por ejemplo, puede haber enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos y los polisacáridos, para luego estabilizar dicha interacción por fuerzas de Van der Waals; también pueden ocurrir interacciones hidrofóbicas entre los anillos aromáticos de los fenoles y las regiones hidrofóbicas de los polisacáridos (D'costa & Bordenave, 2023).

En productos panificados se ha estudiado el efecto producido por un aumento de compuestos fenólicos y fibra dietaria, como mejora nutricional frente al alto índice calórico de este tipo de productos. Para estudiar la interacción entre estos componentes, se ha evaluado *in vitro* la inhibición de enzimas digestivas, el índice glicémico y la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos con el agregado de polvo de semillas de calabaza a bizcochos, cáscara de mango a

muffins, o salvado de arroz a panes (Serra-Majem & Bautista-Castaño, 2015; Nyam, Lau & Tan, 2013; Vasileva et al., 2018).

Como se observa en la **Tabla 1.2**, el contenido de compuestos fenólicos totales extraíbles (FTE) fue superior en el residuo A1, con una fracción de taninos del 58,4% respecto a los FTE. Esto puede relacionarse con la presencia de estructuras secretoras observadas en los análisis microscópicos (**Figura 1.12 E**), ya que, debido a su color amarronado, es esperable que contengan compuestos fenólicos (posiblemente, taninos). A partir del residuo A6, los valores de FTE disminuyeron casi en un 70%, pero su composición fue de taninos mayoritariamente, alcanzando valores de hasta 77,5 % respecto a los fenoles totales.

Dini et al. (2013) encontraron que la accesión IRNAS 9 de ahípa presentaba un contenido de fenoles totales de 373 mg de ácido tánico/100 g, lo que equivale a 234 mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g. Este valor es más del doble del encontrado en el primer residuo de ahípa (A1), y la diferencia es aún mayor si se considera la pérdida de otros compuestos solubles de la raíz para obtener residuo A1.

Idrovo Encalada et al. (2016) encontraron en un residuo fibroso de zanahoria (*Daucus carota*) un valor de fenólicos de 240 mg EAG/100 g, superior a los valores encontrados para los residuos de ahípa (**Tabla 1.2**).

El uso del residuo A1 como ingrediente alimentario podría presentar cierto aporte de compuestos fenólicos a la dieta. Sin embargo, los otros residuos presentan escaso nivel de compuestos fenólicos totales extraíbles (FTE) como para generar un aporte significativo a la ingesta diaria a partir de su potencial uso como ingrediente alimentario o como para contribuir a las propiedades antioxidantes y a la mejora de estos aspectos tecnológicos y funcionales.

4.2.2.5. Contenido de oxalatos

Como se mencionó previamente, la harina de ahípa presentó un contenido de oxalatos de $61,84 \pm 7,29$ mg de ácido oxálico/ 100 g (**sección 4.1.2.4**). Los residuos fibrosos A1, A6 y ATF no presentaron diferencias significativas entre sí ($p < 0,05$) (**Tabla 1.2**), y tampoco con la harina, por lo que podría inferirse que los cristales de oxalato remanentes luego de las extracciones acuosas estarían

unidos a las fibras, tal como se observó en la **Figura 1.13**, y que, a pesar de los distintos tratamientos, no se desprenden ni se solubilizan, como puede observarse en la **Figura 1.15**, donde luego de los tratamientos físicos se siguen observando un importante número de cristales adheridos a las fibras.

Por otra parte, Nguyen & Savage (2020) hallaron que los tallos de ruibarbo (*Rheum rhabarbarum*), los cuales presentan un alto contenido de oxalatos, mostraron una disminución del 50,2 % de dichos componentes luego de ser sometidos a una cocción mediante hervor, donde el 49 % de dicha reducción correspondió al desprendimiento de oxalatos insolubles, y el 51 % a la solubilización de los restantes. Contrariamente, en el presente Trabajo de Tesis, se observó una relativa constancia en el contenido de oxalatos al comparar los distintos residuos de la extracción de almidón de ahípa. Esto indicaría que posiblemente se trate de oxalatos poco solubles, fuertemente asociados a la fibra (**Tabla 1.2** y **Figura 1.15**).

4.2.3. Medida de color

En la **Figura 1.16** se pueden observar fotografías de los residuos, mientras que los valores de la diferencia total de color (ΔE) y el índice de pardeamiento (IP) de los mismos se presentan en la **Tabla 1.3**. Como puede verse en dicha figura, los residuos A1 y A6 presentaron colores más bien blanquecinos, lo cual podría relacionarse con su alto contenido de almidón residual (**Tabla 1.2**).



Figura 1.16. Macrográficas de los residuos fibrosos A1, A6, ATF y AEO.

Se observó un leve aumento tanto de la diferencia total de color, como del índice de pardeamiento desde A1 a A6 (**Tabla 1.3**). Luego de los tratamientos físicos (ATF), tanto ΔE como IP sufrieron un ascenso marcado ($p < 0,05$). Finalmente, para el residuo del tratamiento químico (AEO), se observó un descenso en ΔE , pero con valores cercanos a los del residuo ATF, mientras que el IP se vio levemente aumentado en este paso.

El pardeamiento puede ser el resultado de reacciones químicas o de reacciones enzimáticas. El pardeamiento durante las extracciones acuosas podría estar dado por estas últimas. Sin embargo, es esperable que luego del tratamiento en autoclave, la mayor parte de las proteínas, y por consiguiente las enzimas, se hayan desnaturalizado, por lo que el marcado cambio del color y del índice de pardeamiento en ATF se podría asociar a compuestos fenólicos y otras moléculas que puedan generar compuestos coloreados por oxidación química. En el caso del residuo AEO, la variación no fue tan marcada, probablemente debido a que la mayor oxidación tuvo lugar durante el tratamiento térmico previo.

Tabla 1.3. Medida de color de los residuos fibrosos.

Muestra	ΔE	IP
A1	4,42 \pm 0,10 ^a	8,32 \pm 0,16 ^a
A6	6,03 \pm 0,50 ^b	11,27 \pm 0,50 ^b
ATF	36,53 \pm 1,54 ^d	29,05 \pm 0,53 ^c
AEO	29,92 \pm 1,46 ^c	30,35 \pm 0,45 ^d

ΔE : diferencia total de color; IP: índice de pardeamiento. Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

4.2.4. Espectros ATR-FTIR

Esta técnica es sensible a la estructura química de los compuestos, puesto que refleja las vibraciones características de los grupos de átomos comprendidos en la misma. Los espectros ATR-FTIR típicos muestran varios picos de absorbancia debido a transiciones fundamentales distribuidas en cuatro regiones principales (Canteri et al., 2019): la región de estiramiento X-H (2500–4000 cm^{-1}), la región

de triple enlace ($2000\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$), la región del doble enlace ($1500\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$) y la región de la huella dactilar ($400\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$), donde cada compuesto tiene su propio patrón único. La región de 1400 cm^{-1} a 1800 cm^{-1} podría brindar información sobre los grupos funcionales que aparecen en las moléculas estudiadas (Szymanska-Chargot & Zdunek, 2013). Siendo una técnica muy rápida, la espectroscopia infrarroja, presenta gran aplicación en la investigación de carbohidratos, especialmente para los polisacáridos de la pared celular: pectinas, hemicelulosas y celulosa. Los polisacáridos muestran un posicionamiento e intensidad específicos de las bandas en los espectros FTIR, por lo tanto, el análisis de la región de $400\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ brinda la posibilidad de reconocer carbohidratos específicos.

Los espectros ATR-FTIR de A1 y A6 exhibieron una alta similitud ($97,48\pm 0,46\%$ y $97,78\pm 0,49\%$, respectivamente) (**Tabla 1.4**) con el de almidón de ahípa nativo, en la región de la huella dactilar de azúcares (900 a 1200 cm^{-1}), mostrando un pico máximo centrado en 996 cm^{-1} . Esto concuerda con los valores de almidón obtenidos previamente y explica el color blanquecino de estos bagazos. Las modificaciones derivadas de los tratamientos físicos en los residuos ATF y AEO se reflejaron en una mayor similitud con el espectro del almidón gelatinizado en lugar del almidón nativo, particularmente evidenciado por la aparición de un pico a 1013 cm^{-1} (**Figura 1.17**). Resultados similares fueron reportados por Díaz et al. (2018) para el almidón de mandioca. Además, la reducción en la cantidad de almidón total producida por los tratamientos físicos se evidenció en una menor similitud de ATF con ambos tipos de almidón (**Tabla 1.4**) en la zona de huella de azúcares, lo que indica un mayor aporte de carbohidratos distintos al almidón en la respuesta de la muestra.

En la zona de 3270 a 3290 cm^{-1} se observa el estiramiento O-H de agua líquida (interacciones de puentes de H fuertes o extremadamente fuertes) (Piermaria et al., 2011), que fueron similares para todos los residuos, salvo para A6, donde el pico se desplazó a 3292 cm^{-1} , lo cual podría deberse a una diferencia de humedad residual.

En el rango de 1600 a 1630 cm^{-1} se evidencian los estiramientos de iones -COO^- donde se observó una intensificación del pico a 1629 cm^{-1} para el residuo AEO, que podría estar influenciado por el EDTA residual que pudo haber quedado en la muestra, ya que en su estructura posee cuatro grupos -COO^- .

En el rango de 1139 a 1164 cm^{-1} se observan las vibraciones de los enlaces C-O-C del anillo glucosídico (Abidi et al., 2014) que, como es de esperar, se visualizan en todos los residuos. Entre 995 y 1080 cm^{-1} , se evidencian las vibraciones de los enlaces C-O-H del anillo glucosídico (Maréchal & Chanzy, 2000), también relacionadas al almidón y componentes de pared.

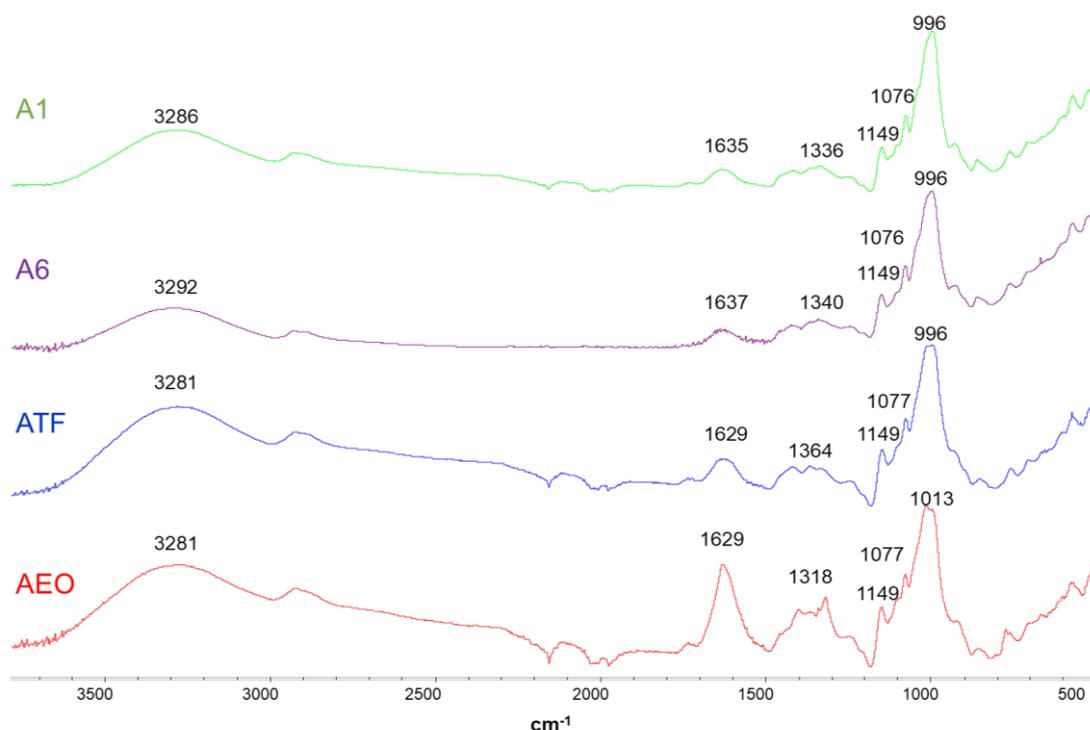


Figura 1.17. Espectros ATR-FTIR de los residuos fibrosos.

Tabla 1.4. Similitud de los espectros ATR-FTIR de los residuos fibrosos frente a los de almidón de ahipa nativo y gelatinizado.

Muestra	Similitud con almidón de ahipa nativo (%)	Similitud con almidón de ahipa gelatinizado (%)
A1	97,48 ± 0,46 ^c	96,98 ± 0,33 ^c
A6	97,78 ± 0,49 ^c	96,05 ± 0,56 ^c
ATF	91,80 ± 0,58 ^b	94,23 ± 0,34 ^b
AEO	90,46 ± 0,35 ^a	92,09 ± 0,97 ^a

Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

5. Conclusiones

Se indagó sobre los componentes anatómicos del cilindro central de raíces de ahipa (*Pachyrhizus ahipa*, accesión IRNAS 9), donde se observaron, principalmente, tejidos de sostén (fibras) y conducción (miembros de vasos del xilema), así como parénquima de reserva amilífero. Además, se caracterizó la cáscara de dichas raíces tanto anatómica como químicamente, encontrando, como características sobresalientes, numerosos cristales de oxalato en la felodermis, y un alto contenido proteico en relación al cilindro central.

Considerando a las raíces de ahipa como una fuente de almidón de mayor contenido de fibra respecto a otras R&Ts más difundidas, como papa o mandioca, su procesamiento acarrearía una mayor producción de residuos fibrosos.

Se analizaron los residuos de la extracción acuosa de almidón y sus cambios luego de un tratamiento físico, con autoclave y ultrasonido, y posteriormente uno químico, con EDTA y oxalato, respecto a la reducción en el contenido de almidón residual y los cambios que estos tratamientos produjeron en la estructura de la fibra.

Como era de esperarse, se observó una disminución progresiva en el contenido de almidón residual entre los residuos de la primera y la sexta extracción acuosa de almidón, quedando este último residuo todavía con un importante contenido de almidón extraíble (19,49%). Se observó un marcado descenso de este polisacárido luego de los tratamientos físicos, tanto por la gelatinización del almidón como por la disrupción de la estructura de las fibras, lo que permitió una mayor extracción. Finalmente, el tratamiento químico no presentó diferencias significativas en el contenido de almidón respecto al residuo anterior.

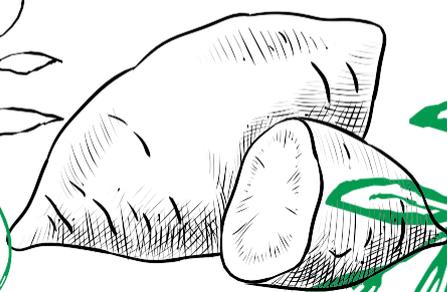
Si bien las raíces de ahipa tienen un contenido relativamente alto de compuestos fenólicos, el proceso de extracción del almidón remueve la mayor parte de éstos. Los fenólicos remanentes pueden ser responsables del incremento en el pardeamiento luego de los tratamientos físicos. El contenido proteico de los residuos de ahipa resultó del orden de los hallados en residuos de extracción de almidón de papa y batata y, dado que las raíces de ahipa no contienen prolaminas como proteínas de reserva, estos residuos podrían emplearse como

ingredientes en alimentos aptos para personas celíacas e intolerantes al gluten. Particularmente, el pardeamiento originado por el tratamiento térmico podría mejorar el color de productos horneados libres de gluten, que suelen ser más pálidos que los panificados tradicionales, además de incrementar el contenido de fibra.

Dado que no se observaron diferencias significativas en el contenido de almidón del residuo sometido al tratamiento químico (AEO) respecto a los tratamientos físicos (ATF), se descartó este último paso para las posteriores extracciones de almidón de raíces de ahipa y mandioca (**Capítulo 2**). Los tratamientos físicos, que fueron los que generaron las mayores diferencias en las variables analizadas, se estudiaron posteriormente, tanto de manera individual como combinados, invirtiendo el orden de aplicación.



Capítulo 2.
Análisis fisicoquímicos
de residuos fibrosos de
la extracción de almidón
de ahípa y mandioca:
aplicación de
tratamientos físicos
(autoclave y
ultrasonido)



1. Introducción

El empleo de granos enteros o cereales integrales, la incorporación de hortalizas y frutas en forma de extractos, polvos o harinas, así como el uso de residuos vegetales para reducir desechos y evitar potenciales impactos sobre el medio ambiente, son alternativas prometedoras para añadir valor nutricional y funcional a los alimentos procesados (Guilherme Sebastião et al., 2023). Existe un creciente interés por utilizar subproductos de las industrias procesadoras de frutas y hortalizas, que son abundantes, económicos y están, en muchas ocasiones, subvalorados. Si bien hace unos años estos subproductos, que incluyen cáscaras, pepitas, pieles, tallos, entre otros, se consideraban un problema económico y de contaminación, hoy en día se los puede aprovechar como fuentes potenciales de componentes funcionales (Tejada-Ortigoza et al., 2016), entre ellos de fibra dietaria.

La adición de ingredientes ricos en fibra en matrices alimentarias provoca cambios en el proceso de producción, en las propiedades sensoriales, así como en la textura y los parámetros reológicos de las mismas (Proserpio et al., 2020). Desde un punto de vista tecnológico, la fibra modifica la matriz almidón-proteína en los alimentos, lo que provoca importantes cambios estructurales. Añadir una pequeña proporción de fibra podría mejorar la estructura de algunos productos gracias a su capacidad de hidratación (Sivam et al., 2010).

Entre las propiedades deseables en ingredientes que aportan fibra a los alimentos se encuentran las siguientes:

- Que se incorporen completamente en distintas matrices alimentarias.
- Que reduzcan la sinéresis, evitando la liberación de agua en productos envasados.
- Que mantengan e incluso mejoren las características organolépticas de los alimentos.
- Que refuercen la estructura de los mismos, pero conservando a su vez las características texturales deseadas.
- Que sean aptos para su uso en alimentos destinados a personas con requerimientos nutricionales específicos, tales como los productos libres de gluten.

- Que incrementen significativamente el contenido de fibra dietaria (FD) del alimento en el cual se adicionan, capitalizando los beneficios reconocidos de esta fracción, tales como la disminución del riesgo de desórdenes fisiológicos y metabólicos: constipación, diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares, diverticulosis, entre otros (Jia et al., 2020).

Cabe señalar que las funciones fisiológicas de la FD son frecuentemente atribuidas a sus propiedades fisicoquímicas (viscosidad, capacidad de absorción de agua, hinchamiento o combinación con lípidos), a sus propiedades reológicas y a la susceptibilidad a la degradación bacteriana o fermentación. La aparición de nuevas fuentes de FD, junto con el desarrollo de métodos de procesamiento para mejorar su funcionalidad, abre nuevas posibilidades para diseñar productos enriquecidos en fibra.

La fibra dietaria obtenida de diversas frutas y hortalizas se ha utilizado en productos panificados y también para la formulación de carnes procesadas, productos lácteos y alimentos derivados de frutas, como sustituto de grasas, texturizante, para reducir la sinéresis, mejorar la viscosidad y/o aumentar la retención de agua, entre otras aplicaciones.

Los métodos convencionales de obtención de componentes fibrosos a partir de residuos y subproductos vegetales corresponden a procesos térmicos (extracción con agua caliente, agua a ebullición, inyección de vapor o extracción con agua en condiciones subcríticas); tratamientos químicos, empleando diferentes disolventes (por ejemplo, álcalis, ácidos y agentes oxidantes/blanqueadores o quelantes); y tratamientos enzimáticos que utilizan enzimas comerciales (celulasas, papaína, pectinasas, amilasas, proteasas) y preparados enzimáticos (Tejada-Ortigoza et al., 2016; Martínez-Solano et al., 2021).

A pesar del amplio uso de estos métodos convencionales de obtención, su principal inconveniente es la hidrólisis de polisacáridos ocurrida después de la aplicación de altas temperaturas y largos tiempos de procesamiento (Martínez-Solano et al., 2021).

Además de fibra, los residuos de raíces y tubérculos (R&T), como los utilizados en este Trabajo de Tesis, pueden contener una cantidad relativamente alta de almidón residual. En la industria del procesamiento de alimentos, el almidón imparte cualidades importantes que se relacionan con su capacidad de

espesamiento, gelificación, la uniformidad y la estabilidad en el almacenamiento de diversos productos y aplicaciones alimentarias. Sin embargo, el almidón contribuye a un elevado índice glucémico, que resulta desfavorable debido a sus efectos no deseados en la salud de los consumidores. Para satisfacer los requerimientos de una dieta saludable, los carbohidratos funcionales (componentes de la fibra dietaria, glúcidos con acción prebiótica, polisacáridos bioactivos y almidón resistente), son preferidos por sobre los carbohidratos de alto índice glucémico (Barua et al., 2021).

La presencia de altos contenidos de almidón añade valor calórico a los residuos provenientes de R&T, que es algo no deseable en determinados casos. Es por ello que la aplicación de un tratamiento térmico, como es el tratamiento en autoclave, en el que también se aplica sobrepresión, puede contribuir a la disminución del contenido de almidón en los residuos.

Al alcanzar cierta temperatura (la cual depende de la fuente botánica, es decir, de la especie y variedad del material estudiado), y en presencia de agua en exceso, los gránulos de almidón gelatinizan, es decir que se hinchan irreversiblemente, afectando su estructura, perdiendo cristalinidad y liberando amilosa (Lupano, 2013), lo cual puede facilitar su extracción a partir del residuo fibroso. Adicionalmente, el tratamiento en autoclave permite ejercer un control del crecimiento microbiano, a partir de la aplicación simultánea de calentamiento y presión, utilizando vapor de agua bajo presión para alcanzar temperaturas superiores a 100°C, lo que permite destruir una amplia variedad de microorganismos, incluyendo bacterias, virus, hongos y esporas. La combinación de alta temperatura y presión inactiva los microorganismos, ya que desnaturaliza sus proteínas y ácidos nucleicos, y provoca la desestructuración de sus membranas. Los autoclaves suelen operar a una temperatura comprendida entre 118-134°C y a una sobrepresión de aproximadamente 1 atmósfera durante un período de tiempo específico, dependiendo del tipo de material.

Por otra parte, el ultrasonido puede aplicarse a una amplia gama de operaciones de procesamiento de alimentos, tanto en laboratorios de investigación como a nivel comercial. Esta tecnología emergente ha recibido mucho interés debido a su bajo impacto ambiental (es considerada una tecnología “verde”) y a sus beneficios, entre los que pueden mencionarse un relativamente bajo costo, mejor calidad del producto final, simplificación de procesos y menor consumo de

energía. Los cambios experimentados en los materiales, de acuerdo con la frecuencia utilizada, van desde modificaciones en las propiedades fisicoquímicas y/o en la estructura de los ingredientes y alimentos, hasta activación de reacciones químicas con formación de radicales libres. Estos cambios son el resultado de la propagación del sonido y la respuesta del medio vibrando elásticamente, produciendo cavitación acústica. Este fenómeno implica una rápida expansión y contracción de nano- y microburbujas de gas en el líquido expuesto a ultrasonido (**Figura 2.1 A**). El colapso repentino e instantáneo de las burbujas genera incrementos de temperatura y altas presiones localizadas.

En los sistemas sólido-líquido, las burbujas inducidas por cavitación colapsan asimétricamente, lo que hace que el fluido se mueva rápidamente desde la burbuja hacia la superficie sólida. Esto se conoce como micro-jetting y conduce a una rápida transferencia de calor y masa en la superficie sólida, modificando las estructuras superficiales (McHugh, 2016). Los efectos tanto físicos como químicos de la cavitación por microburbujas pueden aumentar el grado de deslignificación, contribuir a la desorganización de la naturaleza cristalina de la celulosa, y mejorar la solubilización de compuestos orgánicos (Ong & Wu, 2020). Asimismo, se ha mencionado que el ultrasonido puede modificar la estructura de los polisacáridos (**Figura 2.1 B**) y producir cambios en las propiedades tecnofuncionales, como la capacidad de retención de agua, la capacidad de hinchamiento, la capacidad de retención de aceite y las propiedades reológicas de los materiales, entre otras características (Martínez Solano et al., 2021).

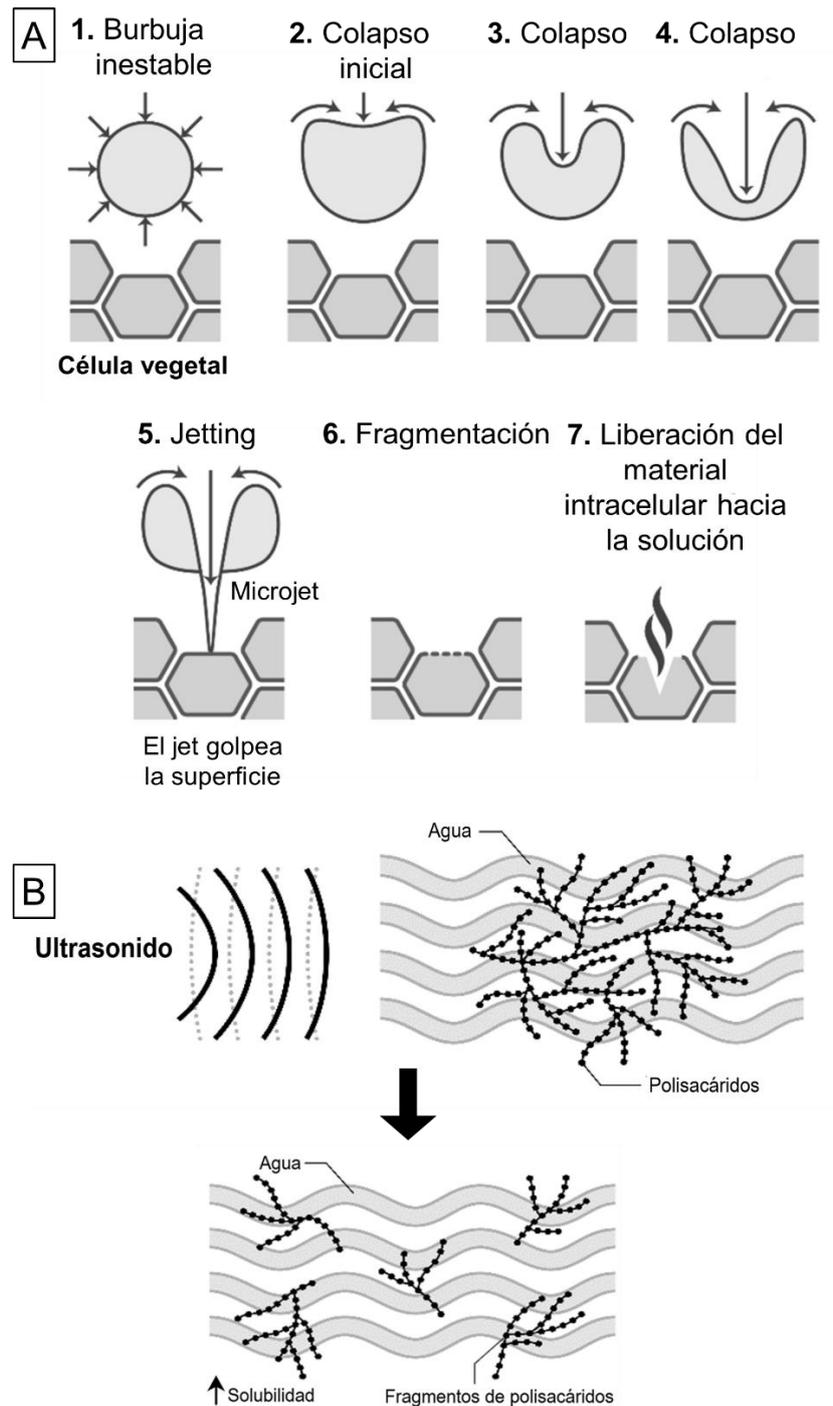


Figura 2.1. A) Representación esquemática del colapso de las burbujas que resulta en microjets acústicos. La implosión de una burbuja cavitacional ocurre porque la presión fuera de la burbuja es mayor que la presión dentro. **B)** Modificaciones morfológicas y estructurales de polisacáridos causadas por ultrasonidos.

Imágenes adaptadas de Martínez-Solano et al. (2021)

2. Objetivos

- Obtener residuos fibrosos de la extracción de almidón a partir de raíces tuberosas de ahípa y mandioca.
- Caracterizar los residuos de mandioca y profundizar en la caracterización de los residuos de ahípa, tanto química como físicamente.
- Estudiar individualmente los efectos de tratamientos físicos (autoclave y ultrasonido) sobre los residuos obtenidos.

3. Materiales y métodos

3.1. Material vegetal, obtención de residuos fibrosos y tratamientos físicos aplicados

Para el estudio de los distintos tratamientos físicos aplicados a los residuos fibrosos, se partió de raíces de mandioca (cultivar Pombero) y de ahípa (accesión IRNAS 9) cultivadas en la provincia de Misiones, Argentina (Paraje Esperanza, zona de influencia de la EEA INTA Montecarlo). Luego de recibidas en los laboratorios del CIDCA, las raíces se seleccionaron eliminando las partes dañadas y/o afectadas por microorganismos y fueron lavadas cuidadosamente con agua corriente para eliminar los restos de tierra. Posteriormente, fueron sanitizadas por inmersión durante 10 minutos en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO, 250 ppm de cloro activo). Las raíces se secaron por oreo a temperatura ambiente (entre 24 y 48 horas), fueron peladas a mano y cortadas en cubos de 2 cm de lado, aproximadamente.

La extracción de almidón se realizó de acuerdo con Díaz et al. (2016), como se describió en el **Capítulo 1** del presente Trabajo de Tesis. Se emplearon 2 L de agua por kg de raíces en cada una de las seis extracciones acuosas, manteniéndolo durante 1 h a 4°C. Luego se procesó con una licuadora de mano (SL-SM6038W, 600 W, Smartlife, Argentina) y se filtró a través de tela de muselina. El bagazo se recuperó después de la filtración y se sometió a una nueva extracción como se describió anteriormente. Se realizaron un total de seis extracciones acuosas sucesivas, y se separó una fracción del residuo insoluble (residuos A y M para ahípa y mandioca, respectivamente) (**Figura 2.2**).

Los residuos obtenidos se suspendieron en agua destilada (1:1, p:v) y se trataron térmicamente en autoclave (121°C, 15 min, 1 atm de sobrepresión). Los residuos insolubles se recuperaron y una porción se separó, se filtró y se lavó con agua destilada (1:2, p:v), (residuos AA y MA, para ahípa y mandioca respectivamente) (**Figura 2.2**).

Finalmente, el bagazo remanente fue tratado con ultrasonido (20 kHz, 750 W, 80% de amplitud) utilizando un Procesador Líquido Ultrasónico Vibra-Cell™ VCX-750 (Sonics & Materials Inc., Newtown, EE. UU.) con una sonda CV33. Se aplicaron tres pulsos de 1 minuto cada uno sobre las dispersiones, manteniéndolas en un baño de hielo durante el tratamiento. Este tratamiento corto se hizo con el fin de evitar el calentamiento de la muestra, e identificar las modificaciones producidas por la cavitación, sin efecto de modificaciones que pudieran surgir por incrementos de la temperatura. Los residuos tratados con autoclave seguido de ultrasonido (AAU y MAU, de ahípa y mandioca respectivamente) fueron filtrados y lavados con agua destilada (1:2, p:v) (**Figura 2.2**). Las muestras obtenidas se secaron al vacío a 70°C y 50 mbar (estufa Vacuubrand PC 500 Series CVC 3000, Alemania) durante 48 h, se molieron utilizando un molinillo (PE-MC9100, Peabody, Argentina) y se almacenaron en frascos de cierre hermético hasta el momento de efectuar los análisis.

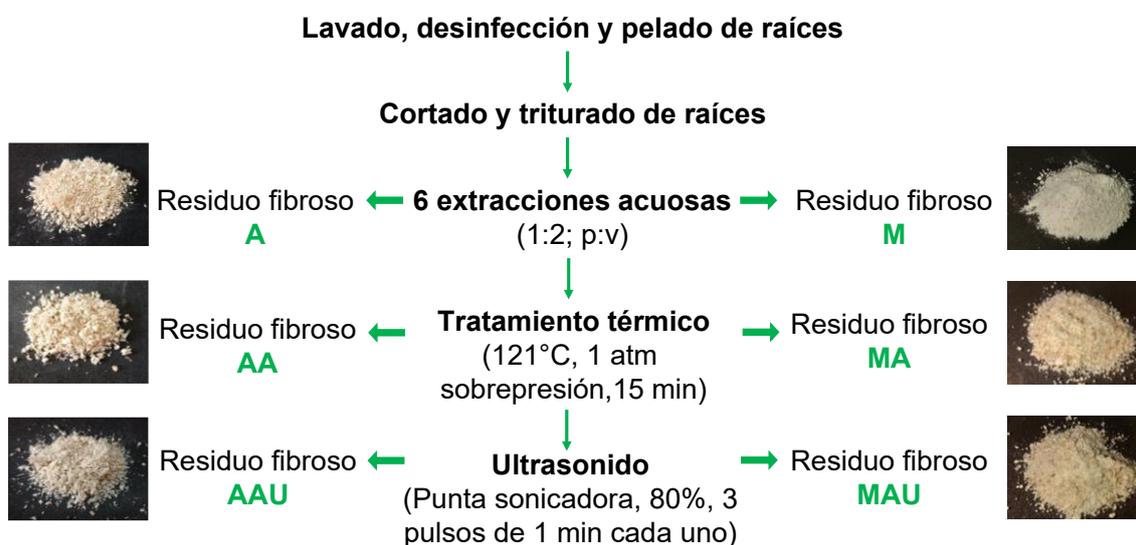


Figura 2.2. Diagrama de flujo del proceso de extracción de almidón y de los residuos fibrosos y fotografías de los mismos.

Como se muestra en la sección de resultados del presente **Capítulo**, los tratamientos en autoclave y con ultrasonido no generaron mayores diferencias entre ellos en los residuos de ahipa, mientras que sí se produjeron cambios apreciables en los de mandioca. Es por ello que se decidió estudiar el efecto del orden en la aplicación de los tratamientos con autoclave y ultrasonido en los residuos de mandioca. Esto se realizó sobre raíces de un nuevo ciclo de cultivo. Respecto al protocolo planteado anteriormente, se modificó el tiempo de contacto en las extracciones acuosas, siendo éste de 12 h a 4°C. Luego de seis extracciones acuosas (residuo M), una fracción fue tratada en autoclave (121°C, 15 minutos, 1 atm de sobrepresión) tal como se describió previamente, obteniendo el residuo MA, y posteriormente con ultrasonido (20 kHz, 750 W, 80% de amplitud), resultando en la muestra MAU. La otra fracción fue tratada en el orden inverso: primero con ultrasonido (residuo MU) y luego en autoclave (MUA) (**Figura 2.3**).

Las cinco muestras obtenidas se secaron siguiendo los pasos mencionados previamente, se molieron y se tamizaron por malla de 1 mm. La fracción menor a dicho tamaño fue almacenada en recipientes herméticos hasta la realización de los análisis correspondientes.

3.2. Análisis microscópicos

Los residuos fibrosos se observaron y fotografiaron con un microscopio digital-USB (Nisuta, Modelo NS-DIMI, China; rango de aumentos desde 20× a 230×). Asimismo, fueron analizados mediante microscopía electrónica de barrido (MEB). Al efecto, las muestras se metalizaron con partículas de oro mediante pulverización catódica en un equipo Balzers SCD030 y se analizaron en un microscopio electrónico de barrido SEM 505 (Philips, Países Bajos; aumento de hasta 25.000×) a un voltaje de aceleración de 20 kV, mediante los servicios técnicos especializados brindados por el Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias Aplicadas "Dr. Jorge J. Ronco" (CINDECA, CONICET- UNLP- CIC). Las imágenes se tomaron con el software del sistema de análisis EDAX Apex 2 del modelo Apollo X.

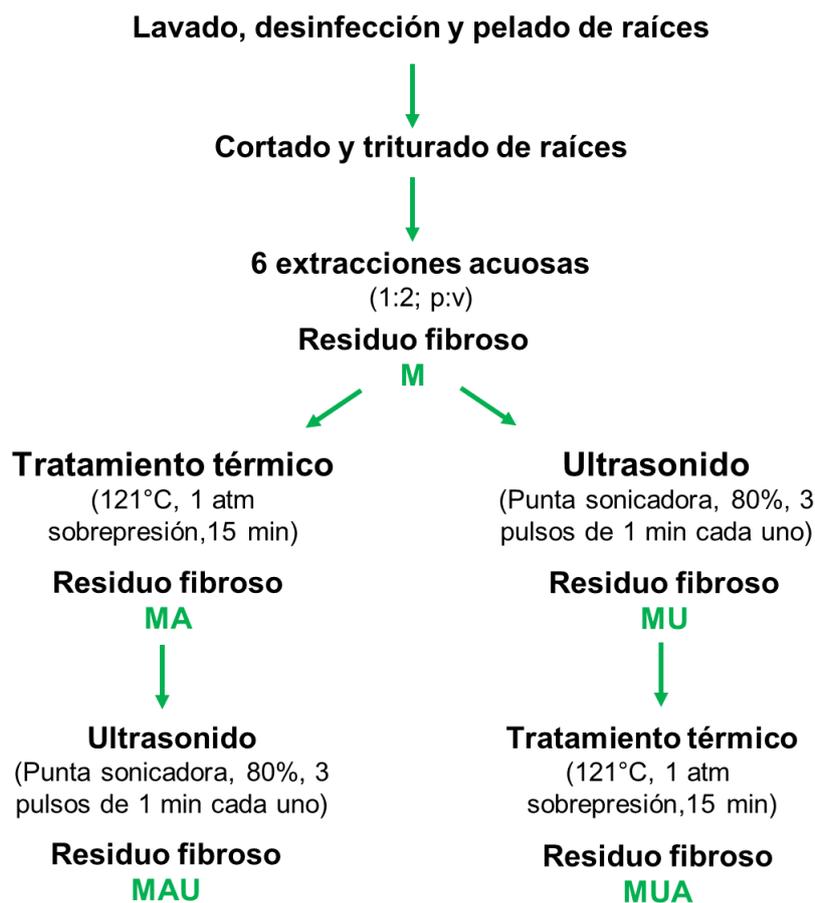


Figura 2.3. Diagrama de flujo del proceso de extracción de almidón y obtención de residuos fibrosos alternando el orden de los tratamientos físicos.

3.3. Propiedades fisicoquímicas

3.3.1. Contenido de humedad, densidad aparente, capacidad de hinchamiento, capacidad de absorción y de retención de agua

El contenido de humedad se determinó gravimétricamente según el método AOAC 925.10 (AOAC, 1990), mediante secado en estufa a 105°C hasta peso constante. Los resultados se expresaron como % p/p.

La densidad aparente y las propiedades de hidratación se determinaron según lo señalado por Rosell et al. (2009). Se pesó con precisión 1 g de cada muestra y se registró su volumen en tubos de centrifuga graduados ($\pm 0,1$ mL). La densidad aparente (DA) se calculó según la **Ecuación 2.1**:

$$DA \left(\frac{g}{mL} \right) = \frac{\text{Peso de muestra seca (g)}}{\text{Volumen de muestra seca (mL)}} \quad [\text{Ec. 2.1}]$$

Para la medición de la capacidad de hinchamiento (CH) se añadió agua desionizada a cada muestra colocada en los tubos de centrifuga, en una proporción de 1:10 (p:v), se homogeneizó cuidadosamente y se incubó durante 20 horas a 20°C. Se midió el volumen de cada muestra hidratada y se calculó la capacidad de hinchamiento (CH) de la siguiente manera (**Ecuación 2.2**):

$$CH \left(\frac{g}{mL} \right) = \frac{V_{hidratada} (mL) - V_{seca} (mL)}{P_{seco} (g)} \quad \text{[Ec. 2.2]}$$

donde $V_{hidratada}$ es el volumen de la muestra hidratada, V_{seca} , el volumen de la muestra seca, y P_{seco} es el peso seco de la muestra.

El exceso de agua de las muestras hidratadas se eliminó por aspiración y cada tubo se pesó para obtener la capacidad de absorción de agua (CAA) de acuerdo a la **Ecuación 2.3**:

$$CAA \left(\frac{g}{g} \right) = \frac{P_{hidratado} (g) - P_{seco} (g)}{P_{seco} (g)} \quad \text{[Ec. 2.3]}$$

en la cual $P_{hidratado}$ corresponde al peso de la muestra hidratada y P_{seco} , al peso seco de la muestra.

Finalmente, los tubos se centrifugaron a 1500×g durante 10 minutos. El exceso de agua se descartó y el sedimento se pesó para calcular la capacidad de retención de agua (CRA) de acuerdo a la siguiente expresión (**Ecuación 2.4**):

$$CRA \left(\frac{g}{g} \right) = \frac{P_{final} (g) - P_{inicial} (g)}{P_{seco} (g)} \quad \text{[Ec. 2.4]}$$

En la que $P_{inicial}$ y P_{final} son el peso de la muestra antes y después de la centrifugación, respectivamente, y P_{seco} es el peso seco de la muestra.

3.3.2. Capacidad de retención de aceite (CRAc)

Se pesaron 0,5 g de cada muestra en tubos de centrifuga graduados. Se añadió aceite de girasol (Natura®, Aceitera General Deheza, Argentina) en una proporción 1:10 (p:v) y se mezcló cuidadosamente. La mezcla se mantuvo a 20°C durante 24 h, luego se centrifugó a 1500×g durante 10 minutos. La capa superior de aceite se desechó y el sedimento se pesó. La CRAc se calculó según la **Ecuación 2.5**:

$$CRAc \left(\frac{g}{g} \right) = \frac{P_{final}(g) - P_{inicial}(g)}{P_{seco}(g)} \quad [Ec. 2.5]$$

3.4. Análisis químicos

3.4.1. Cuantificación de almidón remanente fácilmente extraíble

Para la cuantificación del almidón fácilmente extraíble se utilizó el método descrito por Cole et al. (2016) con modificaciones, explicado en el **Capítulo 1, sección 3.5.1**, donde se solubiliza el almidón con asistencia de ultrasonido y microondas y se emplean los reactivos iodométricos KIO_3 y KI para medir finalmente la absorbancia a 600 nm.

Las curvas de calibración se construyeron utilizando almidones nativos de ahípa y de mandioca en concentraciones comprendidas entre 50 y 300 ppm.

3.4.2. Cuantificación de compuestos fenólicos

Tal como se detalló en el **Capítulo 1, sección 3.5.4**, se cuantificaron espectrofotométricamente ($\lambda=760$ nm) los compuestos fenólicos totales, no taninos y taninos (calculados estos últimos por diferencia), siguiendo el procedimiento descrito por Makkar et al. (2007). Primeramente, se realizó la extracción de dichos compuestos utilizando una solución de acetona y agua (70% v/v), en relación 1:10 (muestra sólida: solución), e incubando en baño con ultrasonido (Branson 2510 E-DTH, 245W, México) a temperatura ambiente, durante 20 minutos. Luego se centrifugó a 2000×g, durante 10 minutos a 4°C. El

sobrenadante correspondiente se utilizó para la determinación de compuestos fenólicos totales empleando el reactivo Folin-Ciocalteu. Para la cuantificación de compuestos fenólicos no taninos, se realizó un procesamiento adicional, donde se trató el extracto obtenido a partir de los residuos con una suspensión 0,1 g/mL de polivinilpirrolidona (PVPP) en relación 1:1, se mezcló por agitación en vortex y se incubó durante 15 minutos a 4°C. Finalmente, se centrifugó a 2000×g, durante 10 minutos a 4°C, recuperando el sobrenadante para la reacción de Folin-Ciocalteu. Se realizó una curva de calibración utilizando ácido gálico como estándar en un rango de concentraciones entre 0 a 10 µg/mL.

3.4.3. Contenido de grupos carbonilos y carboxilos

Se evaluó que las condiciones bajo las que se realizaron los tratamientos podrían eventualmente favorecer la despolimerización parcial y la oxidación de la celulosa y otros componentes de la fibra, dando lugar a la formación de grupos carbonilo y carboxilo en las estructuras (**Figura 2.4**).

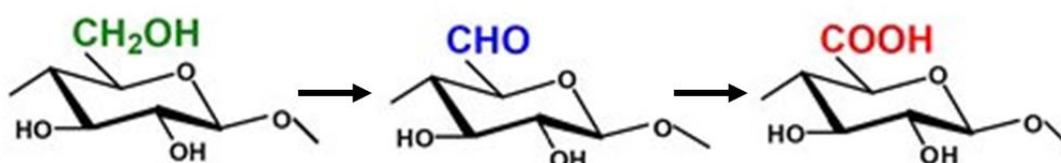


Figura 2.4. Oxidación de grupos funcionales en unidades sillares de la celulosa. Imagen adaptada de Lin et al. (2017).

Se ha estudiado ampliamente el efecto de los grupos carbonilo y carboxilo sobre las propiedades de la celulosa, particularmente en la producción de pulpa para textiles, plásticos y diversos aditivos. Generalmente los grupos carbonilo disminuyen la estabilidad del brillo de las pulpas cuando se exponen a la temperatura (Perrin et al., 2014). La celulosa oxidada resulta sensible a los ambientes alcalinos, observándose una reducción sustancial del grado promedio de polimerización en dichas condiciones. Esta reacción se debe a los grupos carbonilo en las posiciones C-2, C-3 y/o C-6 de la unidad de anhidroglicosa (Ahn et al., 2012). Además, cuando ocurre una despolimerización considerable, se

forman grupos carbonilo, principalmente en la fracción de las hemicelulosas, aunque también se da en la celulosa.

Por otra parte, la oxidación de los grupos hidroxilo de la amilosa (componente del almidón) puede introducir grupos carboxilo y carbonilo en sus cadenas (Maniglia & Tapia-Blácido, 2019). Durante la oxidación, los enlaces D-glucosídicos α -1,4 y α -1,6 se rompen para despolimerizar el almidón y, en consecuencia, se incluyen grupos carbonilo (C=O) (cetonas y aldehídos) y grupos carboxilos (COOH).

El contenido de grupos carbonilos y carboxilos de los residuos enriquecidos en fibra se cuantificó de acuerdo con los protocolos descritos por De Moura et al. (2011).

Para la determinación de grupos carbonilo se preparó una dispersión de 0,5 g de muestra en 100 mL de agua destilada a 40°C, ajustando el pH a 3,2 con HCl 0,1 M. Luego se adicionaron 15 mL de solución de cloruro de hidroxilamina (se preparó disolviendo 25 g de cloruro de hidroxilamina en agua y agregando 100 mL de NaOH 0,5 M; luego se agregó agua destilada hasta alcanzar un volumen de 500 mL). El vaso de precipitados se cubrió con una película plástica y se incubó en estufa a 38°C durante 4 horas. Finalmente, la muestra fue titulada con HCl 0,1 M hasta alcanzar nuevamente pH 3,2. Para realizar el blanco, se siguió el mismo procedimiento, sin agregar muestra. Los resultados se expresaron como la cantidad de grupos carbonilo por 100 unidades de glucosa (CO/100 UG), según la **Ecuación 2.6**:

$$\frac{CO}{100UG} = \frac{(V_b - V_s) \times M \times 0,028 \times 100}{P} \quad \text{[Ec. 2.6]}$$

donde V_b es el volumen de HCl utilizado para el blanco (mL), V_m es el volumen de HCl requerido para la muestra (mL), M es la molaridad de la solución de HCl, 0,028 es el peso molecular del grupo carbonilo/1000 y P es el peso de la muestra expresado en gramos (en base seca).

El contenido de carboxilos se determinó dispersando 0,5 g de muestra en 100 mL de agua destilada, incubando a 90°C por 30 minutos en un baño con agitación continua. Luego se agregaron 10 mL de una solución 1 mM de KCl con el fin de aumentar la fuerza iónica y, de esta manera, estabilizar la medida del

pH. La muestra se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura de 60°C, y se tituló con una solución de NaOH 0,005 M hasta llegar a pH 8,2. La medida del blanco se realizó calentando agua destilada a 60°C, a la cual se le adicionaron 10 mL de KCl 1 mM, y titulando con NaOH 0,005M hasta pH 8,2. Los resultados se expresaron como la cantidad de grupos carboxilo por 100 unidades de glucosa (COOH / 100 UG), de acuerdo a la **Ecuación 2.7**:

$$\frac{COOH}{100UG} = \frac{(V_m - V_b) \times M \times 0,045 \times 100}{P} \quad \text{[Ec. 2.7]}$$

donde V_m es el volumen de NaOH requerido para la muestra (en mL), V_b es el volumen de NaOH utilizado en el blanco (en mL), M es la molaridad de la solución de NaOH, 0,045 es el peso molecular del grupo carboxilo /1000 y P es el peso de la muestra expresado en gramos (en base seca).

3.5. Medida de color

Para esta determinación se utilizó un colorímetro CR-400 (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japón), calibrado con una placa estándar blanca. Las muestras se dispersaron en forma homogénea sobre placas de Petri y se registraron las coordenadas L^* , a^* y b^* de la escala CIELab. Las mediciones se realizaron por quintuplicado. Los resultados se expresaron como la diferencia total de color (ΔE), según lo detallado en el **Capítulo 1, sección 3.6 (Ecuación 1.3)**.

3.6. Tamaño de partícula

Para la determinación del tamaño de partícula, los residuos fibrosos se cernieron por un tamiz de 18 mesh (1 mm). Las partículas retenidas (>1 mm) se fotografiaron con un microscopio digital USB (Nisuta, Modelo NS-DIMI, China) y se utilizó el software ImageJ 1.52a (Java 1.8) para determinar el diámetro de partícula de Feret de al menos 180 partículas de cada muestra.

Las muestras de la fracción no retenida (<1 mm) se suspendieron en agua destilada (en una relación 1:10) y la distribución del tamaño de las partículas se midió en el rango de 10-1000 μm utilizando un analizador de tamaño de partícula

por dispersión dinámica de la luz DLS (Malvern Mastersizer 2000E, Malvern Instruments, Worcester, Reino Unido). Los resultados se expresaron graficando curvas de distribución del tamaño de partícula en el rango mencionado y se registró el D_{90} (tamaño de partícula por debajo del cual se encuentra el 90% de las partículas en una curva acumulativa resultante del análisis de distribución de tamaño de partícula).

3.7. Potencial zeta (ζ)

El estudio de la carga eléctrica de las partículas de un material es importante ya que en un sistema disperso, por ejemplo en una matriz alimentaria, las mismas pueden interactuar entre ellas y con el medio, afectando de esta forma su estabilidad, reología, textura, color, entre otras propiedades.

Una partícula cargada, suspendida en un medio líquido, está rodeada por una doble capa eléctrica, cuyas propiedades dependen tanto del medio como de las características de la partícula. Aplicando un campo eléctrico en el líquido y observando la migración de las partículas hacia cualquiera de los electrodos, es posible estudiar las cargas de las mismas (Cano-Sarmiento et al., 2018).

Cada partícula en solución se encuentra rodeada por contraiones, generando una capa rígida conocida como *capa de Stern*, seguida por una capa difusa donde los iones con carga opuesta son todavía atraídos por la partícula inicial, pero rechazados por la capa de Stern y otros iones. Los contraiones tienen una concentración alta cerca de la superficie, la cual va disminuyendo gradualmente hasta que se equilibra con la concentración de contraiones en el seno de la solución (**Figura 2.5**). El potencial zeta es el potencial entre la capa de Stern y la difusa. Este parámetro es importante ya que puede medirse fácilmente, mientras que la carga superficial de una partícula y su potencial no pueden determinarse (Bhattacharjee, 2016). En presencia de agua, existe una gran doble capa que permite que este potencial sea una buena aproximación del potencial superficial de la partícula.

El ζ de las dispersiones acuosas de los residuos (1:100, p:v) se determinó a 25°C a través de la velocidad de migración de las partículas sometidas a un campo eléctrico utilizando un analizador de nanopartículas SZ-100 (Horiba Ltd., Kyoto, Japón). Después de 20 min a temperatura ambiente, las mediciones se

realizaron sobre 1 mL de suspensión tomado de la capa líquida superior de cada dispersión. El ζ se informó como la media de diez lecturas.

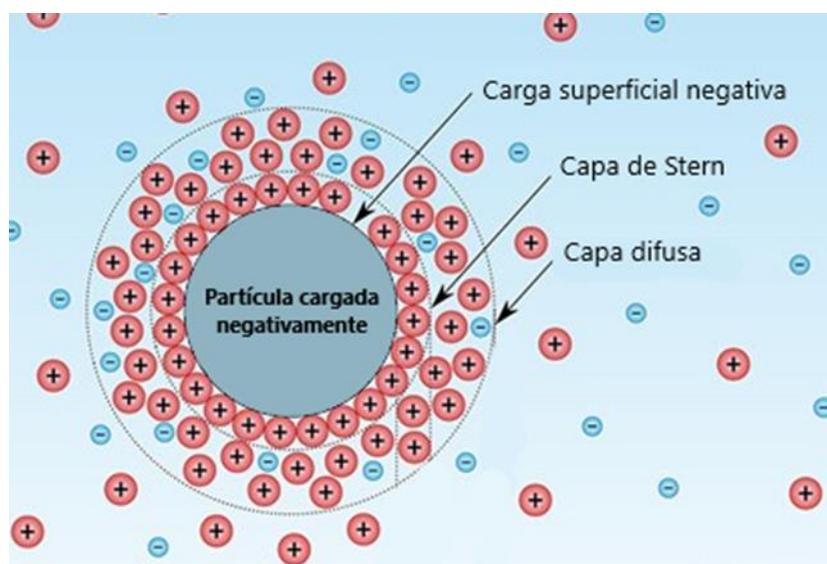


Figura 2.5. Esquema de una partícula cargada negativamente en solución.

Imagen adaptada de

<https://www.brookhaveninstruments.com/particle-characterization-applications/zeta-potential/>

3.8. Análisis por difracción de rayos X

Un espectro de difracción por rayos X de un material semicristalino se caracteriza por la presencia de picos de difracción y una zona de contribución amorfa, en la cual, cuanto mayor sea esta última, menor será el grado de cristalinidad de la muestra.

Los residuos fibrosos se analizaron en un difractómetro de rayos X Philips PW1830 usando radiación α de Cu K y filtro de Ni. Los escaneos se realizaron con un tamaño de paso de 1° y el tiempo de recolección fue de 1 min en cada paso, en el rango $2\theta = 5-70^\circ$. El grado de cristalinidad (% GC) se calculó como la relación entre el área de los picos de difracción (que se atribuye a las regiones cristalinas) y el área total del difractograma, utilizando el software Origin Pro 8 (OriginLab®, EE. UU.) según Díaz et al. (2018) (**Figura 2.6**). Las determinaciones se llevaron a cabo a través de los servicios realizados por el Instituto de

Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales (Centro Científico Tecnológico CONICET- Mar del Plata).

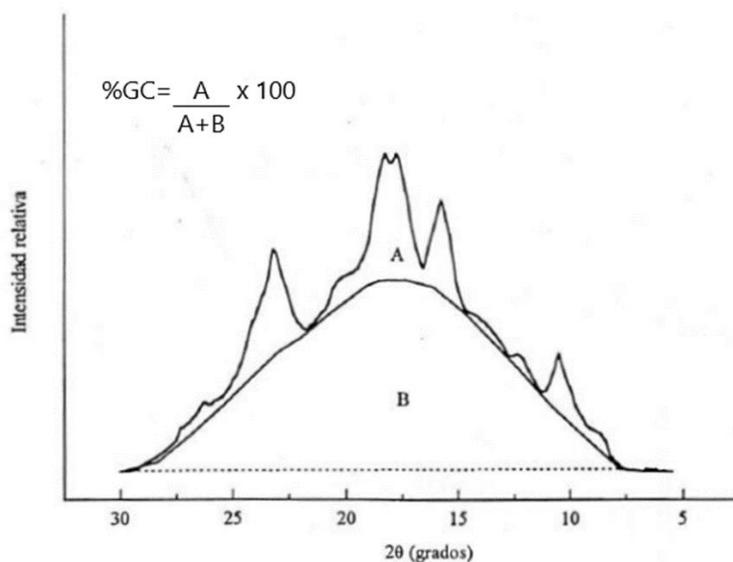


Figura 2.6. Diffractograma típico de un material semicristalino. La zona A corresponde al área de los picos de absorción (área cristalina) y la zona B corresponde al área amorfa.

Imagen adaptada de Díaz (2021).

3.9. Espectros ATR-FTIR (Reflectancia total atenuada - Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier)

Los espectros de las muestras (al menos cinco para cada una) se registraron en un espectrómetro Thermo Nicolet iS10 con un accesorio ATR de diamante (Thermo Scientific, MA, USA), adicionando 64 escaneos, con una resolución de 4 cm^{-1} , en el rango 400-4000 cm^{-1} . Los espectros se analizaron utilizando el software OMNIC (versión 8.3, Thermo Scientific, MA, USA).

3.10. Propiedades reológicas

Dado que los residuos de ahipa no mostraron capacidad de formar geles bajo las condiciones ensayadas, el análisis de propiedades reológicas se efectuó sólo para los residuos de mandioca. Éstos se dispersaron en agua (4 % p/v) y se calentaron a 90°C durante 20 min en un baño termostatzado con agitación continua, se enfriaron a temperatura ambiente, y se analizaron en un reómetro RheoStress 600 ThermoHaake (Haake, Alemania) con un sistema placa-placa PP35 (espacio de 1 mm), a 20°C.

Para los ensayos rotacionales, las muestras se dejaron reposar durante 3 min, luego se sometieron a velocidades de corte de 0 a 500 s⁻¹ (3 min), se mantuvieron en 500 s⁻¹ (1 min), y luego se redujeron de 500 a 0 s⁻¹ (3 min). La tixotropía (Pa/s) se calculó como el área entre las curvas de flujo ascendente y descendente, que fueron modeladas utilizando la ecuación de Ostwald de Waele (**Ecuación 2.8**):

$$\tau = k\dot{\gamma}^n \quad [\text{Ec. 2.8}]$$

donde τ es el esfuerzo de corte, k es el índice de consistencia (Pa sⁿ), n es el índice de comportamiento de flujo (adimensional) y $\dot{\gamma}$ la velocidad de deformación. La región viscoelástica lineal fue determinada a partir de un barrido de esfuerzo de 0,05 a 100 Pa.

El comportamiento viscoelástico de las suspensiones tratadas térmicamente se estudió mediante ensayos dinámicos a 1 Pa (dentro del rango viscoelástico lineal) según Díaz et al. (2016). Se registraron los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G''), la tangente del ángulo de fase ($\tan \delta$) y la viscosidad compleja (η^*).

Para estudiar el efecto de retrogradación, las suspensiones tratadas térmicamente se almacenaron 72 horas a 4°C, luego se templaron a 20°C y se analizaron por ensayos rotacionales y dinámicos, como se describió anteriormente.

La retrogradación ocurre cuando las cadenas de amilosa y amilopectina de las pastas de almidón gelatinizado recristalizan formando una estructura más ordenada. Este proceso es acompañado por un incremento gradual de la rigidez atribuido a la formación de un gel, y la consecuente separación de fases entre el polímero y el medio de dispersión. Este fenómeno se denomina sinéresis y, para el análisis del mismo, las suspensiones tratadas térmicamente se pesaron y almacenaron (72 horas, 4°C), luego se centrifugaron a 5000 ×g durante 10 min a 4°C, se retiraron los sobrenadantes y se pesaron nuevamente. La sinéresis se expresó como porcentaje de agua exudada respecto al peso inicial del gel (% p/p).

3.11. Caracterización de los residuos fibrosos obtenidos de un nuevo ciclo de cultivo

3.11.1. Contenido de humedad, proteínas y cenizas

El contenido de humedad se determinó gravimétricamente según el método AOAC 925.10 (AOAC, 1990), mediante secado en estufa a 105°C hasta peso constante. Los resultados se expresaron como % p/p.

Las proteínas se determinaron por el método Kjeldahl como se explicó en el **Capítulo 1, sección 3.2.3.3**, digiriendo 1 g de muestra para cada residuo obtenido. El porcentaje de proteínas se calculó utilizando un factor de conversión de 6,25. Adicionalmente, se usó el factor 5,1 para los residuos de ahipa según lo informado por Dini et al. (2021).

El contenido de cenizas se determinó siguiendo el método AOAC 923.03 (AOAC, 1990). El mismo se basa en la destrucción por calcinación de la materia orgánica de la muestra y determinación gravimétrica del residuo. En cápsulas de porcelana se pesó 1 g de muestra homogeneizada. Al menos dos replicados de la muestra se incineraron en una mufla (Indef 331, Argentina) a 550°C durante aproximadamente 5 horas. El contenido de cenizas totales en base seca se calculó según la **Ecuación 2.9**:

$$Cenizas (\%) = 100 \times \frac{(P_{cápsula \text{ y cenizas}} - P_{cápsula})}{(P_{cápsula \text{ y muestra}} - P_{cápsula})} \quad [\text{Ec. 2.9}]$$

donde $P_{cápsula \text{ y cenizas}}$ es el peso de la cápsula más las cenizas remanentes luego del tratamiento en mufla, $P_{cápsula}$ es el peso de la cápsula vacía, y $P_{cápsula \text{ y muestra}}$ el de la cápsula más la muestra en base seca, es decir, corregida por la humedad.

3.11.2. Cuantificación de almidón remanente fácilmente extraíble y total

El contenido de almidón remanente fácilmente extraíble se determinó de acuerdo a lo explicado en la **sección 3.4.1** del presente **Capítulo**.

Para la determinación del contenido de almidón total, se utilizó el kit enzimático K-TSTA *Total Starch (AA/AMG) Assay Kit* (Megazyme[®], Irlanda) para muestras

con D-glucosa y maltodextrinas, que contienen almidón resistente (**Figura 2.7**). El método consiste en la conversión de almidón a glucosa y la determinación colorimétrica de ésta mediante una reacción enzimática específica, comparada con una solución patrón de D-glucosa (1,0 mg/mL) provista por el kit. Las lecturas de absorbancia se realizaron a 510 nm en un espectrofotómetro (modelo U-1900, Hitachi, Japón). Los resultados se expresaron como porcentaje en base seca.

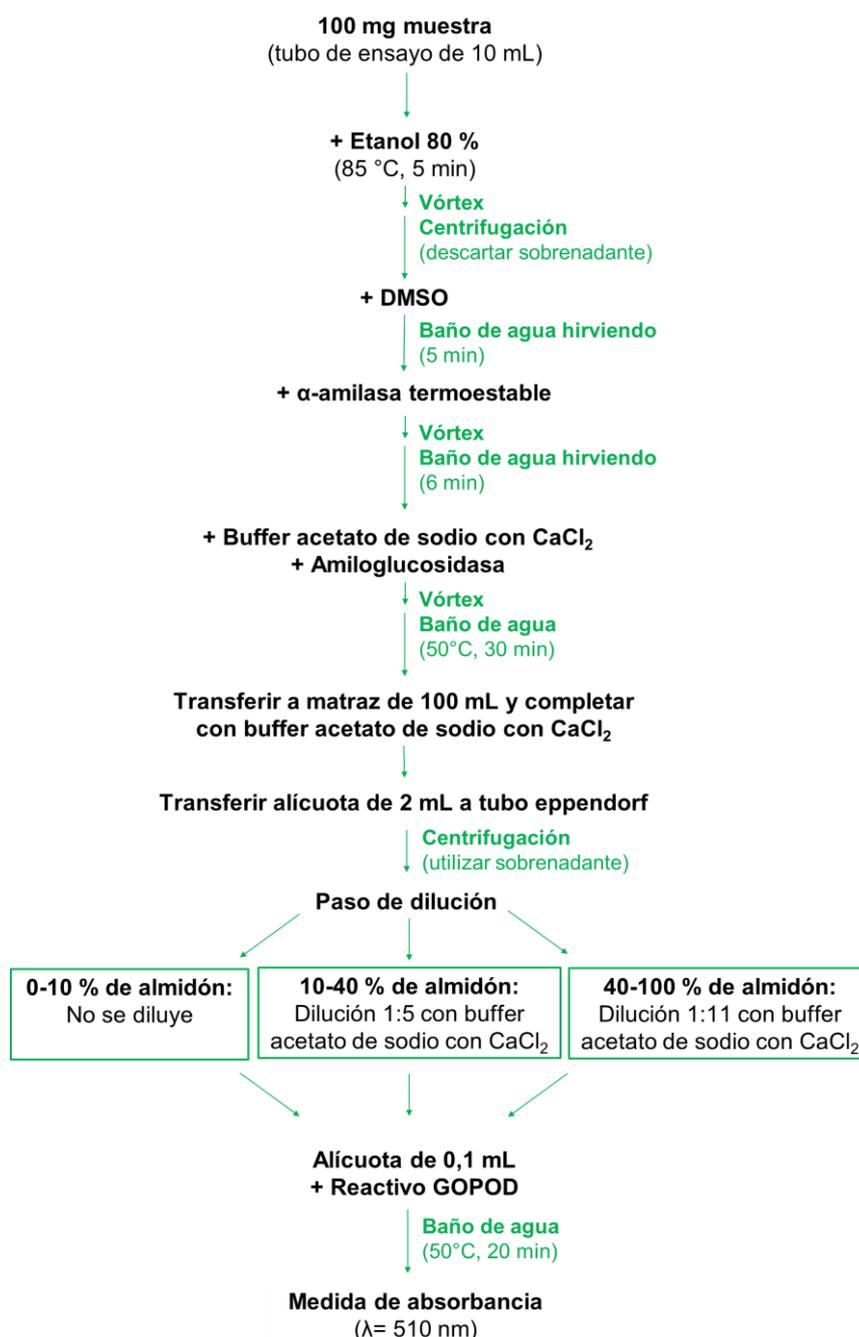


Figura 2.7. Esquema general del protocolo de determinación del contenido de almidón total.

3.11.3. Cuantificación de fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA)

El concepto detrás del análisis de las fracciones de la fibra detergente es que las células vegetales están compuestas por las paredes celulares menos digeribles (que contienen hemicelulosa, celulosa y lignina) y por los contenidos celulares, mayoritariamente digeribles, formados principalmente por proteínas, lípidos, almidón y azúcares. A estos contenidos celulares se suman las pectinas, que si bien forman parte de las paredes celulares, son componentes fácilmente digeribles.

El método diseñado por Van Soest separa estas dos fracciones (contenidos celulares versus paredes celulares) mediante el uso de dos detergentes: un detergente neutro (lauril sulfato de sodio, EDTA, pH = 7,0) y un detergente ácido (bromuro de cetil trimetil amonio en H₂SO₄ 1 N). La fibra insoluble en detergente neutro está compuesta por hemicelulosa, celulosa y lignina, y la insoluble en detergente ácido, por celulosa y lignina.

Estos parámetros (FDN y FDA) fueron determinados según Hatfield et al. (1994), con modificaciones, debido al alto contenido de almidón presente en las muestras estudiadas. Por ello, se realizaron dos tipos de pretratamientos con α -amilasas para cuantificar FDN: una α -amilasa pancreática de origen porcino (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) y otra bacteriana, termoestable, proveniente de *Bacillus licheniformis* (Sigma-Aldrich).

A 0,4 g de muestra dispersada en 10 mL de un buffer adecuado para la enzima utilizada se le realizaron los siguientes pretratamientos de manera individual:

- Con α -amilasa pancreática porcina (APP): 6 U/mL de enzima a 37°C durante 20 minutos. La solución utilizada fue buffer fosfato 20 mM con CaCl₂ 1 mM (pH 6,9).
- Con α -amilasa de *B. licheniformis* (BL): 6 U/mL de enzima a 100°C durante 20 minutos. Se utilizó un buffer fosfato 80 mM (pH 6,0).

Luego de cada pretratamiento, se le agregaron 80 mL de detergente neutro hirviendo (pH 7,0) y se dejó reaccionar en ebullición controlada sobre el mechero durante 60 minutos, cubierto con vidrio de reloj.

El residuo obtenido fue filtrado utilizando un crisol filtrante con celite[®] y bomba de vacío, lavado con agua caliente y luego con acetona en el paso final, secado a 105°C durante 24 h y pesado.

Cada litro de detergente neutro contiene: 30 g de lauril sulfato de sodio (SLS); 18,61 g de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); 6,81 g de borato de sodio decahidratado (bórax); 4,56 g de fosfato de hidrógeno disódico; y 10 mL de etilenglicol.

Se calculó el porcentaje de FDN en base seca en la muestra tratada con α -amilasa pancreática porcina (APP) o de *Bacillus licheniformis* (BL) según la **Ecuación 2.10**:

$$FDN - APP \text{ o } FDN - BL = \frac{(P_{\text{crisol}+FDN} - P_{\text{crisol}})}{P_{\text{muestra}}} \times 100 \quad [\text{Ec. 2.10}]$$

Donde $P_{\text{crisol}+FDN}$ es el peso del crisol con celite más la fibra retenida en el mismo (g), P_{crisol} es el peso del crisol con celite (g), y P_{muestra} es el peso de la muestra corregido por la humedad de la misma (g).

En el caso del detergente ácido empleado para separar la FDA, éste es capaz de degradar el almidón en la muestra, por ello no fue necesario el pretratamiento enzimático realizado para cuantificar FDN.

El procedimiento consistió en adicionar a 1 g de muestra 400 mL de detergente ácido hirviendo y se dejó reaccionar en ebullición controlada a la llama del mechero durante 60 minutos, cubierto con vidrio de reloj. El residuo resultante fue filtrado, lavado y secado como se explicó previamente para la cuantificación de FDN.

Para la preparación del detergente ácido se disolvieron 20 g de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) en 1 L de H₂SO₄ 1 N.

El porcentaje de FDA se calculó de la siguiente manera (**Ecuación 2.11**):

$$FDA = \frac{(P_{\text{crisol}+FDA} - P_{\text{crisol}})}{P_{\text{muestra}}} \times 100 \quad [\text{Ec. 2.11}]$$

donde $P_{\text{crisol+FDA}}$ es el peso del crisol con celite más la fibra retenida en el mismo (g), P_{crisol} es el peso del crisol con celite (g), y P_{muestra} es el peso de la muestra corregido por la humedad de la misma (g).

Con los valores hallados, se calculó el porcentaje de hemicelulosa en las muestras (**Ecuación 2.12**):

$$\text{Hemicelulosa (\%)} = [FDN - BL(\%)] - [FDA(\%)] \quad [\text{Ec 2.12}]$$

donde FDN - BL es el porcentaje de Fibra Detergente Neutro hallado pretratando la muestra con α -amilasa de *B. licheniformis* y FDA es el porcentaje de Fibra Detergente Ácido.

3.11.4. Contenido de Fibra Dietaria Total (FDT), Insoluble (FDI) y Soluble (FDS)

Como ya se ha señalado, la fibra dietaria es el conjunto de oligo o polisacáridos de origen vegetal que el sistema digestivo humano no es capaz de digerir completamente (Siddiqui et al., 2023). Los componentes de la fibra dietaria incluyen celulosa, hemicelulosa, ligninas, pectinas y una variedad de gomas y mucílagos. Todos estos son polisacáridos, excepto las ligninas, que son polímeros fenólicos (Cho, 2001).

Se determinó el contenido de fibra dietaria total e insoluble utilizando el kit enzimático K-TDFR *Total Dietary Fiber Assay Kit* (Megazyme[®], Irlanda) (**Figura 2.8**). El método consiste en la digestión de almidón, por medio de su gelatinización, hidrólisis y despolimerización (utilizando la enzima α -amilasa termoestable); luego se lleva a cabo la solubilización y despolimerización de proteínas (con subtilisina A, una enzima proteasa) y, posteriormente, la hidrólisis de fragmentos de almidón a glucosa (por tratamiento con amiloglucosidasa). En el caso de FDT, se precipita la fibra soluble utilizando etanol 96%. Luego se filtra y se lava con etanol y acetona. Las proteínas hidrolizadas, así como la glucosa proveniente del almidón, se eliminan en el sobrenadante.

Para la determinación de la FDI se obvia el paso de precipitación, filtrándose directamente y eliminando la FDS junto con las proteínas hidrolizadas y los azúcares libres, y se lava el residuo con agua, etanol y acetona.

Cada determinación tiene su duplicado: uno se utiliza para cuantificar el contenido de cenizas restantes en la fibra (en mufla a 550°C) y otro para el de proteínas remanentes (por el método de Kjeldahl, explicado en la **sección 3.11.1**, utilizando un factor de conversión de 6,25).

El contenido de fibra dietaria soluble se calculó por diferencia entre la fibra dietaria total y la insoluble.

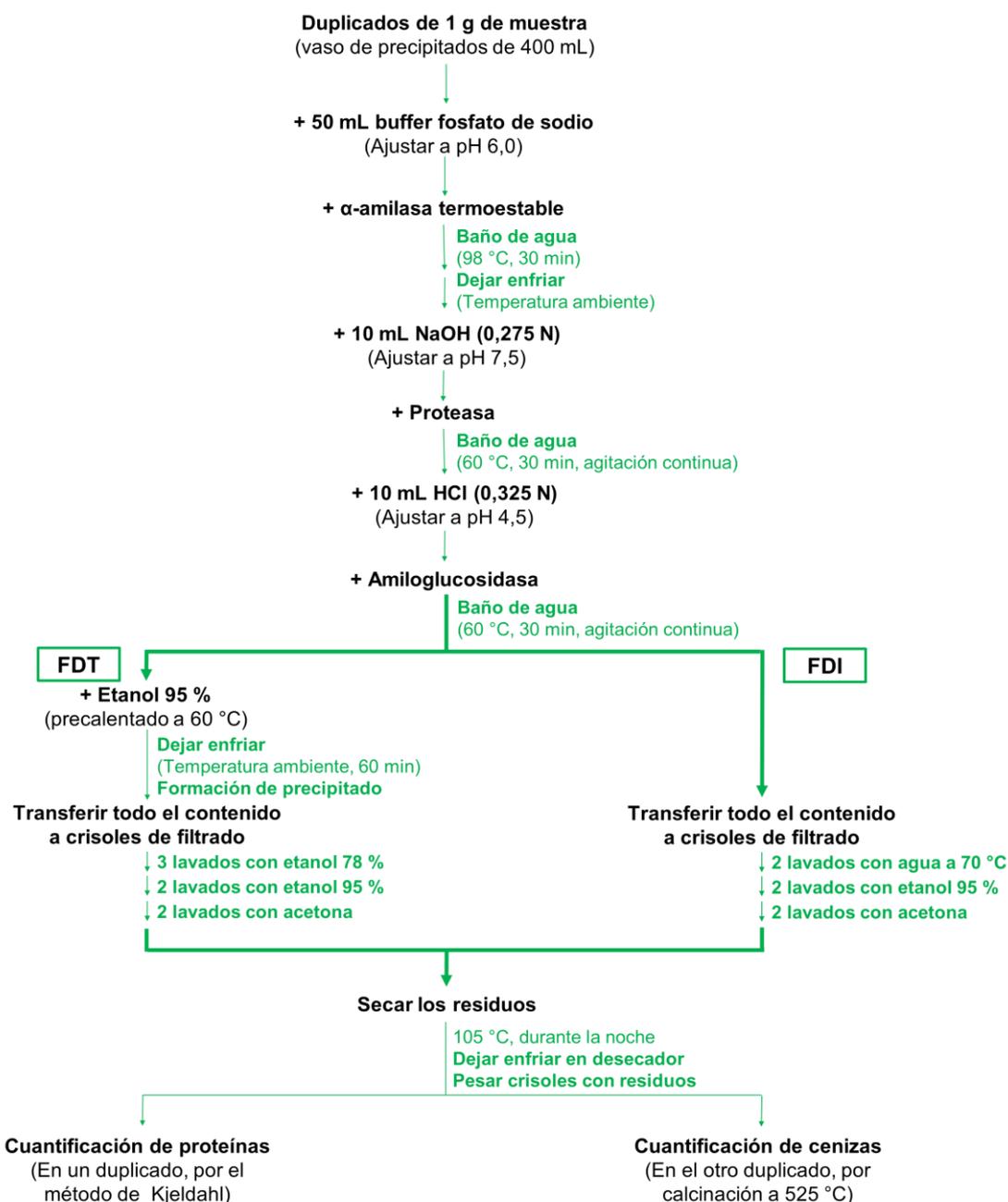


Figura 2.8. Esquema general del protocolo de determinación de fibra dietaria total e insoluble.

3.11.5. Solubilidad del almidón

En principio, el almidón tiene muy baja solubilidad a temperaturas considerablemente por debajo de la de gelatinización. Sin embargo, con los distintos tratamientos físicos, esta condición puede ser modificada. Se estudió la solubilidad del almidón en los residuos fibrosos sometidos a los diferentes tratamientos y cómo resultaría afectada de acuerdo con su interacción con las fibras.

El almidón forma complejos de color azul cuando es tratado con yodo, particularmente la amilosa, ya que la reacción de yodo con amilopectina presenta un color rojo-violáceo (Nwokocha & Ogunmola, 2014). Esta característica puede ser utilizada para relacionar el color presentado por una solución que contiene almidón tratada con un reactivo iodométrico con el contenido de amilosa de dicho polisacárido. Para que esta reacción ocurra, el almidón debe estar solubilizado; por ello, incubando las muestras a distintas temperaturas, puede correlacionarse la formación del complejo amilosa-I₂ con la solubilidad del almidón presente en la misma. En base a esto, se evaluó la proporción de almidón liberado a partir de cada residuo fibroso mediante su interacción con una solución de I₂, midiendo la absorbancia del complejo amilosa-I₂ a 635 nm. Como referencia, se utilizó el índice azul, el cual se define como la absorbancia a 635 nm de 10 mg de almidón en 100 mL de una solución diluida de I₂/KI (Wang et al., 2015).

En la **Figura 2.9** se esquematiza el protocolo de determinación de solubilidad del almidón de las muestras. A 0,6 g de cada residuo se le añadieron 10,00 mL de agua destilada y se mantuvieron durante 12 h a 4°C. Las muestras hidratadas se termostataron a temperatura ambiente durante 30 min y luego se incubaron en un baño de agua a 3 temperaturas: 25°C, 68°C (temperatura de gelatinización del almidón nativo de mandioca) o 90°C (gelatinización y ruptura completa de los gránulos de almidón), durante 20 min. Como control, se realizó una suspensión de almidón de ~ 0,1 mg/mL adicionando 13 mg de almidón nativo de mandioca (libre de fibras), con un contenido de humedad del 9,9%, a 100,00 mL de agua destilada, obteniéndose una concentración de 0,12 mg/mL, y se calentó en un baño de agua a 90°C durante 20 min en agitación.

Se centrifugaron las muestras y el control a 2500 ×g por 10 min. Luego, un volumen adecuado del sobrenadante de cada muestra (entre 0,5 y 5 mL) se

trasvasó a un matraz volumétrico de 25 mL y se diluyó hasta aproximadamente 20 mL con agua destilada. Se añadió reactivo yodométrico (2 mg/mL KI + 0,2 mg/mL I₂), gota a gota hasta alcanzar un color azul estable, y el volumen se ajustó a 25 mL con agua destilada.

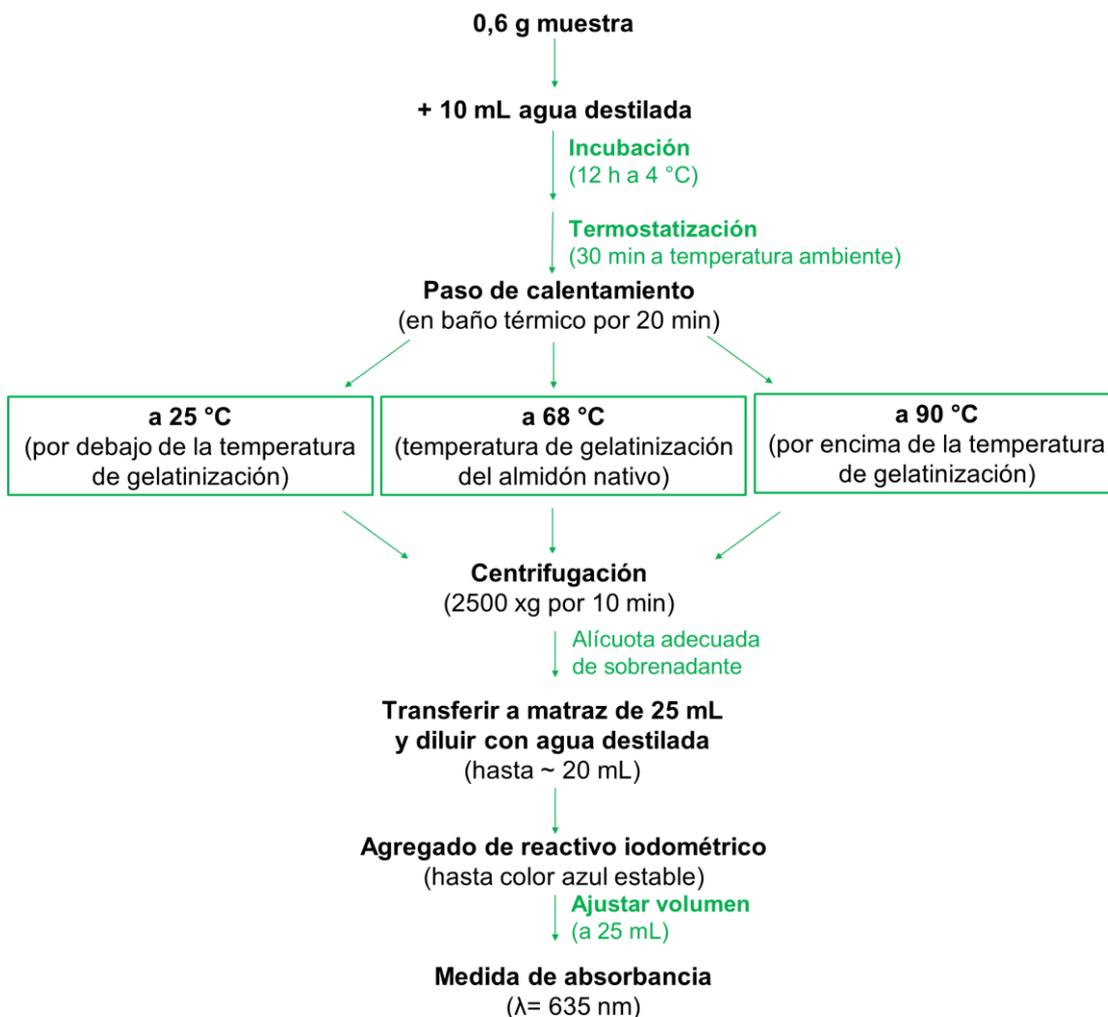


Figura 2.9. Esquema general de la medida de solubilidad de almidón.

Debido a que el valor del índice azul se determina a partir de una solución de 0,1 mg/mL, el control de almidón nativo puro se analizó sin diluir. La absorbancia se midió a 635 nm frente al blanco correspondiente.

La absorbancia del control ($Abs_{635nm} = 0,238$) se tomó como referencia de solubilización máxima del almidón. El porcentaje de almidón solubilizado de cada muestra a cada temperatura fue calculado de la siguiente manera (**Ecuación 2.13**):

$$\text{Almidón solubilizado (\%)} = \frac{A \times 0,12 \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right) \times 10 \text{ (mL)}}{0,238 \times FD \times m(g) \times AT \left(\frac{\text{mg}}{g}\right)} \times 100 \quad \text{[Ec 2.13]}$$

donde A es la absorbancia de la muestra a 635 nm (corregida con el blanco de reactivo correspondiente), 0,12 mg/mL es la concentración del control (corregida por el contenido de humedad), FD es el factor de dilución, m es la masa de muestra (g) expresada en base seca y AT son los mg de almidón total por g de muestra en base seca.

3.11.6. Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico (TGA) es utilizado para estudiar la estabilidad térmica y la descomposición de una amplia gama de muestras, entre ellas los polímeros naturales. Es un método de análisis térmico en el cual la masa de una muestra se mide a lo largo del tiempo a medida que aumenta la temperatura, lo cual brinda información sobre transiciones de fase, absorción, adsorción y desorción, y descomposición térmica.

Aproximadamente 6 mg de cada residuo se sometieron a temperaturas de 30 a 550°C a razón de 10°C/min bajo una atmósfera de nitrógeno, utilizando un equipo Q-500 TA Instruments (New Castle, DE, EE. UU.). La temperatura de descomposición y la tasa máxima de pérdida de masa se determinaron a partir de las coordenadas (x, y) del máximo del pico en la derivada de la curva termogravimétrica.

3.12. Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron al menos por duplicado. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher ($p=0,05$). El análisis se realizó utilizando el software InfoStat versión 2020 (Di Rienzo et al., 2012).

4. Resultados y discusión

4.1. Análisis microscópicos

La **Figura 2.10** muestra la apariencia de los residuos de ahípa y mandioca observados bajo el microscopio estereoscópico. Los residuos de ahípa se presentaron principalmente como aglomeraciones relativamente compactas de fibras predominantemente alargadas, mientras que los de mandioca estuvieron constituidos mayormente por agregados más macizos de partículas, otorgándoles un aspecto granuloso.

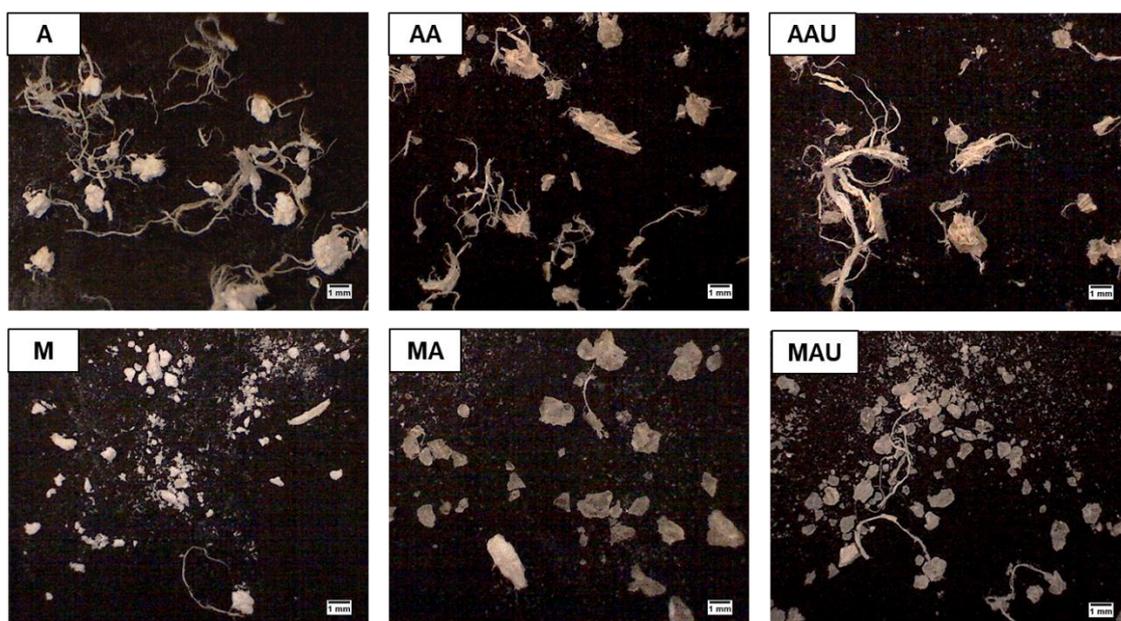


Figura 2.10. Residuos de la obtención de almidón de las raíces observados bajo microscopio estereoscópico digital, posterior a la extracción acuosa (A y M), al tratamiento en autoclave (AA y MA) y con ultrasonido (AAU y MAU) correspondientes a ahípa y mandioca, respectivamente.

Las micrografías obtenidas en la observación con microscopía electrónica de barrido (MEB) de los residuos fibrosos de ahípa y mandioca se muestran en la **Figura 2.11**.

Como fue señalado en el **Capítulo 1**, dichos residuos se obtuvieron a partir de la "pulpa" (formada principalmente por el cilindro central) de las raíces, tejido de almacenamiento donde predomina el almidón. Se excluyó la "cáscara" (sección

periférica que comprende mayormente desde el cambium vascular hasta la superficie externa), ya que las raíces se pelaron antes del procesamiento.

De igual forma que lo señalado en el **Capítulo 1**, en los residuos de ahipa, los elementos anatómicos observados correspondieron a los tejidos de conducción y sostén, así como a restos de células del parénquima de reserva. Dentro de los tejidos de conducción, se observaron miembros de vasos xilemáticos acompañados de fibras. La presencia de gránulos de almidón fue comparativamente más abundante en el residuo A (**Figura 2.11**), aunque se visualizaron gránulos en todos los residuos analizados. Se pudo apreciar una alteración progresiva de los elementos anatómicos señalados luego de aplicados los tratamientos físicos (autoclave y ultrasonido).

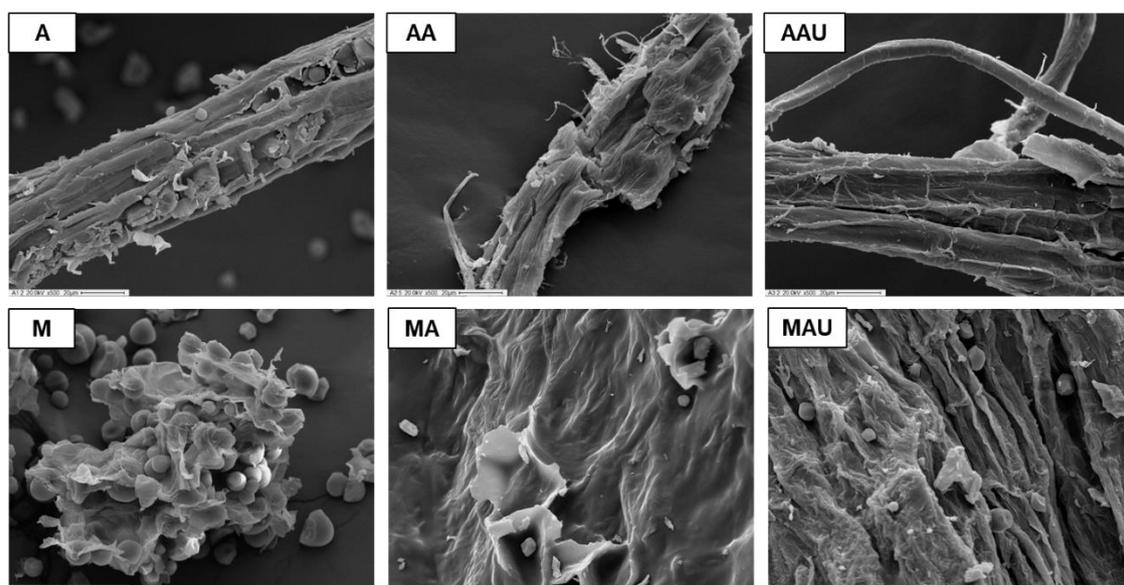


Figura 2.11. Micrografías electrónicas de barrido de los residuos de la obtención de almidón de las raíces (500 X; 20,0 V) posteriores a la extracción acuosa (A y M), al tratamiento en autoclave (AA y MA) y con ultrasonido (AAU y MAU) correspondientes a ahipa y mandioca, respectivamente.

En mandioca también se observó que los residuos M contenían alta proporción de gránulos de almidón, formando un conglomerado con las partículas fibrosas (**Figura 2.11**). En las imágenes, se pueden observar gránulos de almidón remanentes, dispuestos sobre la superficie de los residuos tratados físicamente, donde los materiales expuestos al tratamiento térmico (MA) presentaron una superficie más regular que los del tratamiento con ultrasonido (MAU).

Como se mencionó anteriormente, en su apariencia macroscópica, los residuos de ahípa estaban compuestos por fibras alargadas mientras que los de mandioca tuvieron apariencia granular, que parecería deberse a la ruptura de las estructuras durante el proceso de molienda. En este sentido se observó que luego del secado, y previo a la molienda, los residuos de mandioca resultaron más quebradizos que los de ahípa, por lo que era esperable que los residuos de mandioca sufrieran mayor ruptura que los de ahípa.

4.2. Propiedades fisicoquímicas

La densidad aparente (DA) de los residuos de ahípa (0,3-0,4 g/mL), que mostró una apariencia de "aserrín", fue ligeramente inferior a la de los residuos de mandioca (0,5-0,7 g/mL), pero en ambos casos los valores estuvieron comprendidos en el rango informado para otras fuentes de fibra dietaria insoluble, como el residuo de la extracción de polisacáridos del ginseng (0,58 g/mL) (Hua et al., 2019) o el endocarpo fibroso que recubre las semillas de café (*coffee parchment*) (0,2-0,7 g/mL) (Benitez et al., 2019).

Asimismo, todas las muestras exhibieron contenidos de humedad (**Tabla 2.1**) en el rango reportado para fibras comerciales (Rosell et al., 2009b), como las fibras extraídas de bambú, de trigo o de algarroba (7,06; 6,93; y 12,21 % p/p, respectivamente). Los residuos provenientes de la extracción acuosa del almidón (A y M) mostraron el mayor contenido de humedad, lo cual puede estar relacionado con su alto contenido de almidón residual (**Tabla 2.2**).

El tratamiento térmico en autoclave redujo la humedad de los residuos tanto de ahípa como de mandioca, así como el contenido de almidón, mientras que el ultrasonido no afectó significativamente ($p > 0,05$) la humedad remanente del residuo de ahípa (AAU) pero produjo una disminución significativa en este valor para el de mandioca (MAU) (**Tabla 2.1**), evidenciando probablemente una modificación de la estructura de la fibra y su interacción con las moléculas de agua.

Las propiedades de hidratación de la fibra juegan un papel clave en la mejora de texturas y propiedades tecnológicas específicas de los alimentos. La capacidad de retención de agua (CRA), así como la capacidad de hinchamiento (CH) están

relacionadas con los grupos hidrofílicos, el área superficial y la densidad aparente de la fibra.

La CH, particularmente, se vincula con el potencial de la fibra como voluminizador y agente de retención de agua. Las muestras de ahipa mostraron valores de CH en el rango de los reportados para fibras comerciales de avena y bambú: 4,98 y 5,96 mL/g, respectivamente (Rosell et al., 2009b), pero menores a un residuo fibroso remanente de la extracción de jugo de calabaza (*Cucurbita moschata*) (25,0 mL/g) (de Escalada Pla et al., 2007). La CH de los residuos de ahipa no fue modificada por los tratamientos físicos aplicados. El residuo obtenido de la extracción del almidón de mandioca (M) exhibió una CH relativamente baja (**Tabla 2.1**), similar al valor reportado por Huang et al. (2018) para un residuo del procesamiento industrial de mandioca. El valor se incrementó ($p < 0,05$) después del tratamiento térmico (MA), resultando aproximadamente cuatro veces mayor a la CH del residuo M y alcanzando valores en el rango de los reportados para fibras de trigo y avena: 7,1 y 7,6 mL/g respectivamente (Rosell et al., 2009b). Después del tratamiento con ultrasonido, la capacidad de hinchamiento de MAU se redujo hasta un 60% del valor obtenido para MA, lo que podría indicar que se vieron favorecidas interacciones hidrofóbicas entre partículas fibrosas después de dicho proceso. Esto estaría parcialmente asociado con una reducción en el tamaño de partícula (**Figura 2.12**), y al menor contenido de humedad de esta muestra, que a su vez se ha relacionado con propiedades de hidratación más bajas (Rosell et al., 2009b).

Tabla 2.1. Contenido de humedad y propiedades de hidratación y retención de aceite de los residuos.

Muestra	Humedad (%p/p)	DA (g/mL)	CH (mL/g)	CAA (g H ₂ O/g)	CRA (g H ₂ O/ g)	CRAC (g aceite/g)
A	10,86 ± 0,02 ^c	0,4	5,4 ± 1,1 ^b	6,94 ± 1,08 ^c	4,43 ± 0,36 ^b	3,26 ± 0,08 ^b
AA	6,81 ± 0,01 ^b	0,3	5,1 ± 0,4 ^b	7,34 ± 0,12 ^c	5,42 ± 0,08 ^c	3,20 ± 0,54 ^b
AAU	7,52 ± 0,05 ^b	0,4	5,4 ± 0,0 ^b	7,08 ± 0,01 ^c	5,27 ± 0,02 ^c	3,08 ± 0,51 ^b
M	11,95 ± 0,06 ^d	0,5	1,7 ± 0,0 ^a	3,08 ± 0,11 ^a	2,25 ± 0,18 ^a	1,71 ± 0,02 ^a
MA	11,00 ± 0,77 ^c	0,7	7,0 ± 0,4 ^c	7,88 ± 0,02 ^c	5,64 ± 0,18 ^c	1,31 ± 0,02 ^a
MAU	5,51 ± 0,18 ^a	0,7	4,2 ± 0,0 ^b	5,27 ± 0,01 ^b	4,59 ± 0,01 ^b	1,28 ± 0,11 ^a

DA: densidad aparente; CH: capacidad de hinchamiento; CAA: capacidad de absorción de agua; CRA: capacidad de retención de agua; CRAc: capacidad de retención de aceite.

Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Lan et al. (2012) hallaron que la capacidad de absorción de agua (CAA) se correlacionó positivamente con el contenido de fibra dietaria soluble y negativamente con el contenido de fibra dietaria insoluble. Para la fibra soluble, un mayor contenido de grupos hidrofílicos, área superficial, sitios de unión al agua y densidad aparente, resulta en una mayor capacidad de absorción de agua y de hinchamiento (Ma & Mu, 2016).

Los valores de la capacidad de absorción y retención de agua de las muestras siguieron una tendencia similar a los del poder de hinchamiento. Los residuos de ahípa no difirieron en su absorción de agua luego de los tratamientos, mientras que la capacidad de retención fue ligeramente aumentada después del tratamiento térmico (AA), sin más cambios producidos por el ultrasonido. La capacidad de absorción de agua de ahípa fue más alta que la reportada para otras fuentes de fibra como las de las cubiertas de brotes de bambú (5,9 g/g) (Luo et al., 2017), las provenientes del procesamiento de harina de soja sometida a cizallamiento de alta velocidad (4,9 g/g) (Wang et al., 2019), o del polvo de raíces de loto (4,3 g/g) (Hussain et al., 2018), pero menor que la fibra insoluble de ginseng (17,66 g/g) (Hua et al., 2019).

La capacidad de absorción de agua del residuo M fue similar a la informada por Huang et al. (2018) para fibra dietaria insoluble proveniente de residuos de la cosecha de ajo e inferior a la del residuo de ahípa (A). Se observó un aumento significativo para la capacidad de absorción y de retención de agua de residuos de mandioca después del tratamiento térmico (MA) y ambos parámetros se redujeron posteriormente a la sonicación (MAU) (**Tabla 2.1**). El ultrasonido produjo posiblemente una modificación en las partículas fibrosas de mandioca que cambiaron su interacción con el agua, como se refleja en la reducción de su humedad residual y propiedades de hidratación.

Es relativamente escasa la información sobre el efecto del ultrasonido sobre las propiedades fisicoquímicas de la fibra como ingrediente alimentario (Téllez-Morales et al., 2020). En fibra de soja tratada con álcali, la aplicación de ultrasonido y el tratamiento térmico aumentaron la capacidad de absorción de agua y la de hinchamiento (Chen et al., 2019). Yan et al. (2020) informaron un aumento en las propiedades de hidratación de muestras de celulosa después del tratamiento ultrasónico. Asimismo, el ultrasonido aumentó la capacidad de retención de agua de fibra dietaria insoluble de residuos o rastrojos de ajo (Huang et al., 2018). Sin embargo, no se observó una tendencia consistente en la retención de agua de cáscaras de legumbres sometidas a pulsos de ultrasonido (Kaya et al., 2017). Fan et al. (2020) encontraron que el aumento de la potencia del ultrasonido mejoró la capacidad de hinchamiento y de absorción de agua de fibra de okara hasta un límite a partir del cual estas propiedades de hidratación se redujeron, probablemente debido a la ruptura de poros y canales en la superficie de las partículas fibrosas, lo que reduce su capacidad para interactuar con moléculas de agua.

En cuanto a la capacidad de retención de aceite, no se vio afectada por los tratamientos ensayados en ninguno de los dos residuos, y la diferencia entre ambos se asoció más bien con la fuente botánica del bagazo (**Tabla 2.1**). Esta propiedad es una característica importante para prevenir la pérdida de aceite o grasa durante el procesamiento de alimentos y para reducir su absorción durante la digestión de la comida (Luo et al., 2018). De acuerdo con Elleuch et al. (2011), las fibras dietarias con alta retención de aceite permiten la estabilización de productos alimenticios con alto contenido de grasa y de emulsiones.

La capacidad de retención de aceite de los residuos de ahípa fue aproximadamente el doble que los de mandioca (**Tabla 2.1**), y superior a los valores informados para el polvo de raíces de loto (1,6-2,6 g/g) (Chen et al., 2018) y para residuos fibrosos obtenidos de ginseng (1,78 g/g) (Hua et al., 2019), pero inferior a la de fibra de soja (5,03 g/g) (Chen et al., 2019) o las cubiertas de brotes de bambú (5,79 g/g) (Luo et al., 2018). De acuerdo con Chen et al. (2019), las estructuras fibrosas que dan una mayor porosidad y atracción capilar mejoran la retención de aceite. En este caso, las fibras largas de ahípa exhiben canales superficiales que pueden aumentar la atracción capilar con el aceite, en

comparación con las partículas más pequeñas y de superficie más lisa de los residuos de mandioca (**Figura 2.11**).

4.3. Análisis químicos

4.3.1. Cuantificación de almidón remanente fácilmente extraíble

El contenido de almidón remanente fácilmente extraíble hace referencia a aquel que se encuentra mayormente en la superficie de las fibras y puede ser removido por inmersión y agitación, sin necesidad de romper la estructura de los conglomerados o asociaciones de fibras.

El contenido de almidón fácilmente extraíble fue alto para los residuos obtenidos de las extracciones acuosas (A y M, **Tabla 2.2**), presentando M el valor más alto ($p < 0,05$), tal como se esperaba dado el mayor contenido de almidón de las raíces de mandioca (67-82%) (Niba et al., 2006), en comparación con las de ahípa (43,7%) (Dini et al., 2013).

El tratamiento térmico eliminó la mayor parte del almidón fácilmente extraíble de ambos residuos (AA y MA) y el ultrasonido redujo aún más la cantidad de almidón remanente en AAU y MAU, aunque en menor medida que el uso del autoclave (**Tabla 2.2**). La marcada disminución derivada del primer tratamiento físico pudo deberse a la gelatinización del almidón. La pérdida de la estructura cristalina del almidón lo hace más accesible y más dispersable, lo que facilitaría el arrastre del almidón por el agua de lavado. Otro aporte para este efecto, aunque de menor magnitud, pudo haber sido la ruptura de las fibras, permitiendo la liberación de algunos gránulos de almidón atrapados en el entrecruzamiento de las mismas.

El tratamiento con ultrasonido pudo haber contribuido también a liberar más gránulos de almidón de la matriz fibrosa al romperla por cavitación, disminuyendo de esta forma su contenido.

4.3.2. Contenido de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios cuya estructura contiene uno o más anillos aromáticos a los que se unen grupos hidroxilo (-OH).

Entre los compuestos fenólicos simples presentes en las raíces de ahípa, se encuentran los ácidos cumárico, ferúlico, cafeico y gálico (Dini et al., 2013), mientras que en las de mandioca, se ha reportado la presencia de ácidos fenólicos que pertenecen al grupo del ácido benzoico, tales como ácido vainílico, protocatéquico, siríngico y gálico, y otros dentro de la clase de los ácidos cinámicos, que incluyen al ácido trans cinámico, *m*-cumárico, *p*-cumárico, ferúlico y cafeico (Udoro, Anyasi, & Jideani, 2020).

Estos compuestos son altamente oxidables en contacto con el oxígeno del aire, por ejemplo, cuando se produce la ruptura celular mediante cortes o procesamiento mecánico que desorganizan la compartimentalización celular, y generan reacciones de pardeamiento, ya que pueden ser sustratos de enzimas como la polifenoloxidasas (PPO) o la peroxidasa (POD), formando los denominados melanoides (complejos de color pardo-amarronado) (Ringuelet y Viña, 2013).

Los taninos son compuestos polifenólicos que se clasifican en dos grupos principales: por un lado, los taninos hidrolizables (**Figura 2.12 A**), que consisten en un núcleo central de carbohidratos al que se unen los ácidos carboxílicos fenólicos por enlace éster; y por otro, los taninos condensados (**Figura 2.12 B**), o proantocianidinas, que consisten en oligómeros de dos o más flavan-3-oles.

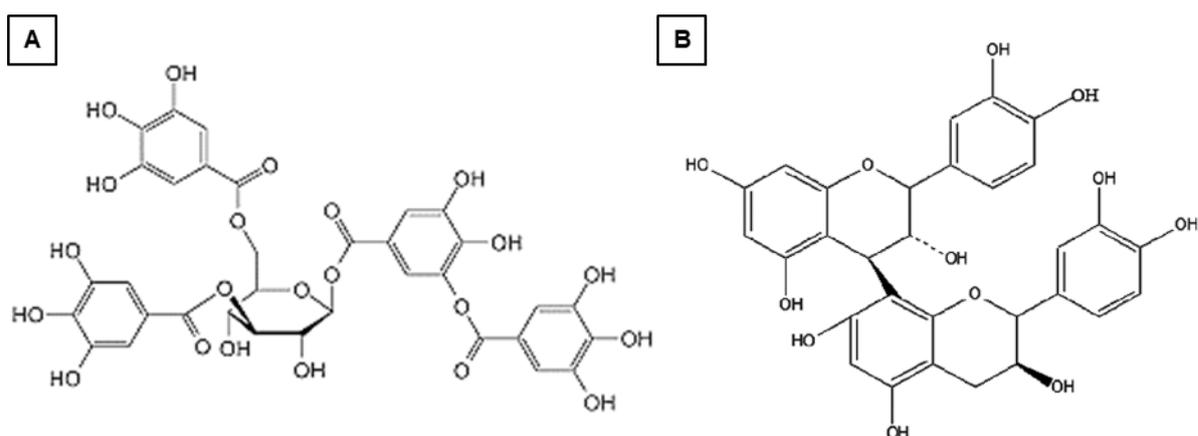


Figura 2.12. Estructura de taninos **A)** hidrolizables y **B)** condensados.

Como se mencionó anteriormente (**Capítulo 1, sección 4.2.2.4**), los taninos son considerados antinutrientes, ya que tienen una afinidad muy alta por las proteínas y pueden formar complejos proteína-tanino.

La ingesta de alimentos que contienen taninos condensados afecta en gran medida a las proteínas y disminuye su biodisponibilidad en el producto (Makkar, 2007). Además, los taninos pueden reducir la palatabilidad de los alimentos debido a su interacción con las proteínas salivales (Dini et al., 2013).

También dentro de la clase de los metabolitos fenólicos, las antocianinas son flavonoides responsables de otorgar pigmentación en un amplio rango de colores, como rojos, azules, violetas y rosas (Ringuelet y Viña, 2013). Además, han mostrado efectos favorables para la salud humana, con propiedades antioxidantes, cardioprotectoras, antiinflamatorias y anticancerígenas (Park et al., 2013). La ahípa presenta un contenido de antocianinas de 18,7 mg de equivalentes de cianidina-3-glucósido/ 100 g en su parte interna, mientras que su cáscara alcanza valores de 163 mg de equivalentes de cianidina-3-glucósido/ 100 g (Dini et al., 2020). Es por esto que se observa mayor coloración violácea en la cáscara que en el interior de la raíz (pulpa).

El contenido de compuestos fenólicos totales en raíces con cáscara de ahípa presenta valores de 303-379 mg equivalentes de ácido tánico/ 100 g (Dini et al., 2013) que corresponde a 190-237 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/ 100 g, mientras que Nilusha et al. (2021) encontraron que para cinco variedades de mandioca, el contenido de compuestos fenólicos en raíces peladas oscila entre 457,6-755,3 mg EAG/ 100 g.

En el presente Trabajo de Tesis se halló que el contenido de fenoles totales extraíbles (FTE) fue mayor para los residuos de ahípa que para los de mandioca (**Tabla 2.2**). El tratamiento térmico redujo significativamente los niveles de FTE y taninos, tanto en AA como en MA, mientras que el ultrasonido produjo una mayor reducción en los residuos de ahípa (AAU) pero no en los de mandioca, considerando que los niveles de partida en esta especie eran ya de por sí muy reducidos.

Tabla 2.2. Composición química de los residuos fibrosos de ahipa y mandioca.

Muestra	Almidón remanente fácilmente extraíble (%p/p)	FTE (mg EAG/100g)	Taninos (mg EAG/100g)	Taninos (% FTE)	Carbonilos (CO/100 UG)	Carboxilos (COOH/100 UG)	ΔE
A	21,94±0,63 ^e	60,14±3,97 ^d	34,2	56,87	2,86± 0,06 ^{a,b}	0,42± 0,00 ^f	9,14 ± 0,58 ^a
AA	3,42±0,35 ^b	31,38±2,63 ^c	16,29	51,91	3,37± 0,03 ^d	0,28± 0,01 ^d	15,99 ± 1,34 ^b
AAU	2,28±0,13 ^a	21,13±3,48 ^b	15,03	71,14	3,03± 0,13 ^{b,c}	0,31± 0,01 ^e	15,92 ± 1,25 ^b
M	50,77±0,66 ^f	20,31±0,76 ^b	6,42	31,61	2,83± 0,08 ^{a,b}	0,10± 0,00 ^c	8,35 ± 0,34 ^a
MA	9,64±0,41 ^d	9,30±2,09 ^a	3,14	33,71	3,14± 0,14 ^c	0,05± 0,00 ^a	9,17 ± 0,69 ^a
MAU	7,47±0,38 ^c	8,84±0,59 ^a	5,13	58,05	2,80± 0,00 ^a	0,07± 0,00 ^b	9,35 ± 0,94 ^a

FTE: fenoles totales extraíbles; EAG: equivalentes de ácido gálico; UG: unidades de glucosa; ΔE : diferencia total de color.

Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Como aspecto positivo, los residuos ricos en compuestos fenólicos son valiosos en la industria alimentaria para ser utilizados como fibra antioxidante (Fierascu et al., 2019). La concentración de FTE de los residuos fibrosos estudiados fue mayor en los de ahipa respecto a los de mandioca, con un valor superior para los residuos obtenidos tras las extracciones acuosas. En el caso de los residuos de ahipa, los resultados obtenidos fueron similares a los valores informados para otros subproductos vegetales como, por ejemplo, los provenientes de tratamientos térmicos de distintas variedades de batata (19- 130 mg EAG/100 g) (Kim et al., 2019), mientras que los de mandioca resultaron inferiores. Sin embargo, el potencial antioxidante de los residuos fibrosos también depende de los polifenoles no extraíbles como proantocianidinas poliméricas y taninos de alto peso molecular (Sánchez-Alonso et al., 2007). Los residuos de ahipa podrían presentar potencial antioxidante, especialmente porque se oscurecieron después de aproximadamente 2 meses de almacenamiento, probablemente asociado a la oxidación de los polifenoles residuales.

4.3.3. Contenido de carbonilos y carboxilos

El contenido de grupos carbonilo fue predominante respecto a los carboxilos en ambos residuos y aumentó ($p < 0,05$) por efecto del tratamiento térmico, tanto en ahipa como en mandioca (**Tabla 2.2**). Durante el tratamiento térmico, pueden haberse hidrolizado enlaces de las cadenas poliméricas y, en consecuencia, aumentar la proporción de grupos carbonilo. Esto puede estar relacionado con la ruptura de las fibras, generando un incremento de la superficie expuesta y una mayor proporción de grupos funcionales oxidados.

El contenido de grupos carboxilo fue muy bajo en los residuos A y M, reduciéndose levemente con la aplicación del tratamiento térmico. El ultrasonido favoreció levemente la oxidación posterior incrementando el contenido de grupos carboxilo, aunque estos valores se mantuvieron en niveles bajos (**Tabla 2.2**).

Las principales modificaciones en los grupos funcionales del almidón y la fibra, componentes mayoritarios del bagazo, derivarían principalmente de los cambios físicos inducidos por los tratamientos, principalmente la hidrólisis parcial de dichos componentes.

De los polisacáridos constitutivos de la pared celular, las hemicelulosas presentan una estructura más amorfa y menos organizada que la celulosa. Por este motivo, sumado a la diversidad de enlaces glicosídicos (α y β) presentes en las cadenas de hemicelulosa, este polisacárido podría resultar más susceptible a la degradación y a la oxidación favorecidas por el tratamiento térmico.

4.4. Medida de color

La diferencia total de color (ΔE) con respecto al plato de calibración (blanco) del residuo fibroso A fue menor ($p < 0,05$) que la correspondiente a AA y AAU (**Tabla 2.2**). Esto puede atribuirse a la disminución del contenido de almidón residual y a la posible oxidación durante el tratamiento térmico de los compuestos fenólicos presentes, aportando tonalidades más oscuras a AA y AAU. Resultados similares fueron reportados por Ullah et al. (2018) para la fibra dietaria insoluble de okara, que exhibió un índice de blancura bajo luego de ser tratada térmicamente a presión (120°C durante 60 min), y esto se atribuyó al pardeamiento no enzimático durante el calentamiento.

El valor de ΔE de los residuos de mandioca no se vio afectado por los tratamientos físicos (**Tabla 2.2**), lo cual puede asociarse al bajo contenido de compuestos fenólicos en estas raíces.

Con respecto a posibles aplicaciones de los residuos fibrosos, aquellos que presentan tonos pardos, más oscuros, podrían emplearse para simular la ocurrencia de las reacciones de Maillard durante el horneado, especialmente en los productos de panadería libres de gluten que suelen ser más pálidos que sus análogos elaborados con harina de trigo.

4.5. Tamaño de partículas

El efecto de los tratamientos ensayados en la distribución del tamaño de partícula de los residuos de ahípa y mandioca se muestra en la **Figura 2.13**. El residuo A mostró relativamente alta proporción de fibras alargadas, representando las partículas $>1\text{mm}$ más del 30% en peso (Tabla inserta en la **Figura 2.13 B**), tal como se observó previamente en la **Figura 2.10**.

Dentro del conjunto de partículas $<1\text{ mm}$, la proporción de partículas grandes se incrementó para el residuo AA, fenómeno que puede relacionarse con la pérdida

de gránulos de almidón después del tratamiento térmico (**Tabla 2.2**), lo cual se ve reflejado en la ausencia de partículas correspondientes a $\sim 13 \mu\text{m}$, las cuales estaban presentes en el residuo A (**Figura 2.13 A**). El tratamiento con ultrasonido (AAU) redujo ligeramente el número de partículas en el rango $\sim 100\text{-}400 \mu\text{m}$ (**Figura 2.13 A**) pero esto no fue reflejado en un cambio significativo ($p > 0,05$) del valor D_{50} del residuo AA ($552 \pm 54 \mu\text{m}$) en comparación con AAU ($584 \pm 74 \mu\text{m}$). Sin embargo, al analizar la distribución de partículas $> 1 \text{ mm}$, la frecuencia de partículas entre $1\text{-}2 \text{ mm}$ fue mayor en AA que en AAU, mientras que AAU mostró mayor proporción de partículas $> 2 \text{ mm}$, lo que indica que el ultrasonido no rompió las fibras más alargadas. La proporción de partículas grandes ($> 1 \text{ mm}$) a pequeñas ($< 1 \text{ mm}$) fue mayor para AAU en comparación con A ($p < 0,05$), por lo que el tratamiento con ultrasonido no rompió las partículas grandes, pero redujo la proporción en peso de las pequeñas, probablemente por solubilización de algunos compuestos durante los tratamientos (Tabla inserta en la **Figura 2.13 B**).

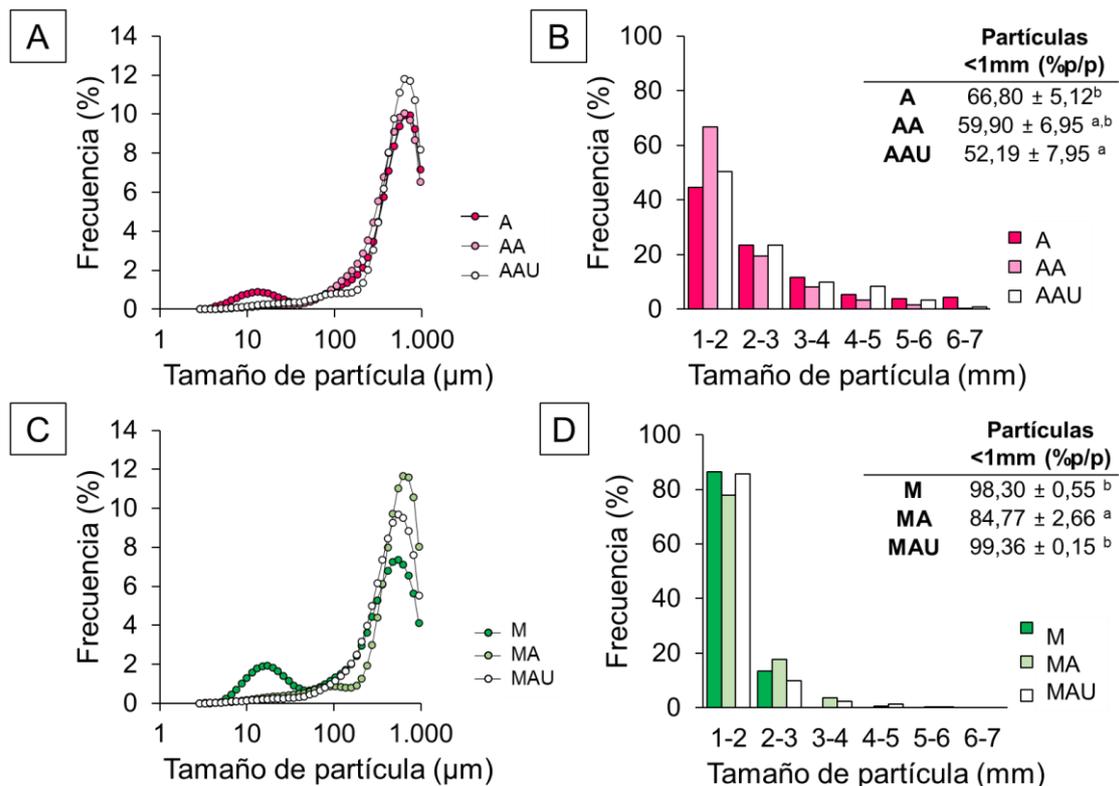


Figura 2.13. Frecuencia de las partículas **A y C)** menores y **B y D)** mayores que 1 mm de los residuos de ahípa y mandioca, respectivamente.

Letras diferentes dentro de una columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

La proporción de partículas <1 mm fue mayor en los residuos de mandioca que en los de ahípa para todos los tratamientos ensayados, como lo indican también las observaciones mediante microscopía óptica y electrónica (**Figuras 2.10 y 2.11**). La proporción de partículas pequeñas (<1 mm) a grandes (>1 mm) fue reducida para MA en comparación con M. Como se indicó para los residuos de ahípa, esto se relacionó con una reducción del almidón residual, reflejado también en la desaparición de partículas con tamaño próximo a 17 μm en MA.

A diferencia de lo observado para ahípa, el ultrasonido redujo significativamente el tamaño de partícula de MAU, resultando en que casi todas las partículas presentaron un tamaño por debajo de 1 mm (Tabla inserta en la **Figura 2.13 B**). La distribución por debajo de 1 mm se modificó ligeramente en el rango ~100-400 μm para MAU en comparación con MA (**Figura 2.13 C**), pero no se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) en los valores de D_{90} (569 \pm 83 y 529 \pm 43 μm para MA y MAU, respectivamente). Dentro de la fracción de partículas >1 mm, la proporción de elementos más grandes (>2 mm) fue menor para MAU en comparación con MA, observación que también indicaría una ruptura de la estructura por parte del tratamiento ultrasónico (**Figura 2.13 D**).

4.6. Potencial zeta (ζ)

Como ya se mencionó, el potencial zeta (ζ) es una propiedad física cuya magnitud representa la atracción o repulsión de cargas entre partículas en suspensión. En otras palabras, se trata de la diferencia de potencial a través de los límites de fase entre los sólidos y los líquidos. Las mediciones del potencial zeta son factores clave en los sistemas coloidales que son los conformados por dos o más fases, normalmente una fluida (líquido o gas) y otra dispersa en forma de partículas generalmente sólidas y muy finas. También determina la capacidad de las partículas para interactuar con iones solubles y especies poliméricas.

El potencial zeta de las suspensiones acuosas de los residuos se muestra en la **Tabla 2.3**. Los valores absolutos de ζ más altos se relacionaron con los contenidos más elevados de almidón remanente, donde A y M serían los sistemas más estables entre los analizados, con mayor repulsión electrostática entre las partículas que podría evitar la agregación.

El tratamiento térmico disminuyó significativamente el ζ , tanto para los residuos de ahípa como para los de mandioca, mientras que el ultrasonido no condujo a modificaciones en los valores registrados.

Los residuos MA y MAU tuvieron el ζ más bajo, similar a los reportados por Oliveira et al. (2017) para hidrogeles preparados con fibras de celulosa extraídas de cáscaras de avena y de arroz (-12,5 y -14 mV, respectivamente). Estos resultados indican que la carga superficial de las partículas no estuvo directamente relacionada con los cambios en las propiedades de hidratación de los residuos de mandioca después del tratamiento ultrasónico.

Tabla 2.3. Potencial zeta, picos de difracción de rayos X y grado de cristalinidad de los residuos de ahípa y de mandioca.

Muestra	Potencial zeta (mV)	2 θ de los picos principales (°)	Grado de cristalinidad (%)
A	-36,3±5,8 ^b	15; 17; 23	10,69±0,61 ^d
AA	-26,0±2,5 ^c	16; 22,8; 35	11,59±0,44 ^e
AAU	-24,4±1,6 ^c	16; 22,8; 35	8,94±0,69 ^c
M	-65,4±2,5 ^a	15; 17; 23; 35	10,19±0,19 ^d
MA	-14,9±4,5 ^d	20; 35	7,95±0,64 ^b
MAU	-14,4±2,6 ^d	16; 20; 35	7,22±0,24 ^a

Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

4.7. Análisis de Difracción por rayos X

Los patrones de difracción de rayos X de los residuos A y M guardaron semejanza con los típicos de almidón, con picos en $2\theta = 15, 17$ y 23° , lo que refleja que éste es el componente principal en estas muestras. El residuo M también mostró un pequeño pico a $2\theta = 35^\circ$ típico de materiales que contienen

celulosa (Chen et al., 2019; Maniglia & Tapia-Blácido, 2019b). Los grados de cristalinidad (GC) de A (10,6%) y M (10,2%) fueron similares o ligeramente inferiores a los valores reportados para almidón de ahípa y de mandioca (10,6 y 15,9%, respectivamente) (Díaz et al., 2018; Doporto, 2014), pero inferiores a los reportados para fibra dietaria insoluble de las cubiertas de brotes de bambú (28,2%, Luo et al., 2018), o ginseng (34,24%, Hua et al., 2019). El grado de cristalinidad de M fue considerablemente más bajo que lo informado por Huang et al. (2018) para residuos de mandioca (40,20 %). Sin embargo, los autores también informaron que la trituración de los residuos disminuyó el GC obteniendo un valor de 23,23 %, por lo que el bajo grado de cristalinidad observado para el residuo de mandioca podría estar relacionado con el proceso de molienda.

El grado de cristalinidad del residuo de ahípa se incrementó ligeramente después del tratamiento térmico (**Tabla 2.3**) probablemente debido a un efecto contrapuesto entre la pérdida de gránulos de almidón (lo que disminuiría el GC) (Maniglia & Tapia-Blácido, 2019b) y la eliminación de fracciones amorfas de celulosa y hemicelulosa. El tratamiento con ultrasonido redujo el GC a 8,9%, probablemente debido a una disrupción de la estructura cristalina de la celulosa de acuerdo con lo observado en el análisis de los espectros ATR-FTIR. Los difractogramas de los residuos AA y AAU fueron similares a los informados por Luo et al. (2018) para fibra dietaria insoluble de cubiertas de brotes de bambú, con picos a $2\theta=16$ y $22,8^\circ$, correspondientes a celulosa de tipo I, es decir a la estructura nativa de la celulosa, la forma más abundante como se encuentra en la pared celular de las plantas.

El tratamiento térmico redujo el grado de cristalinidad del residuo de mandioca de 10,2 a 7,9%, relacionado principalmente con la pérdida de almidón. El ultrasonido produjo una pérdida adicional de cristalinidad, mostrando MAU un GC=7,2%. Como se observa para el residuo M, tanto MA como MAU mostraron un pequeño pico a 35° (**Tabla 2.3**) correspondiente a celulosa de tipo I (Maniglia & Tapia-Blácido, 2019b; Chen et al., 2019).

Según de Oliveira et al. (2017) el aumento de la cristalinidad de la celulosa conduce a una mayor absorción de agua en los hidrogeles. Esto no fue observado en los residuos de ahípa en los que el tratamiento con ultrasonido disminuyó el GC de AAU en comparación con AA, pero esto no se vio reflejado

en una modificación apreciable de sus espectros ATR-FTIR o un cambio significativo ($p > 0,05$) en su contenido de humedad, o de su capacidad de absorción y retención de agua. Contrariamente, el GC del residuo de mandioca tratado con ultrasonido se redujo junto con el contenido de humedad, la capacidad de unión y retención de agua, y esto se reflejó en un cambio de estructura al comparar los espectros ATR-FTIR de los residuos MAU y MA.

4.8. Espectros ATR-FTIR

La **Figura 2.14** muestra los espectros ATR-FTIR de los residuos de ahipa y mandioca. Como era de esperar, el alto contenido de almidón en A y M se vió reflejado en la gran similitud entre estos residuos fibrosos y los respectivos espectros del almidón nativo en la región de la huella dactilar de los azúcares (900 a 1200 cm^{-1}): 85,4% de similitud entre el residuo A y el almidón ahipa, y 89,4% entre el residuo M y el almidón de mandioca (Strack et al., 2021).

Después del tratamiento térmico, se observó un hombro a 1012 cm^{-1} en el espectro de MA, que no se evidenció en M, y el ultrasonido aumentó la intensidad de este pico (**Figura 2.14 B**) indicando cambios en la estructura de la fibra. Se observó una tendencia similar para los residuos de ahipa (**Figura 2.14 A**). Además, el pequeño pico de $\sim 1103\text{ cm}^{-1}$ en A, AA, M y MA, asociados a celulosa cristalina (Martín et al., 2017), estuvo ausente en AAU y MAU.

Los picos característicos de las unidades siringilo de lignina ($\sim 1325\text{ cm}^{-1}$) y guayacilo ($\sim 1259\text{ cm}^{-1}$) o las bandas características de lignina a 1462 y 1505 cm^{-1} (Dai & Fan, 2011; Pandey & Pitman, 2003; Versino & García, 2014) observadas para la lignina extraída de raíces de ahipa y de mandioca no fueron evidenciadas en ninguna de las muestras, indicando el predominio de las fracciones de celulosa y hemicelulosa.

La modificación de los espectros por los tratamientos térmicos y ultrasónicos por fuera de la región de la huella dactilar de los azúcares fue más pronunciada para los residuos de mandioca que para los de ahipa, de acuerdo con lo observado para las propiedades físicas. La banda a 3250 cm^{-1} en M y MA, relacionado con el estiramiento de grupos -OH, se desplazó a 3310 cm^{-1} en MAU, lo que indica una mayor proporción de puentes de H en la estructura. Según Rashid et al. (2016), esto indicaría una reducción en el número de moléculas de agua que

interactúan con la estructura fibrosa, que es consistente con el menor contenido de humedad del residuo MAU en comparación con M y MA (**Tabla 2.1**).

Para los residuos de ahipa no se vio un cambio sustancial en la banda de estiramiento -OH por el tratamiento térmico y de ultrasonido (**Figura 2.14 A**).

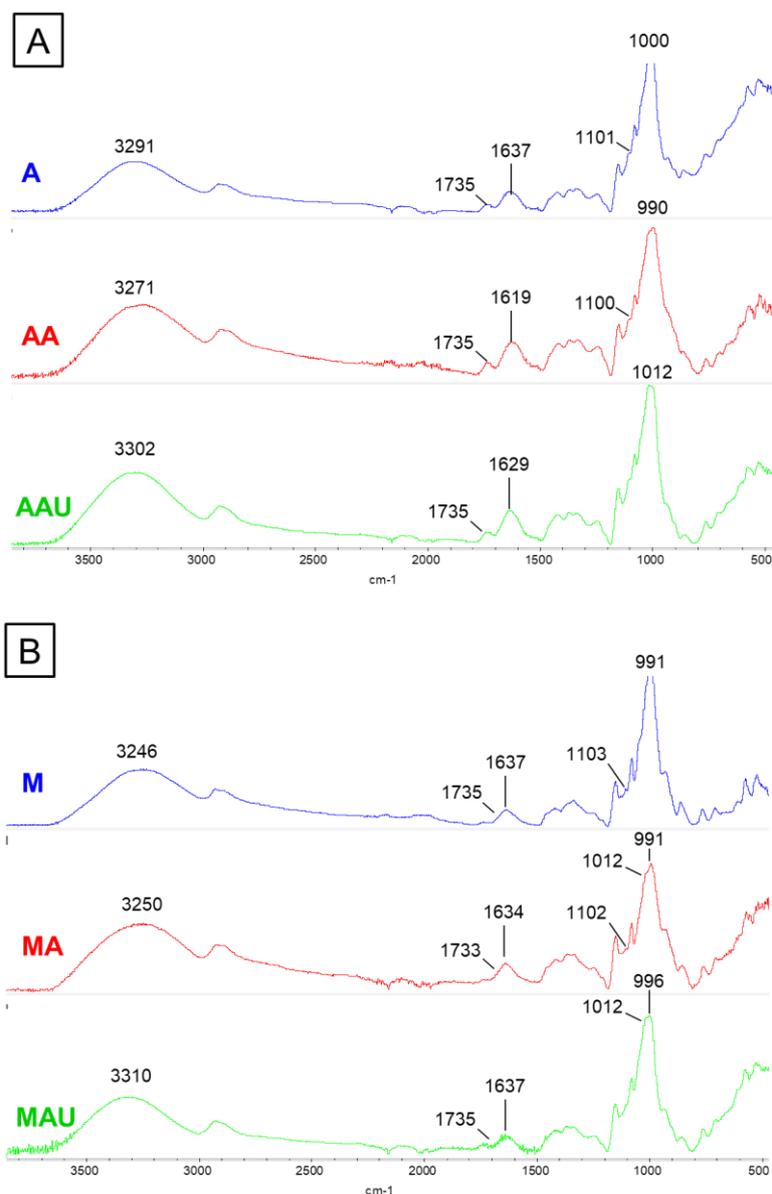


Figura 2.14. Espectros de ATR-FTIR de los residuos de **A)** ahipa y **B)** mandioca.

4.9. Propiedades reológicas

Tal como se indicó en la sección Materiales y Métodos de este **Capítulo**, las suspensiones acuosas de los residuos de ahipa no pudieron formar estructuras

tipo gel, incluso luego del calentamiento, por lo tanto, el comportamiento reológico de estas muestras no fue analizado.

En el caso de los residuos de mandioca, las suspensiones sometidas a las condiciones que se utilizan para generar pastas de almidón (90°C, 20 min; Doporto, 2014) y equilibradas a temperatura ambiente, exhibieron un comportamiento pseudoplástico ajustado satisfactoriamente al modelo de la Ley de la Potencia propuesta por Ostwald de Waele. La bondad de ajuste se redujo de M a MAU como se refleja en los valores de r^2 (**Tabla 2.4**). La viscosidad aparente (η_{ap}) del residuo M fue debida, principalmente, a su alto contenido de almidón, resultando ligeramente inferior a la de las pastas de almidón de mandioca: $\sim 400 \text{ mPa} \times \text{s}$ (Díaz et al., 2018) y más baja aún que la η_{ap} informada para fibra de arroz y salvado de trigo (418 y 639 $\text{mPa} \times \text{s}$, respectivamente) (Yadav et al., 2017). Los valores de n de todas las muestras fueron bajos, lo que indica una reducción significativa de la viscosidad a altas velocidades de cizallamiento. La η_{ap} de MA fue la más baja, mientras que el tratamiento con ultrasonido aumentó la η_{ap} y la tixotropía de las suspensiones del residuo MAU (**Tabla 2.4**).

En el barrido de amplitud, las suspensiones de M y MAU mostraron un comportamiento viscoelástico lineal frente a esfuerzos cortantes de hasta 4 Pa, mientras que para MA la región de comportamiento viscoelástico lineal fue menor (hasta 0,4 Pa) lo que indica que la suspensión obtenida a partir de MA se comportó como una solución concentrada en lugar de un gel débil. Como se mencionó anteriormente, el comportamiento reológico del residuo M fue impulsado principalmente por su contenido de almidón residual. En consecuencia, los módulos G' y G'' obtenidos en el ensayo de barrido de frecuencia a 1 Hz resultaron del orden de los reportados para las pastas de almidón de mandioca gelatinizado (4% p/p): 24 y 7 Pa para G' y G'' , respectivamente (Doporto, 2014) (**Tabla 2.5**).

Las suspensiones calentadas del residuo MAU exhibieron valores de G' y G'' superiores a los de M en toda la gama de frecuencias ensayadas (**Figura 2.15 A**). Para ambas muestras, las curvas correspondientes a G' y G'' permanecieron casi paralelas, típico de geles débiles.

La capacidad de formación de gel inducida por el calentamiento de las suspensiones de MAU no se debió a su contenido de almidón residual, ya que MA contenía más almidón residual que MAU (**Tabla 2.2**), evidenciando así posibles cambios en la estructura de la fibra ejercidos por el tratamiento con ultrasonido.

Tabla 2.4. Parámetros reológicos del análisis rotacional de hidrogeles derivados de residuos de mandioca.

Muestra	Tixotropía (Pa/s)	Modelo de Ostwald de Waele			η_{ap} (mPa/s)	Sinéresis (%p/p)
		r^2	k (Pa/ s ⁿ)	n		
M	30225±96 ^b	0,998	6,911±0,14 ^c	0,509±0,004 ^{a,b}	356±13 ^c	0,10±0,03 ^a
MA	8754±341 ^a	0,988	0,761±0,19 ^a	0,574±0,044 ^b	54±4 ^a	ND
MAU	11270±7 ^a	0,968	2,917±1,01 ^b	0,409±0,037 ^a	81±7 ^b	41,73±2,91 ^b

r^2 : ajuste al modelo de Ostwald de Waele k: índice de consistencia; n: índice de comportamiento de flujo; η_{ap} : viscosidad aparente.

Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Calabrese et al. (2019) informaron que también se obtuvieron geles débiles por calentamiento a 80°C de suspensiones acuosas de nanofibras de celulosa oxidada. Esto se atribuyó a una mayor interacción entre las fibras, que aumentó la cantidad de agua atrapada proporcionando una estructura semi sólida.

Las partículas más pequeñas y el leve aumento de la oxidación reflejado en el incremento de grupos carboxilo en MAU (**Tabla 2.2**) podrían estar relacionados con este comportamiento.

Calabrese et al. (2019) reportaron que, en el caso de las nanofibras de celulosa oxidada, la estructura tipo gel obtenida por tratamiento térmico se mantuvo después del enfriamiento, pero resultó en un sistema metaestable fácilmente alterado por la perturbación mecánica, lo que indica la prevalencia de interacciones hidrofóbicas entre las fibras. Lo mismo se observó para MAU después del almacenamiento refrigerado, donde el porcentaje de sinéresis fue considerablemente más alto que para M (**Tabla 2.4**), indicando un sistema menos estable y mayor interacción entre las partículas fibrosas.

El porcentaje de sinéresis de M resultó menor que el informado para las pastas de almidón de mandioca gelatinizado ($4,07 \pm 0,77\%$) almacenadas en las mismas condiciones (López, 2011). Esto puede deberse al aporte en la retención de agua provisto por las partículas fibrosas.

La viscosidad compleja (η^*) de las suspensiones M y MAU inmediatamente después de ser sometidas a tratamiento térmico y después del almacenamiento refrigerado (72 h, 4°C) se muestran en la **Figura 2.15 C**. Como se observó para los geles de ambos residuos, la η^* disminuyó monótonamente con la frecuencia aplicada. Zhang et al. (2014) informaron resultados similares para hidrogeles de fibras de celulosa de bambú de tamaño micrométrico.

A pesar de que MAU exhibió menor η_{ap} que M en el ensayo rotacional, el ensayo dinámico mostró un comportamiento inverso, con MAU mostrando una mayor η^* que M (**Figura 2.15 C**) y las suspensiones de MAU recién preparadas presentaron una mayor resistencia frente al esfuerzo dinámico oscilatorio. Sin embargo, luego del almacenamiento refrigerado, se observó una disminución significativa de η^* para los hidrogeles de MAU en todo el rango de frecuencias ensayadas, indicando el debilitamiento de la estructura del hidrogel, mientras que la η^* de M aumentó, como ocurre en las pastas de almidón de mandioca puras (Díaz, 2021).

Tabla 2.5. Parámetros reológicos del análisis dinámico de hidrogeles derivados de residuos de mandioca.

Muestra	G' a 1 Hz (Pa)	G' a 1 Hz retrogradado (Pa)	G'' a 1 Hz (Pa)	G'' a 1 Hz retrogradado (Pa)	tan δ a 1 Hz	tan δ a 1 Hz retrogradado
M	49,71±12,34 ^a	113,20±7,78 ^a	15,81±2,78 ^a	21,35±1,85 ^a	0,321±0,024 ^a	0,188±0,003 ^a
MA	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MAU	459,15±79,13 ^b	116,82±50,18 ^a	102,75±8,13 ^b	40,13±14,59 ^a	0,226±0,021 ^a	0,349±0,025 ^b

G': módulo de almacenamiento; G'': módulo de pérdida; tan δ: ángulo de fase. Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

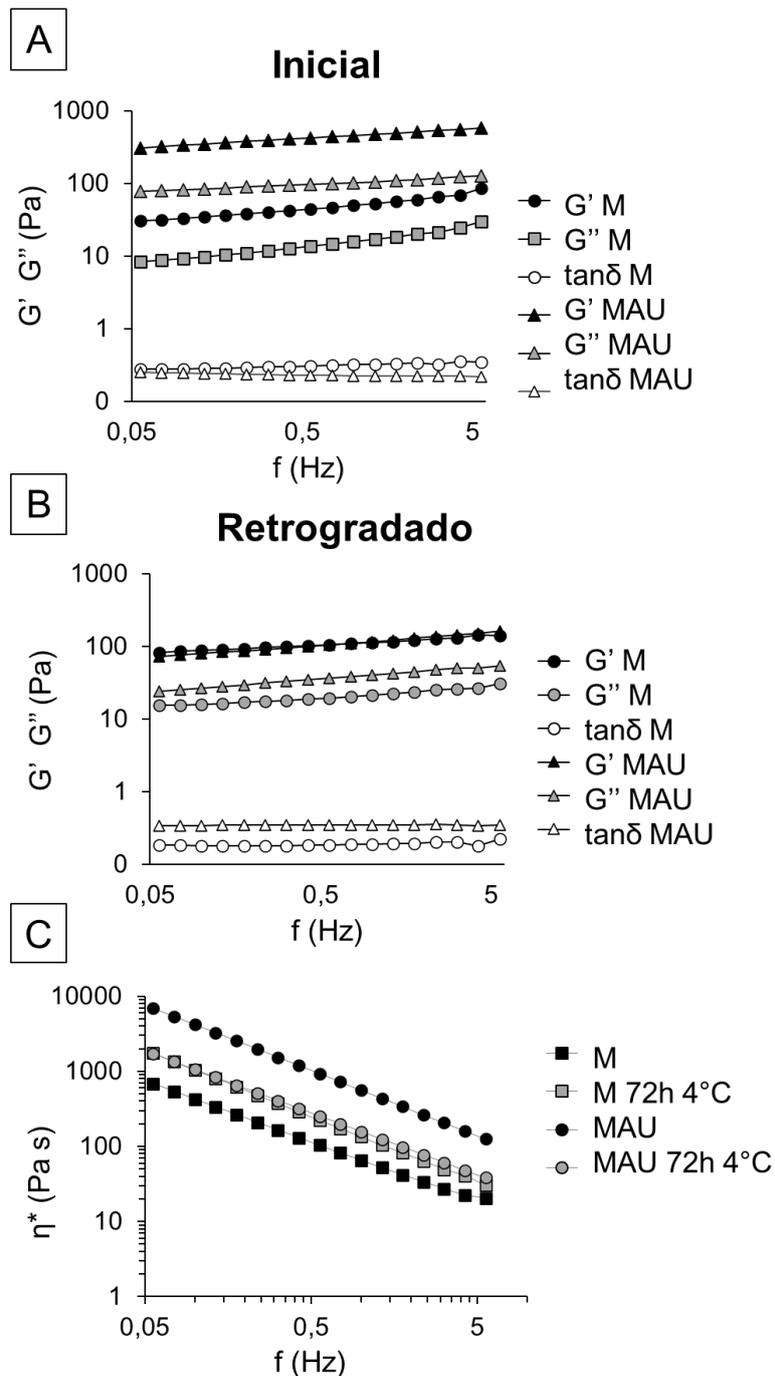


Figura 2.15. Módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G''), y ángulo de fase ($\tan \delta$) de los geles débiles obtenidos a partir de suspensiones acuosas de residuos de M y MAU calentados durante 20 min a 90°C **A)** recién preparado y **B)** después del almacenamiento refrigerado (72 h a 4°C). **C)** Viscosidad compleja (η^*) de geles de M y de MAU recién preparados y después de su conservación en refrigeración durante 72 h a 4°C .

4.10. Composición y propiedades de residuos obtenidos de raíces del nuevo ciclo de cultivo

4.10.1. Caracterización química de los nuevos residuos de ahípa y mandioca. Efecto del orden de los tratamientos físicos en mandioca

Para profundizar en el análisis del efecto de los tratamientos físicos sobre los residuos de la extracción de almidón de ahípa y mandioca fue necesario analizar un nuevo ciclo de cultivo de estas raíces. En este caso se incrementó el tiempo de contacto del bagazo y el agua durante la extracción acuosa del almidón a fin de mejorar la eficiencia de extracción. Adicionalmente, debido a las modificaciones notorias que se encontraron al aplicar los tratamientos de autoclave y ultrasonido sobre los residuos de mandioca, se estudió el efecto de invertir estos tratamientos en dichos residuos en las propiedades químicas y tecnológicas de los mismos.

4.10.1.1. Contenido de humedad

Los contenidos de humedad de los residuos obtenidos luego de la extracción de almidón de raíces de la segunda cosecha fueron similares a los encontrados en la primera para A, y levemente menores para el residuo M (**Tablas 2.1 y 2.6**). En el caso de los residuos de ahípa no hubo un cambio tan notorio en el contenido de humedad luego de los tratamientos respecto a los de la primera cosecha, aunque se mantiene la tendencia de disminución de la humedad con los dos tratamientos (**Tabla 2.6**). La tendencia fue diferente para los residuos de mandioca de la segunda cosecha respecto a la primera, para los cuales los tratamientos físicos en autoclave y ultrasonido generaron un leve incremento de la humedad. Respecto al orden de los tratamientos, la aplicación de ultrasonido previo al autoclave resultó en un menor contenido de humedad de los residuos.

4.10.1.2. Cuantificación de almidón remanente fácilmente extraíble y total

En comparación con la primera obtención de residuos, el contenido de almidón remanente fácilmente extraíble de los mismos disminuyó de 21,94 a 12,71 % para el residuo A, y de 50,77% a 42,66 % para M (**Tablas 2.2 y 2.6**), lo que indicaría una mejora considerable en la extracción del almidón con el aumento

del tiempo de contacto durante el proceso. En cuanto al tratamiento con autoclave, no se observaron diferencias entre la primera y la segunda tanda en ahipa, mientras que en mandioca hubo una leve disminución en el contenido de almidón extraíble.

Los valores de almidón total de ambas raíces fueron significativamente superiores ($p < 0,05$) a los de almidón fácilmente extraíble (12,71 y 42,66 %p/p, respectivamente), indicando una gran proporción de almidón retenido en la estructura de la fibra. Cabe destacar que en el caso del residuo de ahipa, el 55,7% del almidón presente queda retenido en la fibra, mientras que en mandioca sólo el 26,7% es almidón no extraíble.

Luego del tratamiento en autoclave, el residuo AA presentó un contenido de almidón total de 19,17 %, frente al 2,87 % que representa el almidón fácilmente extraíble. El residuo de mandioca, luego del tratamiento en autoclave (MA), sufrió un leve aumento en el contenido de almidón total respecto al residuo M, relacionado con la pérdida de otros compuestos por solubilización, pero fue marcado el descenso en el contenido de almidón fácilmente extraíble (**Tabla 2.6**). El tratamiento en autoclave se realiza en exceso de agua, con condiciones de temperatura y presión muy superiores a las de gelatinización del almidón; así, se produce la disgregación y solubilización de la mayor parte de los gránulos libres. La cavitación produce la ruptura de las paredes celulares vegetales (Gan et al., 2021), por lo que se esperaría que aumente el desprendimiento de gránulos de almidón. Sin embargo, el almidón extraíble sólo disminuyó ligeramente en ambos residuos (AAU y MAU), y produjo un aumento del contenido de almidón total, nuevamente indicando la pérdida preferencial de otros compuestos de la fibra por sobre el almidón. Cabe mencionar que las condiciones seleccionadas para el tratamiento con ultrasonido fueron de baja intensidad. Asimismo, el aumento de la temperatura producido por la fricción en el tratamiento con ultrasonido también ayuda a descomponer los tejidos. En este caso, las condiciones se mantuvieron controladas para que el proceso no fuera térmico, y fuera sólo el resultado del proceso de cavitación, motivo por el cual los efectos resultaron ser leves.

Tabla 2.6. Composición química de los residuos obtenidos de la segunda cosecha de raíces.

Muestra	Humedad (%p/p)	Almidón extraíble (%p/p)	Almidón total (%p/p)	FDT (%p/p)	FDI (%p/p)	FDS* (%p/p)	FDN-APP (%p/p)
A	11,15±0,07 ^b	12,71±0,34 ^b	28,72±0,34 ^c	27,2±1,6 ^a	26,5±0,3 ^a	0,7	44,4±8,6 ^a
AA	11,01±0,11 ^b	2,87±0,07 ^a	19,17±1,03 ^a	31,4±0,4 ^b	30,5±0,2 ^b	0,6	50,4±0,9 ^{a,b}
AAU	9,49±0,02 ^a	3,52±0,15 ^a	22,92±0,29 ^b	32,3±0,6 ^b	31,8±0,1 ^c	0,5	61,5±0,2 ^b
M	10,70±0,08 ^C	42,66±1,51 ^D	58,20±0,84 ^A	14,7±0,9 ^A	12,0±0,1 ^A	2,7	13,2±0,5 ^A
MA	11,81±0,07 ^E	7,48±0,14 ^B	60,95±1,77 ^B	21,4±0,6 ^C	17,9±2,3 ^B	3,5	46,1±7,7 ^B
MAU	11,60±0,04 ^D	5,57±0,11 ^A	66,41±1,12 ^C	21,3±0,7 ^C	19,5±0,5 ^B	2,2	51,2±8,9 ^B
MU	10,23±0,13 ^B	40,02±0,55 ^C	58,07±3,04 ^A	14,5±0,3 ^A	12,1±0,3 ^A	2,4	9,3±0,8 ^A
MUA	9,80±0,11 ^A	5,59±0,07 ^A	64,71±0,83 ^C	18,1±0,2 ^B	14,7±1,2 ^A	3,4	43,1±1,2 ^B

FDT: fibra dietaria total; FDI: fibra dietaria insoluble; FDS*: fibra dietaria soluble, calculada por diferencia entre FDT y FDI; FDN-APP: fibra insoluble en detergente neutro de muestras pretratadas con α -amilasa pancreática porcina (APP). Letras minúsculas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los residuos de ahípa; letras mayúsculas, entre los de mandioca.

Estos resultados indican que los tratamientos físicos no sólo eliminan el almidón más fácilmente expuesto, sino que también solubilizan componentes de la pared celular y otros compuestos, sin producir una gran liberación de gránulos que quedarían retenidos en el entramado fibroso, y, por lo tanto, aumentando la proporción de almidón total en los residuos.

Como se mencionó anteriormente, los residuos de mandioca presentaron cambios notorios en sus propiedades de hidratación luego de los tratamientos físicos aplicados, por lo que se evaluó la aplicación de los mismos en orden inverso. Se observó que el residuo luego del tratamiento con ultrasonido (MU) presentó un contenido de almidón fácilmente extraíble levemente inferior al obtenido para M (**Tabla 2.6**), mientras que con el posterior tratamiento en autoclave (MUA), no hubo diferencias significativas con el residuo tratado en el orden inverso (MAU).

En el caso del almidón total cuantificado (**Tabla 2.6**), se observa la misma tendencia, donde el tratamiento único con ultrasonido (MU) no genera diferencias significativas respecto a M, pero en combinación con el autoclave, los residuos MUA y MAU no difieren significativamente en su contenido de almidón total.

4.10.1.3. Contenido de Fibra Dietaria Total (FDT), Insoluble (FDI) y Soluble (FDS).

La fibra dietaria total (FDT) está compuesta por una fracción soluble (FDS) y otra insoluble (FDI) en agua (Cho, 2001). La primera consiste en polisacáridos no celulósicos como pectina, gomas y mucílagos que se encuentran en frutas, avena, cebada y legumbres. La ingesta de fibra soluble retrasa el vaciamiento gástrico, enlentece la absorción de glucosa, mejora la función inmunológica y reduce los niveles de colesterol sérico (Dreher, 2001).

La fibra dietaria insoluble consiste esencialmente en componentes de la pared celular como celulosa, lignina y hemicelulosa, presentes principalmente en el trigo, la mayoría de los productos derivados de granos, y hortalizas. En el organismo, la fibra insoluble acorta el tiempo de tránsito intestinal y aumenta el volumen fecal (Dreher, 2001).

Los contenidos de FDT, FDI y FDS se muestran en la **Tabla 2.6**. En estudios previos del grupo, se determinó que el contenido de FDT de raíces de ahípa de la accesión IRNAS 9, utilizada en el presente Trabajo de Tesis, es de 25,9 % b.s. (Doperto, 2014). Las raíces de *P. ahípa* presentan mayor contenido de fibra que las de otras especies de la misma familia como la jícama (*P. erosus*), cuyos valores varían entre 18,2 y 19,4%, dependiendo de la variedad estudiada (González-Vázquez et al., 2022).

El residuo de la extracción de almidón de ahípa (A) presentó valores de fibra dietaria total similares a los de la raíz entera. Esto indica que, durante las extracciones acuosas del almidón, hay también una pérdida significativa de fibra soluble lo que hace que no se observe un aumento notorio en el contenido de fibra del residuo.

El contenido de fibra dietaria obtenido para el residuo de las extracciones acuosas de mandioca (residuo M), fue del 14,7% (**Tabla 2.6**). El resultado fue algo inferior al informado por Lopak et al. (2020) para un residuo industrial de mandioca proveniente de la extracción de almidón a partir del cilindro interno (pulpa) de la raíz: 18,6 %. En ambos casos se mantuvo la tendencia de una fracción predominante de fibra insoluble.

Tanto en los residuos de ahípa como en los de mandioca, el contenido de fibra dietaria total se vio aumentado significativamente ($p < 0,05$) luego del tratamiento en autoclave (AA y MA), así como la fracción de fibra dietaria insoluble. Este enriquecimiento en fibra es principalmente consecuencia de la solubilización del almidón fácilmente extraíble (**Tabla 2.6**).

El tratamiento con ultrasonido no generó diferencias significativas respecto a los residuos anteriores, tanto en AAU como en MAU. Asimismo, pudo observarse que en el residuo MU tampoco hubo diferencias respecto al residuo M. Esto puede relacionarse con la falta de modificación observada previamente para el contenido de almidón total con este tratamiento.

4.10.1.4. Cuantificación de fibra detergente neutro por pretratamiento con α -amilasa pancreática porcina (FDN-APP)

Como se mencionó previamente, la FDN está compuesta por hemicelulosa y lignocelulosa, mientras que la FDA retiene mayoritariamente lignocelulosa, siendo una distinción más bien química de las fracciones.

Por otro lado, la FDT tiene una definición ligada a la capacidad de digestión en seres humanos, donde toda la fracción no digerible es considerada fibra, y esto incluye al almidón resistente.

Para eliminar el almidón remanente en los residuos, previo a la determinación de FDN, se ensayó en primer lugar el uso de α -amilasa pancreática porcina (APP). Como se observa en la **Tabla 2.6**, el mayor valor de FDN-APP respecto a la FDT obtenido para la mayoría de las muestras sugiere que parte del almidón se está incluyendo en la cuantificación de FDN-APP, indicando que el almidón presente no se hidroliza completamente con la enzima APP bajo las condiciones de incubación y en el tiempo de digestión ensayados (37°C, 20 min), incluso cuando el almidón ha sido sometido a condiciones de cocción, como en el caso del tratamiento en autoclave. La presencia de almidón luego del tratamiento fue corroborada por el desarrollo de color azul al adicionarse lugol.

Según Doporto et al. (2014), la fracción de almidón no digerida luego de 20 min a 37°C por la α -amilasa pancreática puede corresponder a almidón lentamente digerible y/o a almidón resistente. Esto es importante debido a que grandes cantidades de almidón remanente en los residuos podrían no significar un alto índice glucémico para éstos si se utilizan como ingredientes en productos alimentarios.

Para los residuos de ahipa puede verse una tendencia al aumento de FDN-APP luego del tratamiento con autoclave, y posterior ultrasonido, mientras que en los de mandioca, no se observan diferencias significativas ($p < 0,05$) luego de aplicar ultrasonido.

Conclusión parcial

Con los resultados obtenidos hasta esta sección, puede concluirse que la inversión en el orden de los tratamientos físicos (es decir, aplicación de ultrasonido y posterior tratamiento en autoclave) en los residuos de mandioca resultó ser menos eficiente para remover almidón, resultando así en residuos menos ricos en fibra. Adicionalmente, el tratamiento previo con autoclave

mejoraría la estabilidad microbiológica de los residuos, evitando que haya fermentaciones indeseables. Por este motivo se continuó con el análisis de los residuos M, MA y MAU.

4.10.2. Composición de los residuos seleccionados

4.10.2.1. Determinación de las fracciones de hemicelulosa y lignocelulosa

Dado que el pretratamiento con α -amilasa pancreática no fue eficaz para eliminar el almidón presente en los residuos, se procedió a utilizar α -amilasa de *Bacillus licheniformis* (BL). Esta enzima, al ser termoestable, permite realizar la digestión a temperaturas que favorecen considerablemente la remoción del almidón (100°C, 20 min). A mayor temperatura no sólo la difusión de la glucosa es mayor, sino que también los gránulos de almidón atrapados se hinchan, posiblemente abriendo la estructura de la fibra (Li et al., 2021) y facilitando la difusión de la enzima hacia la superficie del gránulo (Moore et al., 2015).

Como se observa en la **Tabla 2.7**, los valores obtenidos para FDN-BL son menores que utilizando la α -amilasa pancreática, y la tendencia se corresponde con los valores determinados para FDT (**Tabla 2.6**). La ausencia de almidón fue corroborada por la falta de color azul desarrollado por adición de lugol, y la FDN-BL representa entonces el contenido de hemicelulosas insolubles y lignocelulosa de los residuos.

Tabla 2.7. Composición química y fracciones de hemicelulosa y lignocelulosa.

Muestra	Hemicelulosa+ lignocelulosa (FDN-BL, %p/p)	Lignocelulosa (FDA, %p/p)	Hemicelulosa* (%p/p)	Proteínas (%p/p)	Cenizas (%p/p)
A	21,7±0,3 ^a	15,8±0,3 ^a	5,9	3,77±0,11 ^b	2,07±0,07 ^b
AA	24,6±2,6 ^{a,b}	19,2±0,7 ^b	5,4	3,23±0,08 ^a	1,61±0,07 ^a
AAU	26,7±1,1 ^b	20,8±0,9 ^c	5,9	3,04±0,16 ^a	1,42±0,011 ^a
M	8,5±2,1 ^A	4,4±0,5 ^A	4,1	0,60±0,04 ^A	0,75±0,08 ^A
MA	20,0±3,2 ^C	7,8±0,5 ^{B,C}	12,2	0,70±0,00 ^A	1,13±0,01 ^B
MAU	12,6±1,3 ^B	9,0±0,9 ^C	3,6	0,84±0,04 ^B	1,32±0,05 ^C

FDN-BL: fibra detergente neutro de residuos pretratados con α -amilasa de *B. licheniformis*; FDA: fibra detergente ácido; Hemicelulosa*: calculada por diferencia entre FDN-BL y FDA.

Letras minúsculas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los residuos de ahípa; letras mayúsculas, entre los de mandioca.

La determinación de la fracción lignocelulósica (FDA) no requiere tratamiento enzimático previo, ya que las condiciones más drásticas del detergente ácido hacen que el almidón se elimine por solubilización en forma total.

En los residuos de ahípa se observó un leve aumento en el valor de FDN-BL con la aplicación de los tratamientos, así como ocurrió con FDA, lo que indicaría una mayor proporción de lignocelulosa en los residuos (**Tabla 2.7**).

Para los de mandioca, se produjo un aumento significativo ($p < 0,05$) tras el tratamiento en autoclave, y el posterior tratamiento con ultrasonido lo redujo, alcanzando un valor intermedio entre M y MA (**Tabla 2.7**). El mismo comportamiento se observó en el contenido de hemicelulosa. El residuo M presentó una proporción similar entre lignocelulosa y hemicelulosa, mientras que luego del tratamiento en autoclave, ambas fracciones aumentaron, particularmente la segunda. Esto podría deberse a que la exposición a alta temperatura y sobrepresión haya efectuado modificaciones en las estructuras fibrilares (**Figura 2.11**), liberando elementos internos que luego del lavado, se hayan eliminado, generando así un efecto de concentración de las fracciones estudiadas en el presente apartado. El tratamiento con ultrasonido sólo tuvo un efecto de disminución sobre las hemicelulosas (reduciendo así la FDN-BL), lo cual podría ser consecuencia de la cavitación a la que se sometieron las fibras, desprendiendo más fácilmente esta fracción del entramado lignocelulósico. Estos resultados pueden relacionarse con las propiedades de hidratación de los residuos (**Tabla 2.1**), las cuales siguen la misma tendencia.

4.10.2.2. Contenido de proteínas

Como se mencionó en el **Capítulo 1, sección 4.1.2.3**, las raíces de ahípa tienen un relativamente alto contenido de proteínas (7,9 % en base seca) respecto a otras raíces y tubérculos comestibles (Dini et al., 2013). Se trata de proteínas

muy solubles, debido a su bajo peso molecular y al alto contenido de ácido aspártico (Dini et al., 2021).

Las raíces de mandioca presentan un contenido proteico que varía entre 1 y 5 % en base seca, dependiendo del cultivar, con un valor nutricional limitado ya que tienen niveles muy bajos de aminoácidos esenciales como lisina y leucina, así como de aminoácidos esenciales que contienen azufre (metionina y cisteína) (Stupak et al., 2006).

En los residuos de ahípa, el contenido de proteínas luego de las extracciones acuosas (A) (**Tabla 2.7**), fue del 3,77 %. Luego del tratamiento con autoclave el valor disminuyó levemente (3,23 %, residuo AA), y no hubo cambios significativos posteriormente al tratamiento con ultrasonido (AAU), lo que indicaría que la mayor solubilización y consecuente extracción de las proteínas de las raíces de ahípa se da en las extracciones acuosas y, en menor medida, con el tratamiento de autoclave.

Para los residuos de mandioca, los valores fueron bajos desde el comienzo, muy inferiores a los de ahípa, mostrando un leve pero significativo aumento para el residuo MAU (**Tabla 2.7**).

4.10.2.3. Contenido de cenizas

Según Doporto et al., (2011), el contenido total de cenizas en raíces de ahípa peladas es de 2,51 %, con un contenido mayoritario de potasio (0,62%), seguido de fósforo (0,44%), calcio (0,11%), magnesio (0,04%) y sodio (0,02%).

Para raíces de mandioca peladas, las cenizas componen 1,54 % de su peso seco, con un contenido de potasio ligeramente superior (0,68 %) al de raíces de ahípa, pero con contenidos similares o más bajos de los restantes elementos mencionados (0,07% para P; 0,05 de Mg; 0,04 de Ca; y 0,03% de Na) (Bayata, 2019).

El contenido de cenizas en el residuo de ahípa fue similar al reportado para raíces enteras peladas. El tratamiento térmico favoreció la solubilización de minerales del residuo (**Tabla 2.7**), mientras que el posterior tratamiento con ultrasonido no generó modificaciones en el valor. En el caso de mandioca, el residuo de la extracción de almidón presentó valores inferiores a los informados

para la raíz entera, y menores que los del residuo de ahipa. La tendencia con el tratamiento térmico fue inversa, incrementándose levemente el contenido de minerales con el tratamiento térmico, indicando la solubilización preferencial de otros componentes de la matriz.

Conclusión parcial

No hubo un cambio significativo en la composición de la fibra de ahipa con los tratamientos y tampoco se vieron cambios sustanciales en sus propiedades de sorción, por lo que el tratamiento en autoclave serviría para eliminar parte del almidón remanente sin alterar considerablemente las propiedades de la fibra. En mandioca, se observan cambios más notorios tanto en la composición como en las propiedades del bagazo por efecto de los tratamientos. Por este motivo, se continúa caracterizando esta muestra y la incidencia de dichos tratamientos.

4.10.3. Solubilidad del almidón de mandioca en los residuos luego de los tratamientos físicos

Como se observa en la **Figura 2.16**, la muestra M, en la que es mayoritario el almidón fácilmente extraíble, muestra la solubilidad más baja a las tres temperaturas ensayadas. La solubilidad fue inferior al 1% a 25°C y aumentó con la temperatura, permaneciendo casi constante cuando la temperatura subió por encima de la temperatura de gelatinización del almidón nativo (68°C). Estos resultados indican que la interacción con la fibra no cambió sustancialmente la temperatura de gelatinización del almidón en el residuo M. Sin embargo, por encima de la temperatura gelatinización, el porcentaje de almidón solubilizado es considerablemente más bajo que el almidón total extraíble, lo que indica que las cadenas de amilosa lixiviadas no estarían libres en la solución, sino que estarían interactuando con las partículas fibrosas.

El tratamiento en autoclave aumentó la solubilidad del almidón. Este incremento en la solubilidad luego del tratamiento en autoclave fue también informado por Raungrusmee & Anal (2019) para almidón de arroz. Esto fue más notorio a temperaturas más altas, mostrando un incremento pronunciado de 68 a 90°C (**Figura 2.16**). Teniendo en cuenta que el autoclave eliminó la mayor parte del

almidón fácilmente extraíble, este incremento podría estar relacionado con una estructura de fibra más abierta a una temperatura más alta.

El ultrasonido (MAU) disminuyó la solubilidad del almidón a un valor intermedio entre M y MA, mostrando un perfil de dependencia con la temperatura similar a MA.

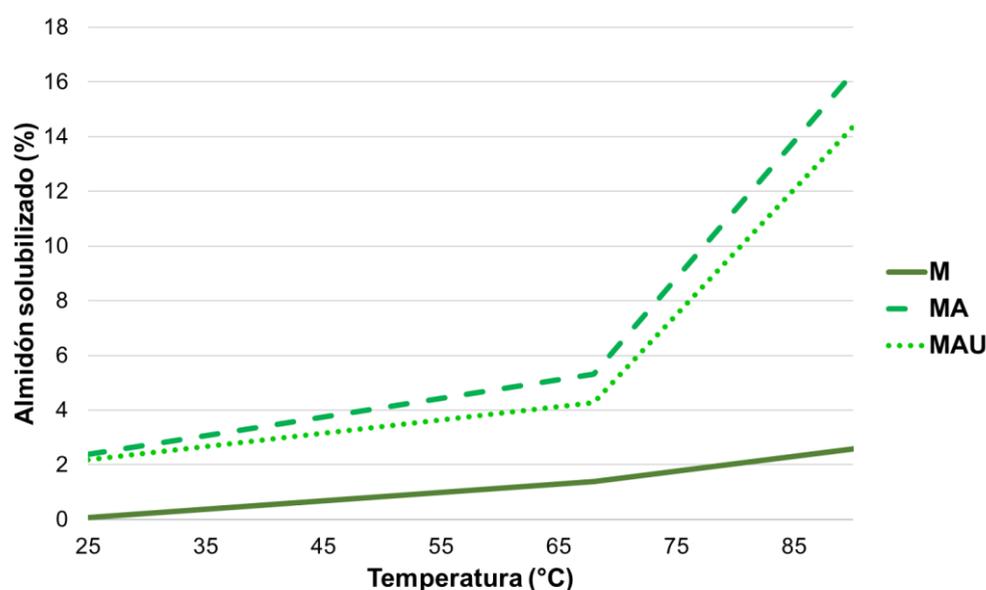


Figura 2.16. Porcentaje de almidón solubilizado respecto al total.

Los puntos de datos de diferentes muestras a cada temperatura resultaron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

4.10.4. Análisis termogravimétrico (TGA) de los residuos de mandioca luego de los tratamientos físicos

El análisis termogravimétrico (**Figura 2.17 A**) reveló una pérdida de agua alrededor de los 100°C y un evento térmico principal entre 250 y 375°C, con una temperatura máxima similar entre las muestras analizadas. La temperatura máxima también fue similar a la de la degradación del almidón de mandioca nativo (**Figura 2.17 B**), pero se puede estar superponiendo al de celulosa, hemicelulosa y lignina en las muestras (Yang et al., 2007).

La tasa máxima de pérdida de masa (altura del pico en la **Figura 2.17 B**) fue significativamente menor para MA y MAU ($p < 0,05$) sin diferencias significativas entre ellas.

Se esperaría que una mayor interacción del almidón con la fibra modifique la estabilidad térmica de la matriz; por lo tanto, estos resultados sugieren que la menor solubilización del almidón en MAU se debe a una red de fibras más cerrada y no a un cambio en la interacción entre la fibra y el almidón.

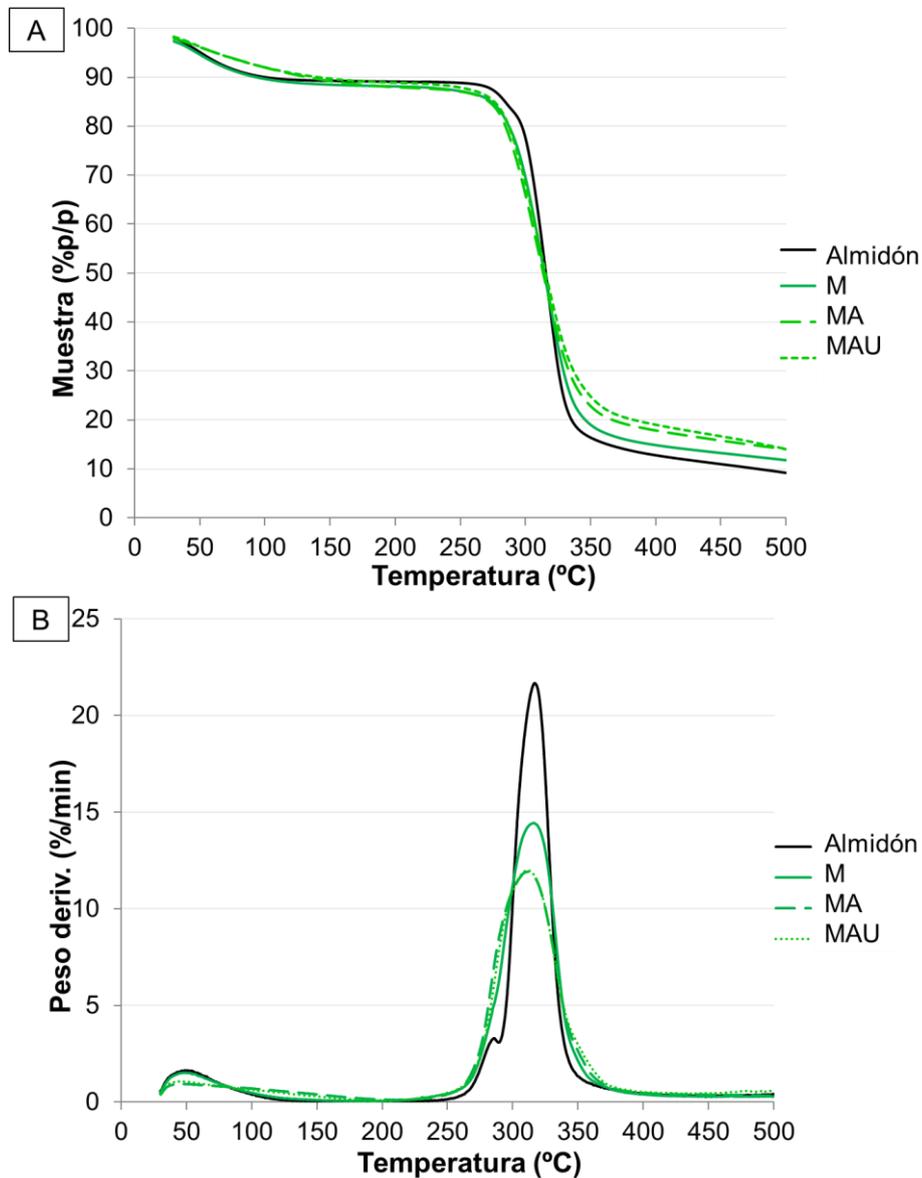


Figura 2.17. A) Curvas termogravimétricas de los residuos fibrosos de mandioca y de su almidón nativo. **B)** Derivada de las curvas termogravimétricas.

5. Conclusiones

Se evaluaron dos tratamientos físicos consecutivos sobre los bagazos provenientes de la extracción de almidón de raíces de ahípa y de mandioca. El primero fue un tratamiento térmico con sobrepresión (en autoclave), y el otro, un tratamiento con punta sonicadora.

Ambos tratamientos, pero principalmente el de autoclave, facilitaron la eliminación de almidón remanente de los residuos. Los mismos generaron además modificaciones en la estructura de los residuos fibrosos, los cuales fueron considerablemente más notorios en los derivados de mandioca. Esto se pudo visualizar en las microscopías electrónicas de barrido (MEB), y relacionarse con el análisis de los espectros FTIR y de difracción de rayos X. Estos cambios, más evidentes en los residuos de mandioca, se vieron reflejados en las propiedades de hidratación (tanto la capacidad de hinchamiento, como la de absorción y retención de agua), aumentando para el residuo tratado térmicamente respecto al bagazo inicial, y presentando un valor intermedio luego del tratamiento con ultrasonido.

Los residuos de ahípa mostraron valores mayores que los de mandioca en las propiedades de hidratación, y en la capacidad de retención de aceite, los cuales no se vieron sustancialmente alterados por los tratamientos físicos aplicados.

Debido a la heterogeneidad y tamaño de los residuos de ahípa, no se lograron obtener suspensiones acuosas capaces de formar geles.

Los residuos M y MAU de mandioca pudieron formar geles por calentamiento de las suspensiones de los residuos en agua (al 4% p/p). En el caso de M, esta propiedad se atribuyó principalmente al alto contenido de almidón remanente (~51 % p/p). El residuo tratado térmicamente, MA, no formó estructuras de tipo gel, sino que tuvo características de una suspensión concentrada. Sin embargo, luego del tratamiento con ultrasonido, el residuo MAU recuperó propiedades gelificantes débiles, menores a las de M, probablemente debido al menor tamaño de partícula y una proporción ligeramente mayor de grupos carboxilo respecto a MA. Este resultado se condice con un cambio en la señal de estiramiento -OH en los espectros FTIR, lo cual indicó un aumento de las interacciones

hidrofóbicas entre partículas fibrosas, que modificaron la capacidad de retener el agua circundante durante la gelificación.

Los tratamientos físicos generaron variaciones en la proporción de hemicelulosa y lignocelulosa de los residuos de mandioca, lo cual se asocia a los cambios observados en su morfología y propiedades de sorción, mientras que en ahipa las modificaciones fueron muy leves.

Estos resultados indican que, para los residuos de ahipa, el tratamiento en autoclave resulta útil en la remoción del almidón remanente y para eliminar la carga microbiana del residuo, pero ni éste ni el ultrasonido generarían modificaciones apreciables en la estructura de la fibra.

En el caso de mandioca, donde los tratamientos de autoclave y ultrasonido produjeron cambios apreciables en la estructura y composición de la fibra, además de remover en gran medida el almidón remanente, se vio que el tratamiento con ultrasonido por sí mismo no generó cambios significativos en las propiedades fisicoquímicas de los bagazos, aunque combinado con un posterior tratamiento en autoclave, alcanzó valores similares a aquellos obtenidos con autoclave y posterior ultrasonido. Aplicar el tratamiento térmico primero tiene la ventaja de remover gran parte del almidón e incrementar la estabilidad microbiológica del residuo inmediatamente, por lo que éste fue el orden seleccionado para continuar con los estudios. Respecto a la solubilización del almidón, se encontró que para el residuo tratado en autoclave, este valor se incrementó considerablemente respecto a M a temperaturas superiores a 68°C (la cual corresponde a la de gelatinización del almidón) y disminuyó levemente luego del tratamiento con ultrasonido.



Capítulo 3.
Propiedades
tecnofuncionales de
residuos fibrosos de
ahípa y mandioca, y de
cáscara de raíces de
ahípa: aplicación en
emulsiones



1. Introducción

Según estadísticas de la FAO (2021), los desechos y residuos de frutas y hortalizas contribuyen en gran medida a la cadena de pérdida y desperdicio de alimentos. Por ejemplo, durante el procesamiento de los tubérculos de papa se generan residuos como la cáscara, pulpa y aguas residuales, estimándose que, por cada tonelada procesada, se producen 0,16 toneladas de residuos sólidos (Singh et al., 2019). Los residuos de cáscara son el subproducto más común de este procesamiento; según el método de pelado, pueden representar del 15% al 40% del peso fresco de las papas (Singh et al., 2023). Estos residuos contienen constituyentes importantes a nivel nutricional, como fibra dietaria, vitaminas, minerales y compuestos fenólicos, que pueden ser extraídos y utilizados en la formulación de alimentos funcionales, entre otros destinos.

La ahípa tiene potencial como fuente de almidón; particularmente se ha planteado como un posible complemento para la producción de almidón de mandioca en las épocas del año en que no se dispone de estas raíces (Díaz et al., 2016). Sin embargo, cabe señalar que, por su piel gruesa y fibrosa y su menor contenido de almidón, el procesamiento de raíces de ahípa podría conllevar una generación de desperdicios mayor que el de mandioca.

Es muy escasa la información que existe sobre la composición química de la cáscara de ahípa, por lo que el estudio de la misma y de sus propiedades tecnofuncionales es importante para poder definir sus posibles aplicaciones en pos de una economía circular y de la disminución de desechos. Conociendo la composición química de residuos de este tipo, se pueden orientar los estudios para definir en qué tipos de sistemas tienen potencial utilidad, de preferencia, alimentarios.

Estudios preliminares del grupo han revelado que la cáscara de ahípa posee considerablemente mayor contenido de proteínas que el tejido interno de las raíces. Como ya se ha indicado anteriormente, las proteínas presentes en ambas fracciones son muy solubles y de punto isoeléctrico bajo (pI 3,6). Asimismo, la cáscara tiene un contenido muy superior de compuestos fenólicos respecto a la pulpa (Dini et al., 2021). Dado que estos compuestos son susceptibles de

ionización, esto plantea la posibilidad de generar suspensiones con diferente carga superficial modificando el pH del medio.

Una aplicación potencial para la revalorización de desechos alimenticios de origen vegetal es la formulación de emulsiones. Las mismas son sistemas en los que dos líquidos inmiscibles (aceite y agua) son mezclados para formar una dispersión homogénea con ayuda de un emulsificante (Sharif et al., 2018). El componente que forma las gotas en una emulsión se denomina fase dispersa o interna, mientras que el que conforma el líquido circundante se nombra como fase continua o externa.

Las emulsiones se pueden clasificar de acuerdo a la distribución de sus fases: en el caso de emulsiones que presentan gotas de aceite dispersas en una fase acuosa, se denominan emulsiones aceite en agua, comúnmente descritas como O/W (**Figura 3.1**); aquéllas en las que gotas de agua se encuentran dispersas en una fase oleosa, se conocen como emulsiones agua en aceite o W/O (McClements, 1999). Ejemplos de emulsiones O/W son la leche, salsas, aderezos y cremas, mientras que sistemas W/O incluyen productos untables, manteca y margarina.

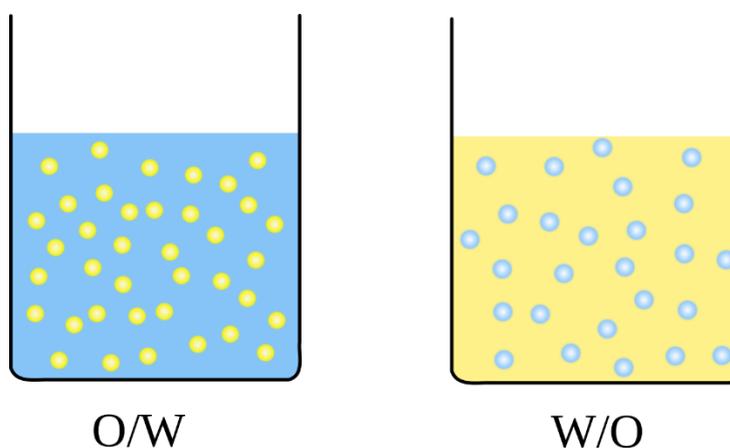


Figura 3.1. Representación gráfica de emulsiones aceite en agua (O/W) y agua en aceite (W/O).

Los emulsificantes suelen presentar una naturaleza anfifílica, es decir, poseen en su estructura tanto grupos hidrofílicos como lipofílicos. Esto les permite reducir la tensión superficial entre los dos líquidos. Estos aditivos pueden ser sustancias solubles en alguna de las dos fases, o estar compuestos por

partículas que pueden ser adsorbidas en la interfaz entre el aceite y el agua tras una humectación parcial por ambas fases (es decir, se requiere humectabilidad dual) (Ortiz et al., 2020). Esta adsorción conduce a una disminución de la alta energía presente en la superficie de la interfaz aceite-agua, creando una capa protectora que ayuda a prevenir el acercamiento y agregación de las gotas de la fase dispersa.

Además de su capacidad para reducir la tensión superficial entre la fase acuosa y la oleosa, las propiedades deseables en los emulsificantes de uso alimentario incluyen:

- Tener estabilidad química y física.
- Ser compatibles con los ingredientes de la formulación.
- Mantener estable el tamaño de partícula durante el almacenamiento del producto.
- No deben ser tóxicos ni irritantes en la concentración utilizada.
- En principio deben ser organolépticamente inertes, es decir, no deben impartir ningún color, olor o sabor a la preparación.
- Deben producir y mantener la viscosidad requerida de la preparación.

En la formulación de emulsiones en la industria alimentaria suelen usarse proteínas como emulsificantes. Las mismas son sensibles al pH y a la fuerza iónica, y en valores cercanos a su punto isoeléctrico (pI) tienden a precipitar, pudiendo generar un agregado de gotas de la fase dispersa. Esto se debe a que la mayor estabilización en este tipo de emulsiones se produce por la repulsión electrostática (Dickinson, 2010; McClements, 2004). Las proteínas mayormente utilizadas en la industria alimentaria derivan de la leche bovina, por ejemplo la caseína y las proteínas del suero; sin embargo, se busca reemplazar el uso de proteínas animales por las provenientes de fuentes vegetales, como las de arvejas, soja y germen de maíz (Ozturk & McClements, 2016).

Otro tipo de macromoléculas utilizadas en la formulación de emulsiones son los polisacáridos, los cuales son considerados estabilizantes. Su hidrofiliidad, estructura altamente ramificada y alto peso molecular, proporcionan una barrera macromolecular contra los mecanismos desestabilizadores al aumentar la viscosidad de la fase acuosa y ralentizar la floculación y coalescencia entre las gotas de la fase dispersa, en emulsiones del tipo O/W (Tamang et al., 2021;

Hosseini et al., 2015). Un ejemplo de este tipo de compuestos es la goma arábica (que se utiliza principalmente en bebidas), la cual es una mezcla compleja de biopolímeros de tres tipos de polisacáridos naturales que difieren en tamaño molecular y contenido de proteínas (Hosseini et al., 2015). Los almidones modificados químicamente, también utilizados en bebidas, pueden sufrir modificaciones como el agregado de grupos hidrofóbicos a su esqueleto carbonado (Nilsson & Bergenståhl, 2006); debido a que son estabilizadas por la repulsión estérica, las emulsiones que contienen este tipo de polisacáridos suelen ser más resistentes a los cambios de temperatura, pH y fuerza iónica (Chanamai y McClements, 2002). Otro tipo de polisacáridos utilizados en emulsiones alimentarias, son las pectinas. Estas estructuras pueden ser incluidas en formulaciones como mayonesas bajas en calorías y/o bajas en colesterol; la estabilidad de estos sistemas se debe a efectos estéricos y/o electrostáticos, donde las partículas se adsorben firmemente en la interfaz aceite/agua a través del anclaje proteico, mientras que las unidades de polisacárido cargadas se extienden hacia la solución acuosa, proporcionando así una barrera estérica contra la coalescencia de las gotas y la floculación (Ngouémazong et al., 2015).

En el estudio de ingredientes a emplear como posibles emulsificantes/estabilizantes, el primer análisis se realiza mediante la formulación de emulsiones gruesas o convencionales, donde el tamaño de las gotas formadas se encuentra entre 10 y 100 μm (Tan & McClements, 2021). Con ellas, se puede estudiar la estabilidad relativa del sistema dependiendo de distintas condiciones tanto químicas como físicas, por ejemplo: cambios de concentración del emulsificante/estabilizante, variación de pH, aplicación de ultrasonido, entre otras. Antes del proceso de emulsificación, el emulsificante/estabilizante se disuelve en la fase acuosa y oleosa, dependiendo de su solubilidad y del tipo de emulsión estudiado (Adheeb Usaid et al., 2014). Para homogeneizar las fases, pueden utilizarse métodos de alta energía, que utilizan fuerzas disruptivas intensas para romper las gotas de la fase dispersa; por ejemplo, tratamientos en equipos como microfluidizadores, sonicadores y homogeneizadores de válvula de alta presión, los cuales se usan habitualmente en la industria alimentaria (McClements & Rao, 2011). Los métodos de baja energía utilizan cambios en el potencial químico de los componentes cuando la

composición o la temperatura es modificada de una manera específica; éstos incluyen emulsificación espontánea, métodos de inversión de fase y mezcla de solventes (Komaiko & McClements, 2016).

El estudio preliminar de las condiciones adecuadas para la formulación de emulsiones gruesas es crucial para determinar el potencial uso de los materiales obtenidos en este Trabajo de Tesis en matrices alimentarias, reduciendo de esta forma los desechos generados por la extracción de almidón de raíces de mandioca y ahípa, revalorizando estos materiales e incentivando la propuesta de una economía circular.

2. *Objetivos*

- Evaluar, desde el punto de vista tecnofuncional, la contribución de los residuos fibrosos de la extracción de almidón de ahípa y mandioca en la estabilización de emulsiones gruesas O/W.
- Realizar una caracterización parcial de la cáscara de raíces de ahípa para ser utilizada en la formulación de emulsiones.
- Estudiar la utilización de la cáscara de ahípa en emulsiones gruesas O/W y determinar las condiciones que mejoran la estabilidad de las mismas.

3. *Materiales y métodos*

3.1. **Material vegetal**

Se estudiaron las propiedades tecnofuncionales de los residuos fibrosos de ahípa y mandioca obtenidos previamente (**Capítulo 2, sección 3.1**) luego de seis extracciones acuosas de almidón (residuos A y M para ahípa y mandioca, respectivamente), con tratamiento físico en autoclave (AA y MA) y posteriormente con ultrasonido (AAU y MAU). Estos residuos fueron caracterizados oportunamente en el **Capítulo 2**.

Dado que para el estudio y caracterización de la cáscara de raíces de ahípa se requirió una mayor cantidad de material, se empleó en este caso una mezcla de cáscaras de raíces de distintas accesiones: IRNAS 9, 11 y 13. Las plantas se cultivaron en la Provincia de Misiones, Departamento Iguazú, Municipio Puerto Esperanza, Lote 63, Paraje Esperanza Centro (Argentina). Las mismas fueron

lavadas y desinfectadas tal como se describió en el **Capítulo 1, sección 3.1**. Las raíces fueron luego peladas, excluyendo así la “cáscara”, parte periférica que comprende mayormente desde el cambium vascular hasta la superficie externa. El cilindro interno (pulpa) se destinó a la extracción de almidón a escala de laboratorio (como se explicó en el **Capítulo 1, sección 3.3**).

Las cáscaras (**Figura 3.2**) fueron secadas a 50°C hasta peso constante y molidas (molino HC-250Y, Damai) ejerciendo 4 pulsos de 30 segundos. Luego, se tamizó por una malla de 0,5 mm obteniendo dos fracciones: la fracción gruesa (FG), correspondiente a la parte retenida en el tamiz, y la fracción fina (FF), que pasó a través de la malla. Se determinó el peso de cáscara obtenida por kg de raíz procesada.



Figura 3.2. Cáscaras de raíces de ahípa previo al secado y molienda.

3.2. Formulación de emulsiones con residuos fibrosos de la extracción de almidón

3.2.1. Preparación de dispersiones

Se prepararon dispersiones acuosas de los residuos fibrosos de ahípa y mandioca obtenidos en el **Capítulo 2, sección 3.1** (residuos de las seis extracciones acuosas, A y M, seguidas de los tratamientos físicos en autoclave, AA y MA, y luego con ultrasonido, AAU y MAU) en concentraciones 4 y 6% p/p, preparadas en buffer citrato de sodio (10 mM, pH 6), que se incubaron a 20°C

durante 72 h. Estas dispersiones fueron luego utilizadas como fase acuosa de las emulsiones correspondientes, como se describe en la sección siguiente.

Con base en los resultados obtenidos en los ensayos planteados en la **sección 3.2.2**, se continuó con el análisis de las emulsiones preparadas con los residuos de mandioca M y MA a partir de dispersiones al 6% p/p. En este caso, se evaluó la disminución de los tamaños de las fibras y modificación de la estructura de las muestras con la aplicación de ultrasonido sobre las dispersiones acuosas de los residuos, preparadas como se indicó previamente. El tratamiento de ultrasonido se realizó luego de la incubación a 20°C durante 72 h de las muestras en buffer; se aplicaron 3 pulsos de 1 minuto al 80 % de amplitud con punta sonicadora (**Capítulo 2, sección 3.1**).

3.2.2. Preparación de emulsiones

3.2.2.1. Homogeneización de las fases acuosa y dispersa

Las emulsiones fueron preparadas a partir de la dispersión correspondiente de los residuos en buffer, como fase acuosa, y el agregado de aceite de girasol (Natura[®], AGD, Argentina) en una proporción 30:70 (O/W). En una primera etapa, las mismas fueron homogeneizadas en Ultraturrax T-25 (IKA-Labortechnik, GmbH & Co., Staufen, Alemania) a 20.000 rpm durante 2 minutos y trasvasadas a probetas para observar cualitativamente su comportamiento en el tiempo (1 y 24 h).

En función de lo observado para las emulsiones obtenidas, se decidió proseguir con el estudio de las emulsiones de los residuos de mandioca, debido a la heterogeneidad de las de ahípa. Asimismo, se eligió la concentración de las dispersiones al 6% p/p ya que preliminarmente resultaron mejores que las preparadas al 4% p/p.

3.2.2.2. Análisis de la estabilidad de las emulsiones por dispersión múltiple de luz

El comportamiento de las emulsiones con suspensiones de fibra al 6% se estudió utilizando un analizador Turbiscan (Formulacion, Francia). Con el software

TurbiSoft (Formulation, Francia), se estudió la retrodispersión o *backscattering* (% BS) de las mismas en el tiempo, distinguiendo las distintas alturas del tubo (desde una zona inferior a partir de los 0 mm, hasta una superior a los 50 mm). La variación en el tiempo de los valores de % BS permite discriminar entre los procesos de migración y el tamaño de las partículas. Entre los fenómenos de migración está la sedimentación, es decir el movimiento de partículas sólidas hacia la zona inferior del tubo; y el cremado, o migración de partículas de aceite a la parte superior del tubo. Por otra parte, la variación del tamaño de las partículas se da por la floculación, que consiste en la formación de agregados de gotas, y la coalescencia, que se produce por la fusión de gotas pequeñas formando gotas más grandes (Cabezas et al., 2012; Ravera et al., 2021) (**Figura 3.3**).

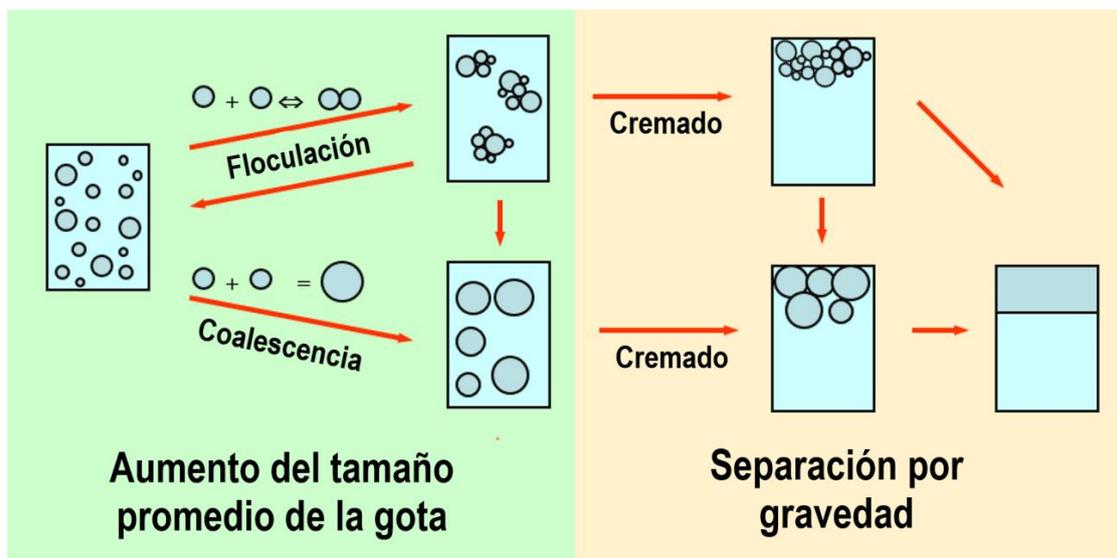


Figura 3.3. Esquema de los principales mecanismos de desestabilización de emulsiones. Imagen adaptada de Ravera et al. (2021).

El cremado es un proceso que se puede revertir a través de la agitación mecánica de la emulsión; tal es el caso de los productos comerciales emulsificados que poseen la leyenda “agitar antes de usar”.

Valores de retrodispersión más altos y constantes en el tiempo indican gotas pequeñas que se mantienen invariables en suspensión, es decir, emulsiones de mejores características y mayor estabilidad.

3.2.2.3. Distribución del tamaño de partículas

Se determinó el tamaño de partículas (gotas en la emulsión) en el rango de 10-1000 μm utilizando un analizador de tamaño de partículas por dispersión dinámica de la luz (DLS, Malvern Mastersizer 2000E, Malvern Instruments, Worcester, Reino Unido) a diferentes tiempos (0, 15, 30 y 60 min). Este análisis permitió obtener el diámetro promedio de las gotas utilizando el diámetro de De Brouckere (D [4,3]) y el tamaño de partícula por debajo del cual se encuentra el 90% de las partículas analizadas (D90).

El diámetro medio de De Brouckere (D [4,3]) es un parámetro ampliamente utilizado en la caracterización de emulsiones debido a que tiene una alta sensibilidad para la detección de partículas grandes, como las presentes en este tipo de sistemas (Zhou et al., 2021). El D90 indica el tamaño de partícula por debajo del cual se encuentra el 90% de las partículas analizadas, es decir, el diámetro máximo que alcanza la mayoría de las gotas, ofreciendo un panorama general de la estabilidad de la emulsión donde, como se mencionó anteriormente, a mayor tamaño de las gotas, menor estabilidad de la emulsión.

3.3. Composición y propiedades emulsificantes de la cáscara de raíces de ahípa

3.3.1. Composición química

3.3.1.1. Contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó gravimétricamente según el método AOAC 925.10 (AOAC, 1990), mediante secado en estufa a 105°C hasta peso constante. Los resultados se expresaron como % p/p.

3.3.1.2. Contenido de proteínas

El contenido de proteínas se determinó por el método de Kjeldahl (AOAC, 1990) digiriendo 1 g de muestra con 35 mL de ácido sulfúrico concentrado en presencia de un catalizador (Se:CuSO₄:K₂SO₄; 1:7:92) hasta su disolución y oxidación

completa. Los pasos de destilación y titulación posteriores se llevaron a cabo tal como se describió en el **Capítulo 1, sección 3.2.3.3**.

A partir de los miliequivalentes de nitrógeno obtenidos se calculó el porcentaje (%) de proteínas de la muestra utilizando dos factores de conversión: por un lado 5,1, que brinda la conversión de nitrógeno a proteínas calculada específicamente para las proteínas de ahípa (Dini et al., 2021); por otro, 6,25 para poder comparar con los valores reportados en otros trabajos científicos.

3.3.1.3. Contenido de cenizas

El contenido de cenizas se determinó siguiendo el método gravimétrico AOAC 923.03 (AOAC, 1990). En cápsulas de porcelana se pesaron 1,5 g de la fracción gruesa (FG) y 2 g de la fracción fina (FF) obtenidas a partir de las cáscaras de ahípa. Dos replicados de cada muestra se incineraron en una mufla a 550°C durante 5 horas. El contenido total de cenizas en base seca se calculó a partir de la diferencia de la masa de cenizas restante respecto a la masa inicial de muestra, corregida por el contenido de humedad.

3.3.1.4. Fracción lipídica

Tal como se explicó en el **Capítulo 1, sección 3.2.3.2**, la extracción de la muestra se realizó en un dispositivo Soxhlet, según el método normalizado AOAC 920.39 (AOAC, 1990). Para ello se pesaron 4 g de FF, por duplicado, en sendos cartuchos de papel de filtro. Se llevaron a cabo 8 ciclos de extracción utilizando hexano como solvente de extracción. Los resultados se expresaron como porcentaje (% p/p) en base seca.

3.3.1.5. Contenido de fibra dietaria total

Se determinó el contenido de fibra dietaria total utilizando el kit enzimático K-TDFR: *Total Dietary Fiber Assay Kit* (Megazyme[®], Irlanda). Los resultados se expresaron como porcentaje (% p/p) en base seca.

3.3.1.6. Cuantificación de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos totales, taninos y no taninos se cuantificaron espectrofotométricamente ($\lambda=760$ nm) por el método de Folin-Ciocalteu, tal como se describió en el **Capítulo 1, sección 3.5.4**.

3.3.2. Medida de color

Se utilizó un colorímetro CR-400 (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japón), calibrado con una placa estándar blanca. Se registraron las coordenadas L^* , a^* y b^* de la escala CIELab y se calculó la diferencia total de color (ΔE) como se describe en el **Capítulo 1, sección 3.6**. Las mediciones se realizaron por quintuplicado.

3.3.3. Observaciones microscópicas

Las dos fracciones obtenidas a partir del tamizado de la cáscara de ahípa (FG y FF) se analizaron mediante microscopía electrónica de barrido (MEB). Para la preparación de las muestras, el material particulado se dispersó sobre cinta adhesiva conductora doble faz de aluminio y el exceso fue retirado empleando flujo de aire comprimido. Las muestras fueron recubiertas con oro en una metalizadora por plasma de Argón y la observación microscópica se realizó a 10 kV en un MEB marca LEO EVO 40-XVP. Estos análisis se realizaron a través de los servicios técnicos especializados del PLAPIQUI (CCT- CONICET Bahía Blanca, Buenos Aires).

3.3.4. Propiedades de sorción: capacidad de hinchamiento, capacidad de absorción y de retención de agua, y capacidad de retención de aceite

Las propiedades de hidratación, correspondientes a la capacidad de hinchamiento (CH), la capacidad de absorción de agua (CAA) y la capacidad de retención de agua (CRA), como así también la capacidad de retención de aceite (CRAc) se determinaron de acuerdo a lo descrito en la **sección 3.3 del Capítulo 1**.

3.3.5. Ángulo de contacto

Considerando una gota de líquido sobre una superficie plana y horizontal (**Figura 3.4**), el ángulo formado por la intersección de la interfaz líquido-vapor y líquido-sólido (integrada geoméricamente trazando una línea tangente desde el punto de contacto junto con la interfaz líquido-vapor de la gota) se llama ángulo de contacto (Hebbar et al., 2017).

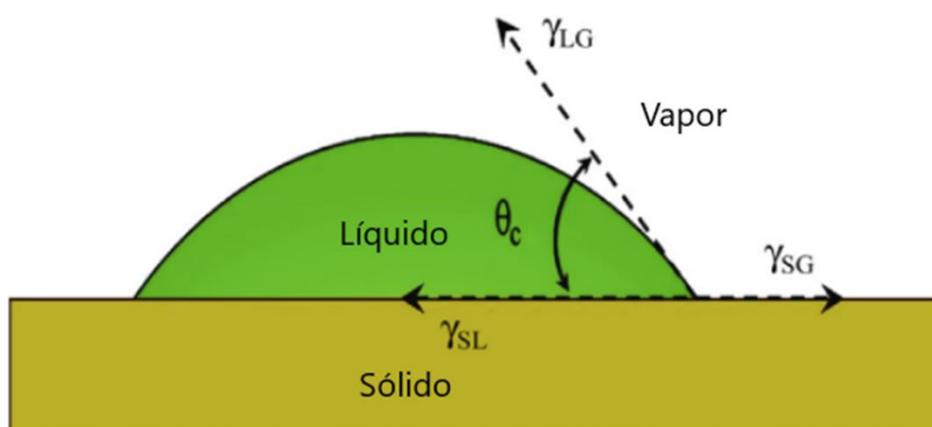


Figura 3.4. Ángulo de contacto (θ_c) formado por el líquido que se extiende sobre la superficie. γ_{LG} , γ_{SG} , y γ_{SL} simbolizan las tensiones interfaciales entre las fases líquido-vapor, sólido-vapor y sólido-líquido, respectivamente.

Adaptada de Hebbar et al. (2017).

Para estudiar la humectabilidad de la fracción fina (FF) de la cáscara de ahípa, se determinó el ángulo de contacto utilizando un goniómetro Modelo 250, Ramé-Hart, Instrument Co. (EE. UU.). La muestra se montó en forma de capa uniforme sobre una cinta adhesiva bifaz adherida a soportes de vidrio de 7,6 cm x 2,5 cm. Para la determinación se dejaron caer, individualmente, gotas de buffer a pH 3, 5 y 7, y de aceite, con una jeringa dispensadora en diferentes regiones de la superficie estudiada y se filmó el proceso con un software de análisis de imágenes (DROPimage Advanced v2.2). Luego, a partir de los videos obtenidos, se tomaron capturas de imagen en el momento en que cada gota de buffer o de aceite entró en contacto con la superficie estudiada, y se calculó el ángulo de contacto utilizando el software ImageJ 1.52a (Java 1.8).

3.3.6. Formulación de emulsiones

3.3.6.1. Preparación de dispersiones

Inicialmente, se prepararon dispersiones acuosas de la fracción fina (FF) de la cáscara de ahípa a concentraciones 6 y 8% p/p en buffers fosfato de sodio (200 mM) a pHs 3 y 7. Se incubaron a 20°C durante 24 h para ser utilizadas luego en las emulsiones correspondientes.

En función de los resultados obtenidos, se procedió a estudiar dispersiones al 8% p/p de la FF de cáscaras de ahípa y se estudió también un valor de pH intermedio, evaluándose así los pHs 3, 5 (buffer citrato de sodio, 200 mM) y 7.

3.3.6.2. Compuestos fenólicos en dispersión acuosa

Debido al alto contenido de compuestos fenólicos presentes en la cáscara de ahípa, se determinó qué fracción de los mismos se transfiere a la fase acuosa durante la preparación de las dispersiones utilizadas en las emulsiones.

Dado que las reacciones del protocolo de Folin-Ciocalteu para determinar compuestos fenólicos totales son sensibles al pH, este ensayo se realizó utilizando una dispersión de 8% de FF en agua destilada que se almacenó a 20°C durante 24 h. Una vez transcurrido ese tiempo, los tubos se centrifugaron a 2000×g durante 10 minutos a 4°C.

A 3 mL del sobrenadante, se le adicionaron 7 mL de acetona para mantener la proporción del solvente de extracción utilizado en la **sección 3.3.1.6** del presente **Capítulo**, donde se determinaron fenólicos totales en la cáscara por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, y se repitió el proceso de centrifugación. Una fracción del sobrenadante obtenido se utilizó para la determinación de compuestos fenólicos totales liberados al sobrenadante, y la otra se trató con polivinilpolipirrolidona (PVPP) para cuantificar los compuestos fenólicos no taninos, tal como se detalló previamente.

3.3.6.3. Preparación de emulsiones

En concordancia con lo descrito para la preparación de emulsiones utilizando los residuos fibrosos de la extracción de almidón, éstas fueron obtenidas a partir de la dispersión correspondiente del polvo de cáscara de ahipa en buffer y el agregado de aceite de girasol (Natura[®], AGD, Argentina) en una proporción 30:70 (O/W). Las emulsiones fueron homogeneizadas en Ultraturrax a 20.000 rpm durante 2 minutos.

3.3.6.4. Análisis de la estabilidad de la emulsión por dispersión múltiple de luz

Como se detalló para las emulsiones formuladas con los residuos fibrosos de la extracción de almidón (**sección 3.2.2.2** del presente **Capítulo**), el comportamiento de las emulsiones preparadas a partir de suspensiones de la fracción fina (FF) de la cáscara de ahipa se estudió utilizando un analizador Turbiscan (Formulation, Francia), contando con el software TurbiSoft (Formulation, Francia). Se realizó un estudio de la cinética de la variación en el tiempo de los valores de retrodispersión (% BS) de las mismas.

3.3.6.5. Distribución del tamaño de partículas

Se determinó el diámetro promedio de las gotas utilizando el diámetro de De Brouckere (D [4,3]) y el tamaño de partícula por debajo del cual se encuentra el 90% de las partículas analizadas (D90), con un analizador de tamaño de partículas DLS Malvern Mastersizer 2000E.

3.3.6.6. Observaciones microscópicas de las emulsiones

Las emulsiones preparadas a partir de la FF de la cáscara de ahipa a diferentes pHs, fueron observadas en un microscopio óptico (**Figura 3.5**) con un aumento de 40×, sin diluir y con una dilución 1:5 en agua destilada, para poder apreciar mejor el tamaño de las gotas.

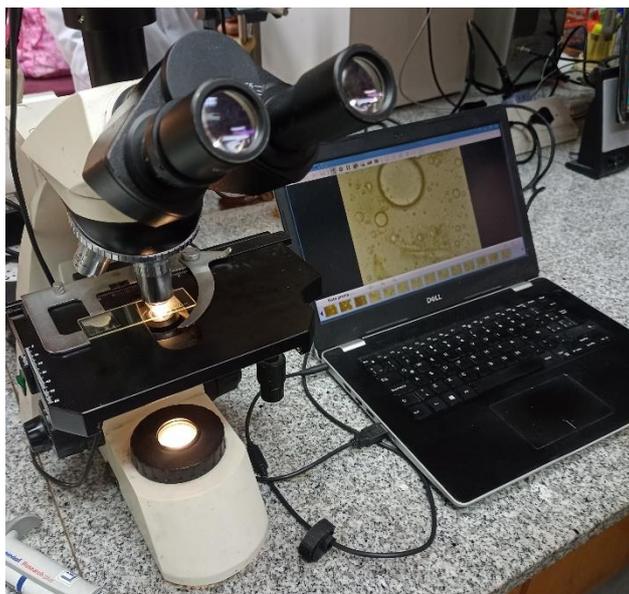


Figura 3.5. Observación de las emulsiones con microscopio óptico.

3.4. Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza seguido de la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher ($p=0,05$). Se utilizó el software InfoStat (Di Rienzo et al., 2012).

4. Resultados y discusión

4.1. Formulación de emulsiones con residuos fibrosos de la extracción de almidón de ahípa y mandioca

4.1.1. Evaluación visual de la estabilidad de las emulsiones

Para el estudio de los residuos como emulsificantes se realizaron emulsiones gruesas, mediante un homogeneizador de alta velocidad Ultraturrax. Como se indicó en la **sección 3.2.1** del presente **Capítulo**, la fase acuosa consistió en una dispersión de los residuos de ahípa y de mandioca en concentraciones de 4 y 6%. Los residuos analizados fueron aquellos que se obtuvieron en forma directa de la extracción del almidón (A y M), estos mismos tratados con autoclave (AA y MA), y tratados con autoclave y luego sonicados (AAU y MAU) (**Capítulo 2, sección 3.1**). La fase oleosa fue aceite de girasol.

La estabilidad de las emulsiones obtenidas en el presente Trabajo de Tesis se evaluó de manera visual, observando la separación de las fases. En la **Figura 3.6** se muestran las emulsiones de cada residuo a las distintas concentraciones, transcurridas 1 y 24 h posteriores a la homogeneización con Ultraturrax.

Las emulsiones preparadas a partir de los residuos de ahípa no presentaron una buena homogeneización de las fases. Esto puede deberse a que estos residuos presentaron partículas de gran tamaño y heterogéneas (**Capítulo 2, sección 4.5**). Esto se verificó tanto para las dispersiones al 4 como al 6 % p/p. Aunque no se alcanza a apreciar en las imágenes, en la emulsión aparecen gotas de aceite observables a simple vista. A su vez, se formaron estructuras semi-gelatinosas o porosas, impidiendo la fluidez necesaria para medir los volúmenes de separación de fases correspondientes para el análisis preliminar de las emulsiones. Por estas razones, se consideró que los residuos fibrosos provenientes de la extracción de almidón de ahípa, con o sin tratamientos físicos, no serían aptos para formular emulsiones, al menos en las condiciones estudiadas.

Los residuos de mandioca pudieron ser homogeneizados correctamente. Para el residuo M, a tiempos cortos ya se evidenció una separación marcada de las fases, independientemente de la concentración del residuo. El residuo tratado en autoclave (MA) al 4%, también tuvo un comportamiento similar a M, aunque no fue tan definida dicha separación. Sin embargo, con una concentración del 6%, al tiempo de 1 h, la emulsión se percibió relativamente homogénea, aunque luego de 24 h apareció una capa superior compuesta mayoritariamente por aceite, es decir, sufrió un proceso de desestabilización por coalescencia. Finalmente, el residuo MAU presentó la mayor estabilidad entre las tres fracciones de mandioca, particularmente en la concentración de 6%.

Dados estos resultados, se eligió la concentración de 6% para continuar el estudio de las emulsiones para los tres residuos de mandioca.

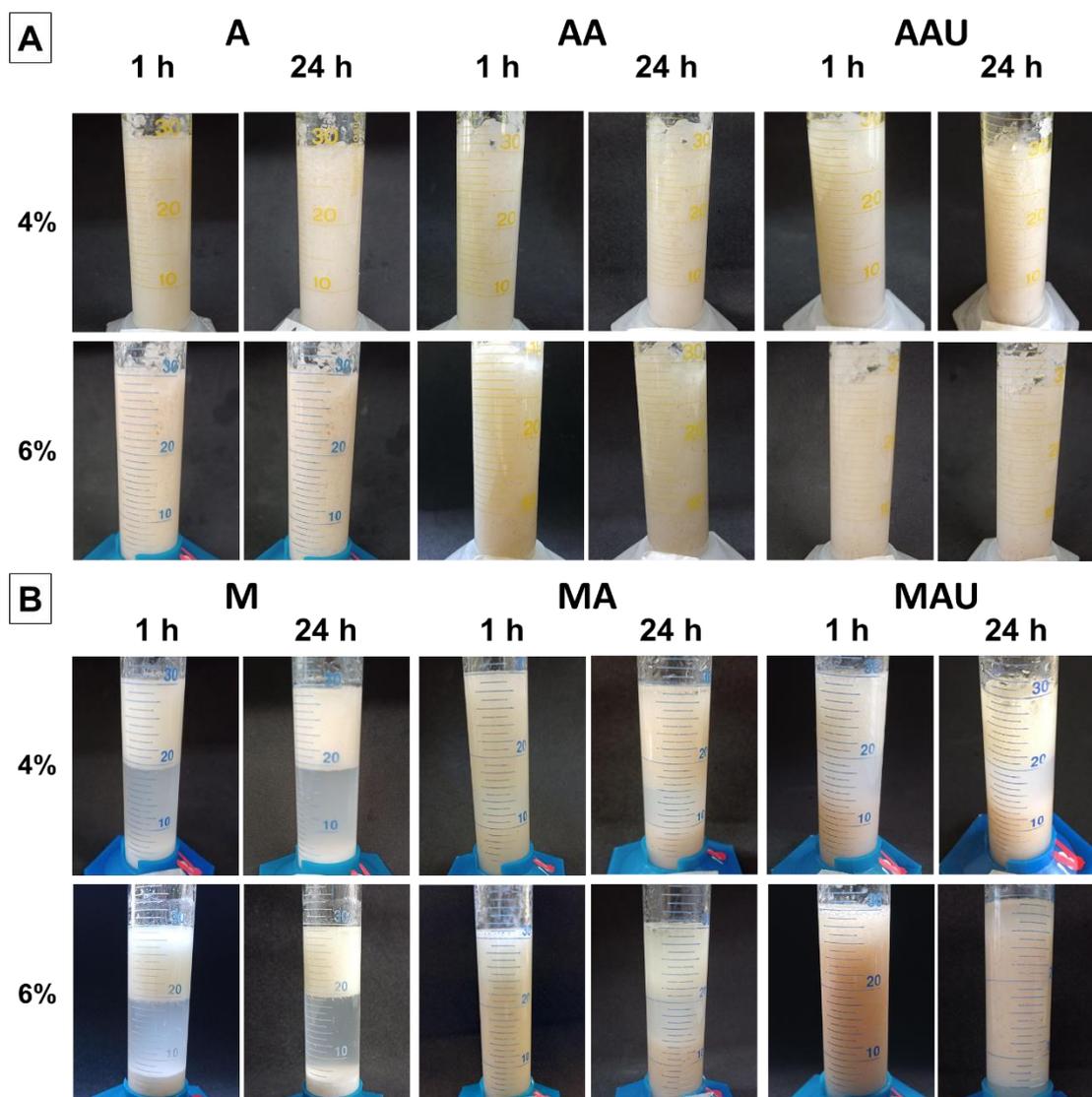


Figura 3.6. Imágenes a diferentes tiempos (1 y 24 h) de emulsiones obtenidas con los residuos fibrosos de la extracción de almidón de **A)** ahípa y **B)** mandioca, sin tratamientos (A y M), o tratados en autoclave (AA y MA) y con ultrasonido (AAU y MAU).

4.1.2. Evaluación de la estabilidad de emulsiones formuladas con residuos de mandioca por análisis en Turbiscan

Se profundizó el estudio de la estabilidad de emulsiones 30/70 (O/W) utilizando como fase acuosa dispersiones al 6% de los residuos M, MA y MAU, que se incubaron a 20°C por 72 h hasta el agregado de aceite para la homogeneización y formación de la emulsión.

Como se mencionó anteriormente, mayores valores de retrodispersión que se mantengan invariables en el tiempo indican emulsiones de mejores características y mayor estabilidad.

Se realizó un análisis del porcentaje de retrodispersión (BS) en los tubos utilizando el Turbiscan a distintos tiempos: 0, 15, 30 y 60 minutos (**Figura 3.7**).

Para las emulsiones del residuo M, en el tiempo inicial ya se observó una separación de fases, evidenciada por la caída en BS a la altura de 15 mm. Esto ocurre debido a que las gotas de aceite que no están estabilizadas por las partículas fibrosas pueden unirse entre sí, formando gotas más grandes (coalescencia) y migrando hacia la parte superior del tubo.

En las emulsiones formadas por los residuos MA y MAU no se observó esa caída marcada en la zona media-baja del tubo a tiempos iniciales, aunque luego de 30 minutos, en MA comenzó a observarse un pico a los 2 o 3 mm que puede relacionarse con la aparición de un sedimento, compuesto por las partículas de fibras que no permanecieron en la interfase aceite/agua. Para MAU ocurre algo similar, aunque se manifestó a partir de los 60 minutos. Puede observarse de todas formas que estas muestras mejoraron significativamente las propiedades emulsificantes de los residuos de mandioca, más allá de todavía presentar una tendencia a la desestabilización por coalescencia, evidenciada por una reducción del BS de la emulsión a lo largo del tubo.

El estudio del tamaño de partícula asociado a las gotas de la fase dispersa (que en emulsiones O/W corresponde al aceite), es importante debido al efecto que tiene sobre la separación gravitacional de las emulsiones. Cuanto mayor sea el tamaño, mayor será la velocidad de cremado o sedimentación (Niu et al., 2023). Es por ello que un buen emulsificante debería promover la formación de gotas pequeñas.

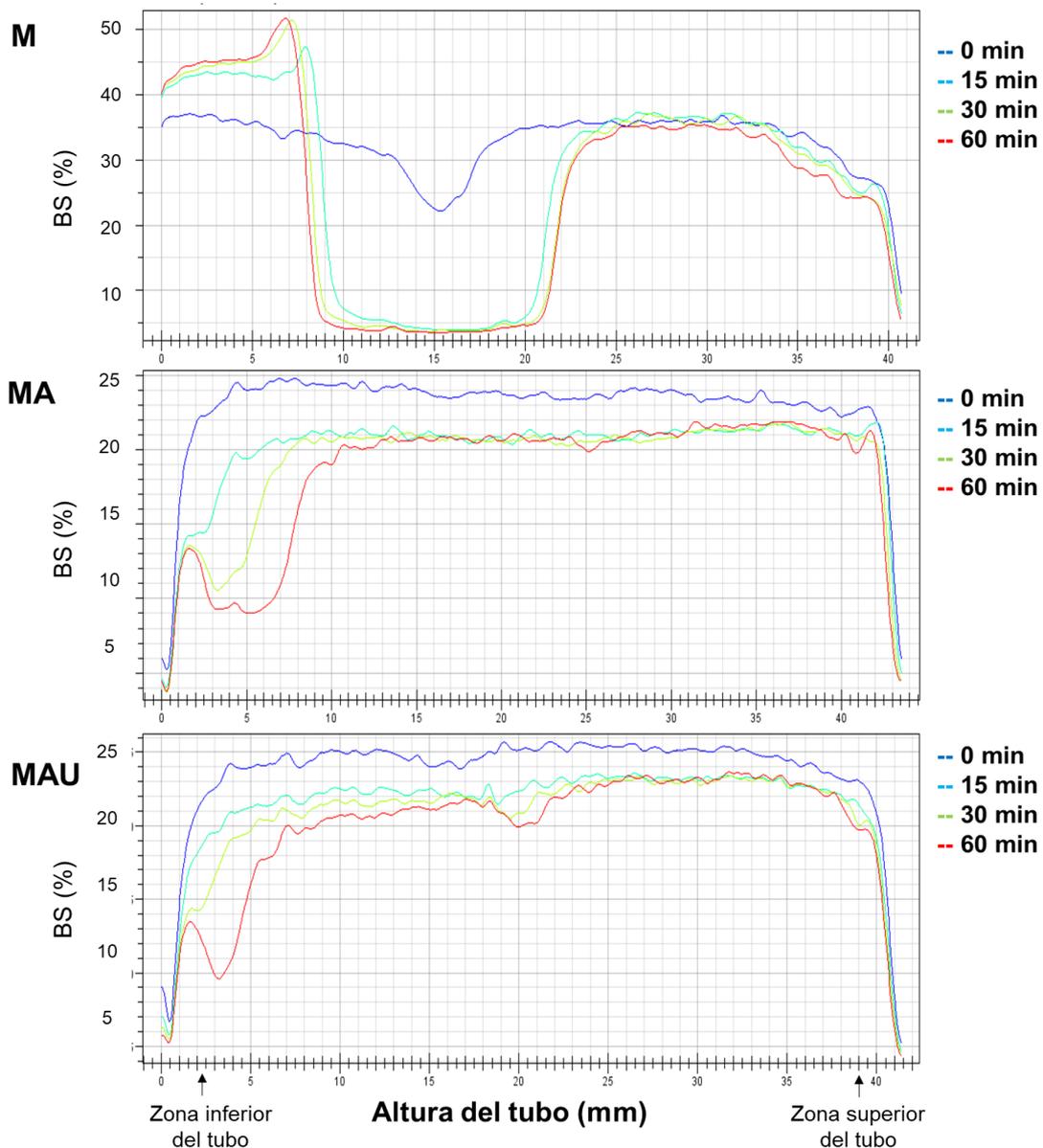


Figura 3.7. Representación de la estabilidad de las emulsiones según la retrodispersión (BS) en el tiempo a lo largo del tubo.

Sobre las mismas emulsiones mencionadas previamente, se estudió la distribución del tamaño de partícula, el $D[4,3]$ y el D_{90} . Se observó que, para M, el $D[4,3]$ fue mayor que para MA y MAU, tanto a tiempo 0 como luego de transcurridos 60 minutos (**Figura 3.8**). Las muestras MA y MAU presentaron un valor superior de $D[4,3]$ luego de una hora de almacenamiento, contrariamente al descenso observado en M. Se puede apreciar que para las tres muestras (en ambos tiempos) se marcan dos grandes poblaciones de tamaños: para M, tienen sus picos en 17 y 363 μm , mientras que tanto MA como MAU presentan

poblaciones marcadas con máximos a 26 y 275 μm , siendo la distribución muy similar entre estos últimos.

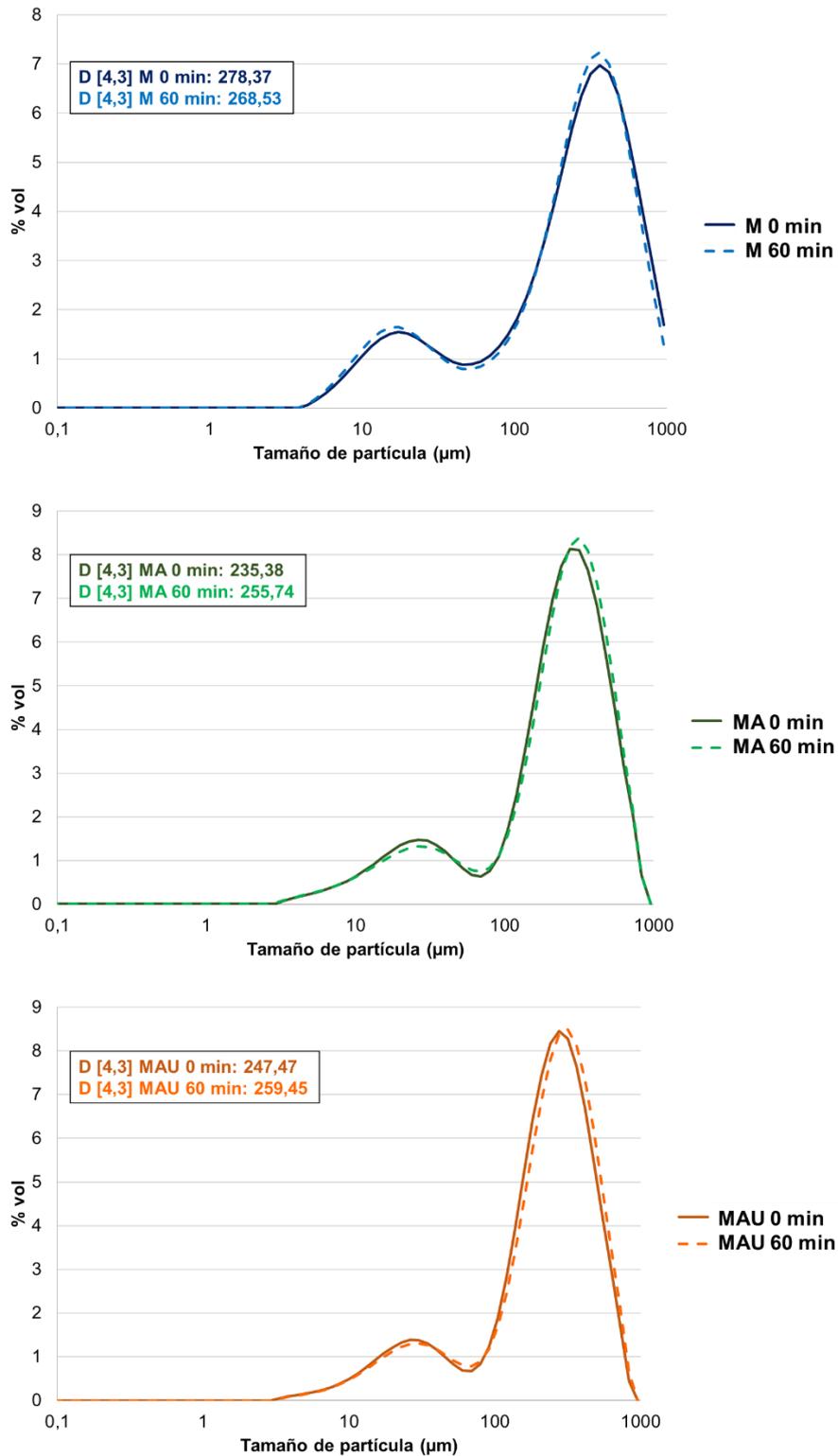


Figura 3.8. Caracterización del tamaño de partícula de las emulsiones O/W (30/70) 6 %p/p de los residuos de mandioca. Distribución del tamaño de partícula y diámetro de las gotas (D [4,3]) a los tiempos 0 y 60 minutos.

Al estudiar el D_{90} , el valor para M disminuyó levemente luego de una hora de homogeneizado, lo cual puede estar asociado a un proceso de coalescencia que genera partículas por fuera del rango de medida del equipo ($< 1000 \mu\text{m}$). Para la emulsión MA, este parámetro aumentó luego de 60 min, lo que sí se asocia a un incremento en el tamaño de las gotas de aceite y una pequeña desestabilización de la emulsión, mientras que MAU no tuvo un cambio significativo en el tiempo (Figura 3.9).

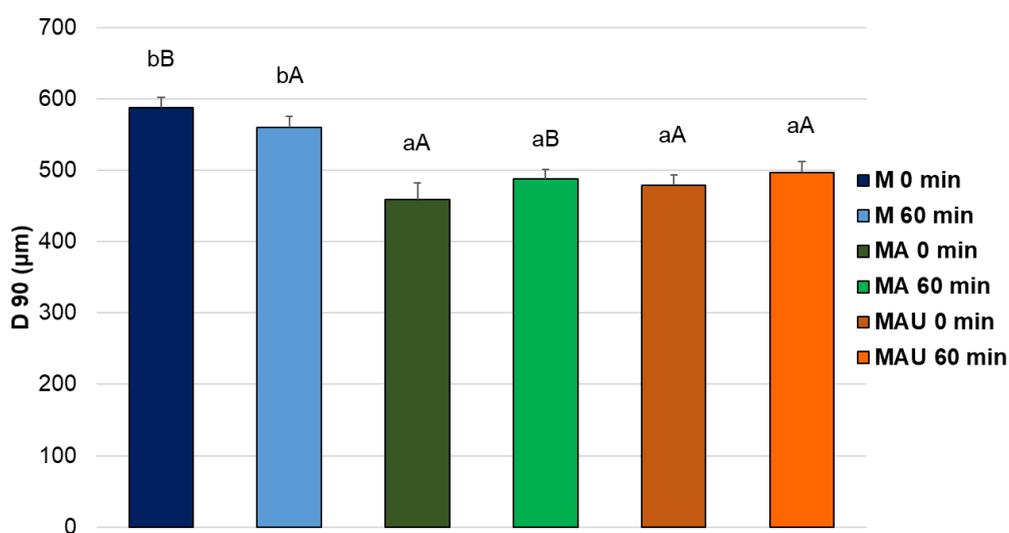


Figura 3.9. Caracterización del tamaño de partícula de las emulsiones O/W (30/70) 6 %p/p de los residuos de mandioca. Diámetro de gota correspondiente al 90% del volumen de las gotas en la emulsión (D_{90}).

Las letras en minúscula indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre distintas muestras a igual tiempo; letras mayúsculas, en la misma muestra a distintos tiempos.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, podría inferirse una mayor estabilidad en las emulsiones MA y MAU, respecto a M, aunque todas presentaron separación de fases en menor o mayor medida. Particularmente, la muestra MAU pudo mantener una mínima estabilidad en el tiempo, lo que indicaría un efecto positivo del tratamiento con ultrasonido. Por este motivo se evaluó el efecto de aplicar ultrasonido directamente sobre la suspensión de los residuos en buffer en la estabilidad de las emulsiones.

4.1.3. Efecto del sonicado de las suspensiones de residuos de mandioca sobre la estabilidad de las emulsiones

Las tensiones de corte ejercidas en un proceso de sonicación son lo suficientemente grandes como para alterar la conformación molecular de los polisacáridos y/o alterar las estructuras entrelazadas (Porfiri et al., 2017). Estos tratamientos físicos no sólo pueden modificar el tamaño de las partículas y la superficie de estos polímeros sino también mejorar sus propiedades funcionales. Dado que la aplicación de ultrasonido al residuo tratado en autoclave (MAU) presentó una mejora en las propiedades emulsificantes respecto al residuo sin tratar y tratado con autoclave (M y MA), se estudió la aplicación de ultrasonido a estos últimos directamente sobre las dispersiones acuosas que se iban a utilizar para formular la emulsión correspondiente. Se aclara que las suspensiones de M y MA se sonicaron en las mismas condiciones que se habían utilizado para obtener el residuo MAU. Para diferenciarlas del análisis anterior, a partir de esta instancia, las muestras sonicadas se denominarán M_{sonic} y MA_{sonic} .

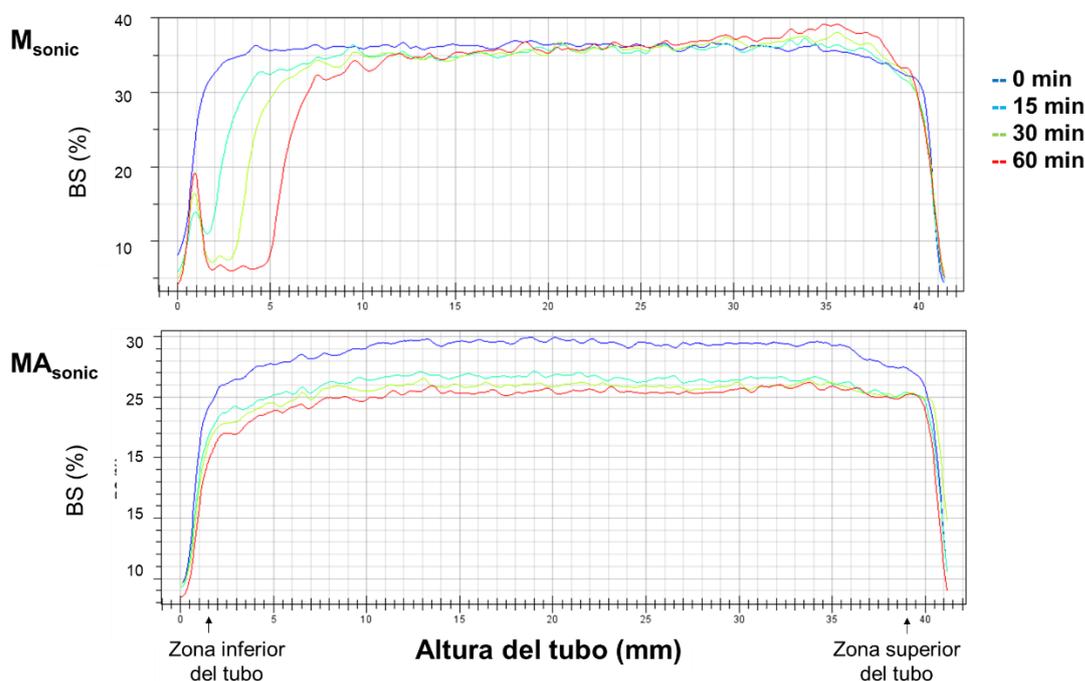


Figura 3.10. Estabilidad de las emulsiones según la retrodispersión (% BS) a lo largo del tubo, a distintos tiempos.

La emulsión obtenida con la suspensión de M_{sonic} presentó una mejora en las propiedades emulsificantes, respecto a la muestra donde no se realizó una sonicación en la dispersión (**Figuras 3.7 y 3.10**). En esta muestra se observó un aumento en los valores de BS inicial respecto a los barridos de retrodispersión analizados previamente, lo cual podría indicar la presencia de gotas o partículas (flóculos) de menor tamaño.

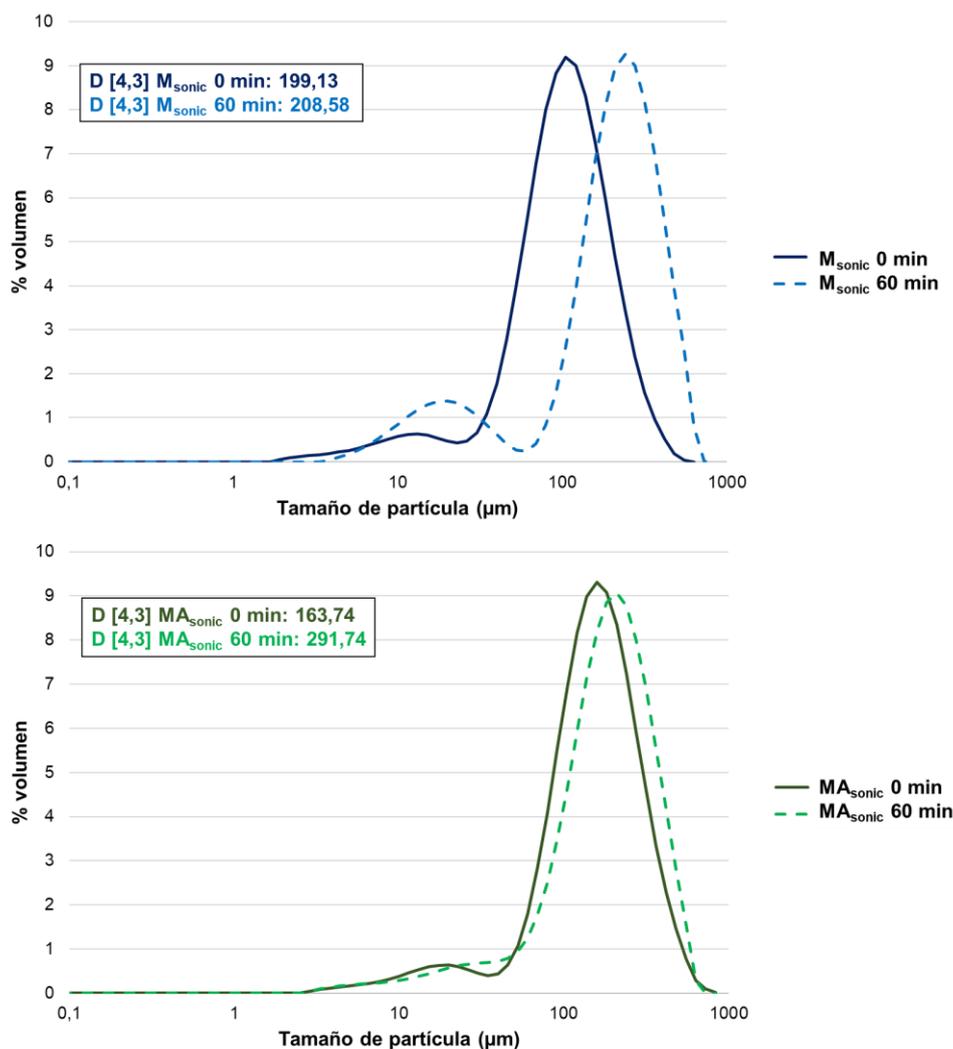


Figura 3.11. Caracterización del tamaño de partícula de las emulsiones O/W (30/70) 6 %p/p de los residuos de mandioca. Distribución del tamaño de partícula y diámetro de las gotas (D [4,3]) de los residuos M_{sonic} y MA_{sonic} .

A diferencia de lo determinado en la suspensión sin sonicar (**Figura 3.7**), para M_{sonic} no se observó separación de fases, aunque luego de 60 minutos presentó un aumento de BS en la zona inferior del tubo, indicando la presencia de

estructuras que sedimentan (**Figura 3.10**). Para el residuo MA, luego del proceso de sonicación en dispersión (MA_{sonic}), se observó una disminución del contenido de material que sedimenta. Sin embargo, se observa que dicha muestra sonicada mantiene un valor de BS inicial bajo respecto a la muestra analizada previamente, junto con la tendencia a coalescer que se observó cuando no se realizó una sonicación sobre la dispersión (**Figura 3.7**).

El tamaño de partícula de ambas muestras (**Figura 3.11**) disminuyó en comparación al de las emulsiones de las dispersiones no sonicadas (**Figura 3.8**), siguiendo la misma tendencia observada para estas últimas, con MA_{sonic} presentando un menor diámetro de gota (D_{90}) de la fase dispersa que M_{sonic} (**Figura 3.12**).

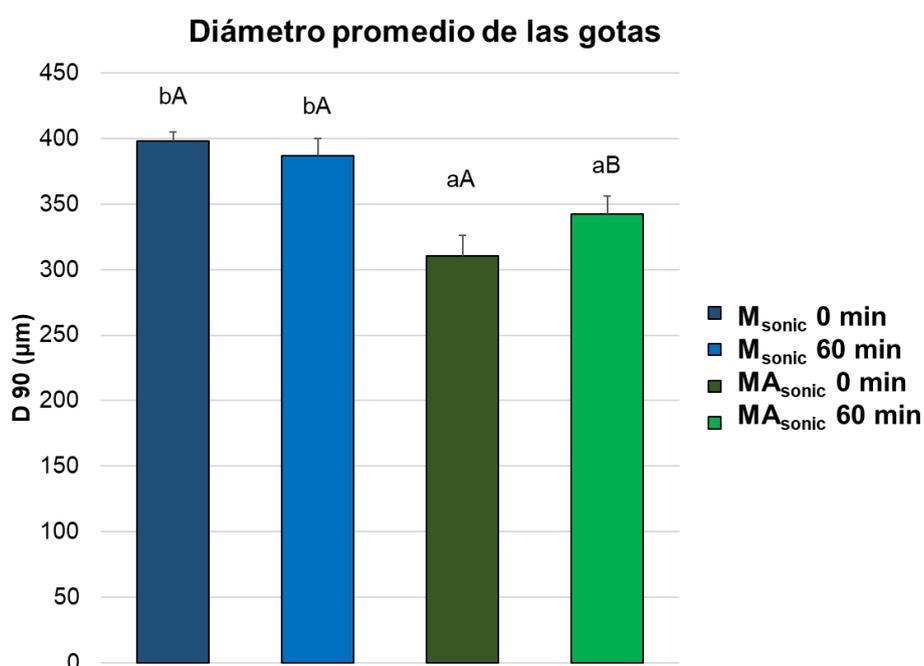


Figura 3.12. Caracterización del tamaño de partícula de las emulsiones O/W (30/70) 6 %p/p de los residuos de mandioca. Diámetro de gota correspondiente al 90% del volumen de las gotas en la emulsión (D_{90}).

Las letras en minúscula indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre distintas muestras a igual tiempo; letras mayúsculas, en la misma muestra a distintos tiempos.

Con el análisis en conjunto del BS y la caracterización del tamaño de partícula, se pudo observar que M_{sonic} presentó un reordenamiento de estructuras, ya que luego de 60 minutos apareció una población con un pico máximo de 20 µm, y la

mayor población se desplazó de 120 a 275 μm (**Figura 3.11**); además M_{sonic} mostró menos coalescencia que MA_{sonic} (**Figura 3.10**). MA_{sonic} no presentó cambios en la distribución del tamaño de partícula con el transcurso del tiempo (población mayor con picos máximos de 210 y 240 μm a tiempo 0 y 60 minutos, respectivamente).

Las diferencias entre las muestras sin sonicar y sonicadas, podrían explicarse teniendo en cuenta que el ultrasonido disrumpe las estructuras formadas, resultando en un menor tamaño de las partículas fibrosas, facilitando así su interacción en la interfase aceite/agua de las gotas presentes en la emulsión.

Sin embargo, aunque se noten valores más favorables para la emulsificación, continúan siendo emulsiones con tamaños de gota superiores a lo esperado en una matriz de este tipo.

Aplicar más tratamientos para mejorar la utilidad de estos residuos como emulsificantes implica reducir la factibilidad de su aplicación, aumentando el costo del producto final y generando un mayor impacto ambiental. Es por esto que, en principio, no se consideró viable continuar aplicando tratamientos a estas muestras para mejorar su capacidad emulsificante.

Dada la mayor presencia de compuestos ionizables (proteínas y compuestos fenólicos) en la cáscara de ahípa, lo que podría permitir regular la carga modificando el pH del medio, dar mayor estabilidad a las suspensiones de fibra y presentar mejor capacidad emulsificante, se evaluó el uso de la cáscara molida de raíces de ahípa con este fin.

4.2. Composición y propiedades emulsificantes de la cáscara de la raíz de ahípa

4.2.1. Rendimiento, color y morfología de las cáscaras de ahípa molidas

A partir de las raíces de ahípa, se obtuvieron entre 150 y 160 g de cáscara fresca por kg de raíces frescas, es decir, alrededor del 15% del peso fresco de la raíz. Una vez separadas las cáscaras de las raíces, se procedió al secado a 50°C, molienda y tamizado de las mismas. La fracción gruesa (FG), compuesta por fibras alargadas, heterogéneas en longitud y espesor, y resistentes, correspondió al 7,2% de la masa total de cáscara de ahípa obtenida y la fracción

fina (FF), con una apariencia de polvo más bien homogéneo, y de baja fluidez, constituyó el 92,8% restante (**Figura 3.13**).

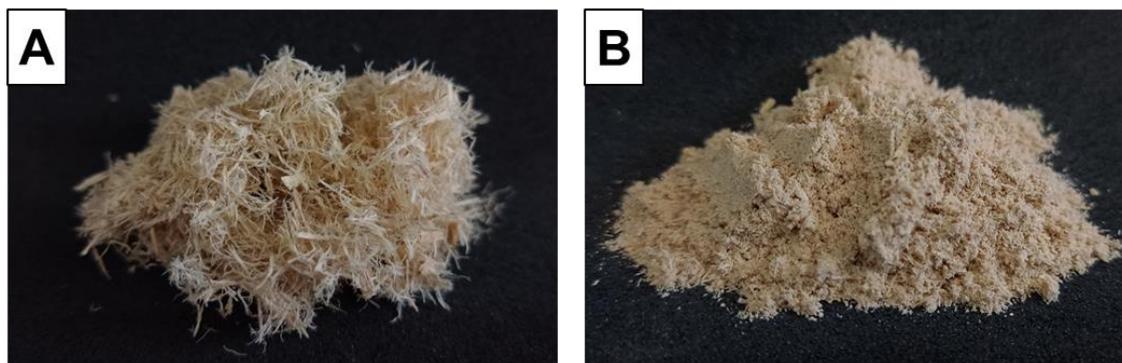


Figura 3.13. Fotografías de las fracciones **A**) gruesa (FG) y **B**) fina (FF) de la cáscara de ahípa.

La FG presentó un color ligeramente amarronado (**Figura 3.13**), significativamente ($p < 0,05$) más claro que la FF. La diferencia de color respecto al blanco puro (ΔE) fue de $29,74 \pm 0,36$ para FG y de $33,05 \pm 1,42$ para FF. Como se mencionó antes, en general es deseable que los emulsificantes no impartan color a los productos, para preservar el color original de la emulsión. Esto debería tenerse en cuenta a la hora de utilizar este tipo de polvos como emulsificantes ya que pueden modificar la tonalidad del producto y hacerlo menos atractivo al consumidor.

La **Figura 3.14** muestra las fracciones gruesa y fina a distintos aumentos en un microscopio electrónico de barrido (MEB). Puede verse que en FG los aglomerados de fibras son alargadas y ramificadas, presentando distintos diámetros. En FF hay más variabilidad de formas, observándose conjuntos alargados (de menor longitud que en FG) y otros redondeados o con formas irregulares, y de diversos tamaños. Como se mencionó en el **Capítulo 1, sección 4.1.1** lo que llamamos “cáscara” abarca desde el súber hasta el floema, lo que implica diversidad de componentes celulares. Sin embargo, los elementos más fácilmente identificables en las imágenes corresponden a las fibras que constituyen los elementos de sostén de los tejidos.

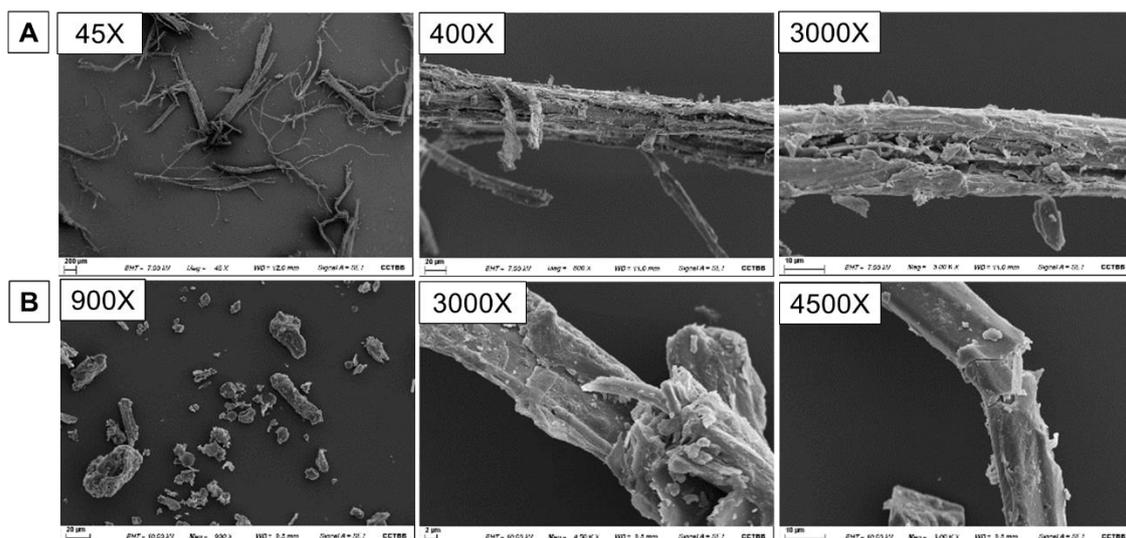


Figura 3.14. Micrografías obtenidas por MEB de las fracciones **A)** gruesa (FG) y **B)** fina (FF). Los aumentos utilizados se detallan en cada imagen.

4.2.2. Composición química de las fracciones de cáscara de ahípa molida

4.2.2.1. Composición proximal

Como se muestra en la **Tabla 3.1**, el contenido de humedad en la fracción fina fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que en la gruesa. La humedad de ambas fracciones se encuentra en el rango obtenido por Grace Adebisi et al. (2022) para cáscaras de mandioca secadas al sol (9,48%), así como de batatas secadas de la misma manera (11,50%) (Agubosi et al., 2021).

El contenido de proteínas en la fracción fina fue superior al de la gruesa, obteniéndose valores de 12,2 y 10,5%, respectivamente (**Tabla 3.1**). Ambos porcentajes superan al reportado por Grace Adebisi et al. (2022) (3,66%) para cáscara de mandioca y al encontrado en cáscaras de batata, con un contenido de 6,54 y 7,94%, para dos variedades de la misma (Salawu et al., 2015).

Como se mencionó en el **Capítulo 2, sección 4.3.2**, el alto contenido de ácido aspártico de las proteínas de ahípa ocasiona un punto isoeléctrico bajo (pI 3,64) en comparación con otras proteínas de origen alimenticio, cuyo pI se encuentra mayoritariamente entre pH 4 y 7 (Novák & Havlíček, 2016). Esta característica, asociada a la solubilidad, es deseable en alimentos, mayormente en aquellas proteínas destinadas a actuar como emulsificantes.

Tabla 3.1. Caracterización química de la fracción gruesa (FG) y fina (FF) de la cáscara de ahipa.

Muestra	Humedad (%)	Proteínas (% b.s.) f=5,1	Proteínas (% b.s.) f=6,25	Cenizas (% b.s.)	Fracción lipídica (%b.s.)	FDT (% b.s.)	FTE (mg EAG/100g)	Taninos (% de FTE)
FG	8,71±0,40 ^a	8,59±0,17 ^a	10,53±0,21 ^a	4,59±0,09 ^a	ND	78,3±0,0 ^b	360,7±41,6 ^a	54,1
FF	12,02±0,04 ^b	9,93±0,29 ^b	12,17±0,36 ^b	6,77±0,02 ^b	1,07±0,01	49,1±0,5 ^a	520,6±35,9 ^a	50,4

FDT: fibra dietaria total; FTE: fenólicos totales extraíbles; EAG: equivalentes de ácido gálico; b.s.: base seca.

ND: no determinado.

Letras diferentes dentro de una columna indican diferencias estadísticamente significativas (p<0.05).

Un ingrediente con propiedades emulsificantes efectivas debe tener en su estructura grupos hidrofóbicos e hidrofílicos (naturaleza anfifílica) para reducir la tensión superficial entre los dos líquidos inmiscibles (Sharif et al., 2018). La estabilidad de la emulsión describe su capacidad para mantenerse en un estado termodinámicamente inestable, sin que se produzca la separación en capas de aceite y agua, estado termodinámicamente más estable (Karaca, Low & Nickerson, 2009). Durante la formación de la emulsión, las proteínas individuales o sus agregados se adsorben en la superficie de las gotas de aceite recién formadas como una capa densamente empaquetada. Luego, las proteínas actúan para disminuir la tensión interfacial y prevenir la coalescencia formando una barrera física en la interfaz aceite-agua (Jiang, Chen & Xiong, 2009).

En el caso particular de las Leguminosas, familia a la que pertenece la ahípa, sus proteínas han demostrado ser emulsionantes eficaces para emulsiones de aceite en agua (O/W) ya que, como se mencionó, reducen la tensión interfacial entre ambos líquidos (Joshi et al., 2012). Además, pueden mantener la capacidad emulsionante, y también espumante, aún en rangos de pH extremos (2,0 y 10,0). Las proteínas mayoritarias en las Leguminosas son las globulares, las cuales son extraíbles con agua y tienen un gran contenido de los ácidos aspártico y glutámico (Venkidasamy et al., 2019; Keskin et al., 2022). Si bien las proteínas de ahípa se diferencian de las típicas proteínas de Leguminosas por ser pequeñas y sin estructuras terciarias definidas (Dini et al., 2021), comparten con éstas el carácter ácido.

Respecto al contenido de lípidos, la fracción fina presentó un valor bajo, acorde a lo esperado para la mayoría de las raíces y tubérculos (Oke, Redhead & Hussain, 1990), de $1,07 \pm 0,01$ %. Este valor, correspondiente a un conjunto de cáscaras de raíces de varias accesiones, resulta estadísticamente igual ($p > 0,05$) que el determinado para la cáscara de la accesión IRNAS 9 ($1,11 \pm 0,09$ %), y mayor ($p < 0,05$) que el de la harina proveniente del cilindro central de la misma ($0,36 \pm 0,0$ %) (**Capítulo 1, sección 4.1.2.2**). Un bajo contenido lipídico es importante ya que se previene la rancidez debida a la oxidación de ácidos grasos durante el almacenamiento de estos productos (Buckman et al., 2018).

En cuanto al contenido de cenizas, resultó superior en la FF (**Tabla 3.1**), indicando una mayor proporción de minerales en esta fracción, y presentando

valores similares a los encontrados en residuos de cáscara de papa y de batata: 5,46 y 5,82 %, respectivamente (Amado et al., 2014, Agubosi et al., 2021).

En la **Figura 3.15** se muestran fotografías de las cenizas de ambas fracciones, las cuales presentaron un color rosado. Según lo explicado por Behak (2017) para la cáscara de arroz, el color de las cenizas se ve afectado por el tipo de combustión llevada a cabo y por el cambio estructural de algunos componentes en las cenizas. Éstas pueden clasificarse en tres grupos: el primero, cenizas con alto contenido de carbono (negras); el segundo, con bajo contenido de carbono (grises); y finalmente, libres de carbono (blancas o rosadas).

Cabe destacar que en ensayos previos en el grupo ya se había observado que, tanto las raíces enteras como el almidón de ahípa, presentaron también cenizas rosadas luego de la combustión en mufla.



Figura 3.15. Cenizas de la fracción fina (izquierda) y gruesa (derecha) de la cáscara de ahípa.

4.2.2.2. Contenido de fibra dietaria total (FDT) y compuestos fenólicos

La fracción gruesa de la cáscara presentó mayor contenido de fibra dietaria total (78,3%) que la fracción fina (49,1%) (**Tabla 3.1**). En estudios previos del grupo, Doporto (2014) encontró que las raíces enteras de ahípa contenían entre 20,8 y 25,9 % de FDT, similar a lo reportado por González-Vázquez et al. (2022) para raíces de jícama (*Pachyrhizus erosus*) peladas (18,2 - 19,4%). La diferencia con lo obtenido en las cáscaras se explica, entre otras cosas, por el alto contenido de almidón (44,0 - 65,0%) que proviene del cilindro central, disminuyendo así la proporción relativa de fibra dietaria.

Teniendo en cuenta la proporción de FG y FF en la cáscara, se estimaría un valor de fibra dietaria total de 51,2 % para la cáscara de ahípa, inferior al 73% de la piel de papa reportado por Hussain, Jöudu & Bhat (2020).

En relación a los compuestos fenólicos, se observaron valores mayores en la fracción fina (520,6 mg de equivalentes de ácido gálico, EAG, cada 100 gramos de muestra) que en la fracción gruesa (360,7 mg EAG/ 100 g) aunque, debido a la heterogeneidad de la fracción gruesa, estas diferencias no resultaron significativas ($p > 0,05$). Sin embargo, estos valores pueden estar relacionados con la mayor diferencia total de color (ΔE) observada para la fracción fina.

Ambas fracciones presentaron una proporción de taninos similar, del 54,1 y 50,4 % del total de compuestos fenólicos, para la FG y la FF, respectivamente (**Tabla 3.1**). Dini et al. (2020) encontraron que para cáscaras de ahípa de la accesión IRNAS 9, los compuestos fenólicos resultaron muy superiores a los del cilindro central (325 y 14,4 mg EAG/ 100 g, respectivamente). Se debe tener en cuenta que las fracciones fina y gruesa del presente **Capítulo** fueron obtenidas de la mezcla de cáscaras de las accesiones IRNAS 9, 11 y 13, y las accesiones 11 y 13 no han sido estudiadas individualmente, lo que puede estar relacionado con la diferencia de valores respecto a la accesión 9.

Las raíces y tubérculos pueden representar fuentes ricas en compuestos fenólicos, y en muchos casos se observa un enriquecimiento en estos compuestos en la piel respecto al tejido interno. Las papas, por ejemplo, tienen un alto contenido de compuestos fenólicos totales respecto a otros vegetales, con valores hasta diez veces mayores en las cáscaras que en la pulpa (Salem et al., 2023). Dependiendo de la variedad, el contenido de compuestos fenólicos en cáscaras de papa puede oscilar entre 126-394 mg EAG/100 g (Singh et al., 2020).

4.2.3. Propiedades de sorción

En la **Tabla 3.2** se detallan los valores obtenidos para la capacidad de hinchamiento (CH) y las propiedades de sorción tanto de agua como de aceite de las fracciones gruesa y fina de la cáscara de ahípa.

La capacidad de hinchamiento está relacionada con el potencial de la fibra como voluminizador y agente de retención de agua. La FG presentó una CH de más del doble que la FF, lo que podría deberse a una retención física del agua dentro de la matriz fibrosa por el reordenamiento de las fibras alargadas. Estos conjuntos de fibras presentan canales que pueden incorporar líquidos por capilaridad, lo que podría explicar la diferencia observada entre las muestras. A diferencia de las fibras solubles, en las que el agua se mantiene dentro de la matriz de los polisacáridos incapaz de fluir, y el sistema tiene las propiedades semisólidas características de un gel, en las fibras insolubles, el agua queda atrapada en los espacios intersticiales (Cho, 2001).

El valor para la fracción fina de la cáscara fue similar al encontrado para los residuos fibrosos obtenidos de la extracción de almidón del cilindro central, con y sin tratamientos (A, AA y AAU) (**Capítulo 2, Tabla 2.1**). A pesar de que visualmente parece haber predominio de fibras largas en estos residuos de extracción de almidón (**Capítulo 2, Figura 2.10**), hay una gran proporción de partículas más pequeñas que pueden ser las que determinen que las características de hinchamiento sean similares a las de la fracción fina de la cáscara.

No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la capacidad de absorción (CAA) y retención (CRA) de agua entre las fracciones, aunque la tendencia observada para la FG siguió siendo mayor. Los valores fueron similares a los obtenidos para los bagazos de la extracción de almidón del cilindro central (**Capítulo 2, Tabla 2.1**)

Dado que la capacidad de retención de aceite (CRAc) fue aproximadamente seis veces mayor en FG que en FF (17,2 y 2,5 g aceite/g, respectivamente), podría considerarse que las fibras en FG tienen una naturaleza más hidrofóbica que las de FF. Esta propiedad es una característica importante para prevenir la pérdida de aceite o grasa durante el procesamiento de alimentos (Luo et al., 2018). De acuerdo con Elleuch et al. (2011b), fibras dietarias con alta CRAc permiten la estabilización de productos alimenticios con alto contenido de grasa. Como se mencionó anteriormente, un emulsificante debe presentar una humectabilidad dual, lo que refiere a que debe ser adsorbido en la interfaz entre aceite y agua tras una humectación parcial por ambas fases. Además, podría esperarse que

haya un comportamiento anfifílico, ya que hay interacción tanto con agua como con aceite. La FG, además de su gran tamaño, no tiene potencial como emulsificante ya que la absorción de aceite es muy superior, por lo que en un estado bifásico, sus partículas tenderían a dispersarse en la fase oleosa, y no a permanecer en la interfase agua/aceite. En cambio, en el caso de la fracción fina, la relación entre la capacidad de absorción de agua y de aceite podría ser adecuada para la formulación de emulsiones O/W.

Tabla 3.2. Propiedades de sorción de las fracciones gruesa (FG) y fina (FF) de la cáscara de ahípa.

Muestra	CH (mL/g)	CAA (g agua/ g)	CRA (g agua/ g)	CRAC (g aceite/ g)
FG	13,1±4,4 ^b	9,2±3,3 ^a	5,4±2,2 ^a	17,2±0,4 ^b
FF	5,7±0,3 ^a	7,1±0,3 ^a	4,3±0,1 ^a	2,5±0,1 ^a

CH: capacidad de hinchamiento. CAA: capacidad de absorción de agua. CRA: capacidad de retención de agua. CRAC: capacidad de retención de aceite.

Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

4.2.4. Ángulo de contacto

Como se mencionó en la **sección 3.3.5** del presente **Capítulo**, el ángulo de contacto (θ), el ángulo formado por la intersección de la interfaz sólido-líquido y líquido-vapor que se obtiene trazando una tangente a lo largo de la interfaz líquido-vapor en el perfil de la gota (Agrawal et al., 2017), da una idea de la humectabilidad de la muestra en la fase acuosa y oleosa. Un ángulo de contacto superior a 90 grados indica una baja tendencia de la superficie a ser mojada por el líquido, y éste permanece como una perla en la superficie. Si esto sucede con el agua (**Figura 3.16**), las partículas en la superficie son consideradas hidrofóbicas. Sin embargo, un ángulo de contacto menor a 90 grados indica que la superficie se humedece y el líquido se esparce sobre una gran área de la

misma, demostrando así, en el caso del agua, su condición hidrofílica (**Figura 3.16**).

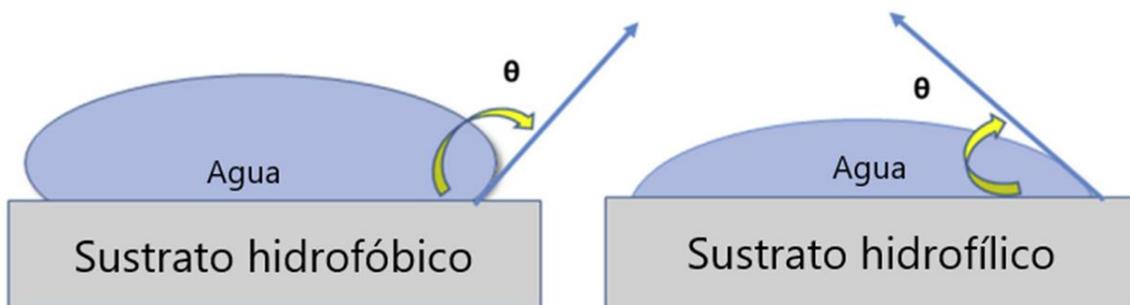


Figura 3.16. Representación esquemática de la interacción de gotículas de agua con diferentes sustratos. θ : ángulo de contacto.

Adaptada de Hebbar et al. (2017)

Se midió el ángulo de contacto de la fracción fina de la cáscara de ahípa molida con una fase acuosa, a pH 3, 5 o 7, y con una oleosa, realizada con aceite de girasol. En ambos casos, los ángulos medidos fueron menores a 90° (**Figura 3.17**); a pH 3 se presentó el menor ángulo de contacto, con un valor de $68,5^\circ$ y una diferencia significativa ($p < 0,05$) respecto a los medios acuosos a pH 5 y 7 y al medio oleoso, lo que indicaría una mayor afinidad de la FF de la cáscara con la fase acuosa en esta condición. A pH 5 se encontró un valor estadísticamente igual ($p > 0,05$) que el del aceite; mientras que a pH neutro, se observa un ángulo de contacto algo menor que con la fase oleosa.

Xie et al. (2020) estudiaron el efecto de distintos grados de esterificación con anhídrido octenil succínico sobre celulosa proveniente de residuos de batata. La celulosa nativa presentó un ángulo de contacto con agua desionizada de $35,9^\circ$, mientras que un aumento en el grado de esterificación, generó una correlación positiva con el ángulo de contacto ($73,94$; $86,51$ y $92,41^\circ$; para un grado de esterificación bajo, medio y alto, respectivamente). Los valores de baja y media sustitución son similares a los obtenidos en el presente Trabajo de Tesis para los distintos pHs, indicando que serían adecuados para la formulación de emulsiones.

Dado que se estudiaron dos tipos de fases líquidas sobre la misma superficie, si el ángulo de contacto es menor a 90° indicaría en ambos casos que tiene una interacción atractiva con las partículas fibrosas. De acuerdo a los resultados

obtenidos, podría inferirse que la fracción fina de la cáscara de ahípa es capaz de interactuar con la fase acuosa y, además, en menor medida, con la oleosa. Esto se condice con las propiedades de sorción (**Tabla 3.2**), donde se obtuvo una mayor capacidad de retención de agua que de aceite. Dada la interacción con ambas fases, acuosa y oleosa, la fracción fina de la cáscara de ahípa podría tener aptitud para disponerse en una interfase aceite/agua dentro de una emulsión, y actuar potencialmente como estabilizante.

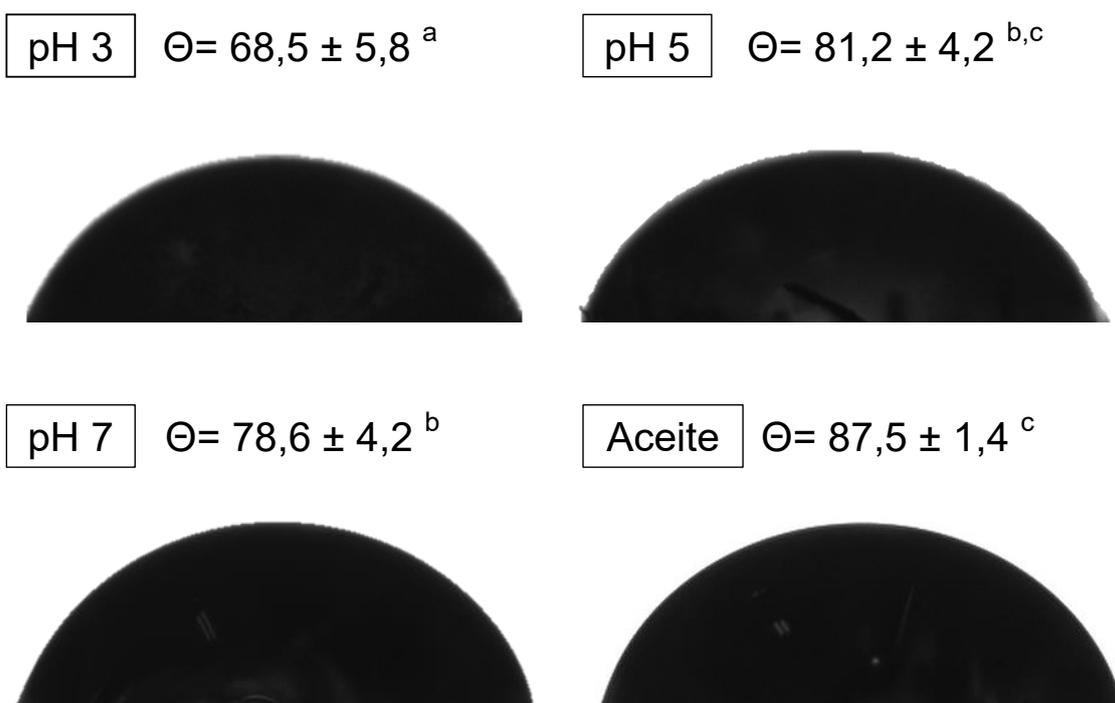


Figura 3.17. Gotas de buffer a pH 3, 5 y 7 y de aceite sobre la superficie de la fracción fina de cáscara de ahípa. θ : ángulo de contacto. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Este tipo de comportamiento proporciona información relevante para la formulación de emulsiones, dado que la elección del tipo de emulsión es impulsada por su humectabilidad. Según la regla de Bancroft, las partículas hidrofílicas (es decir, con un ángulo de contacto menor a 90° medido a través de la fase acuosa) son mejores para estabilizar emulsiones de aceite en agua (O/W) (Ortiz et al., 2020). Por el contrario, las partículas hidrofóbicas (es decir, que en la interacción de la superficie con una fase acuosa presentan un ángulo de

contacto mayor a 90°) son más adecuadas para estabilizar emulsiones de agua en aceite (W/O) (**Figura 3.18**). Si las partículas son muy hidrofílicas o muy lipofílicas, se separan fácilmente de la interfase aceite/agua lo que reduce su habilidad de estabilizar las gotas de la emulsión (Yan et al., 2020); por esta razón el ángulo de contacto debe ser cercano a 90° .

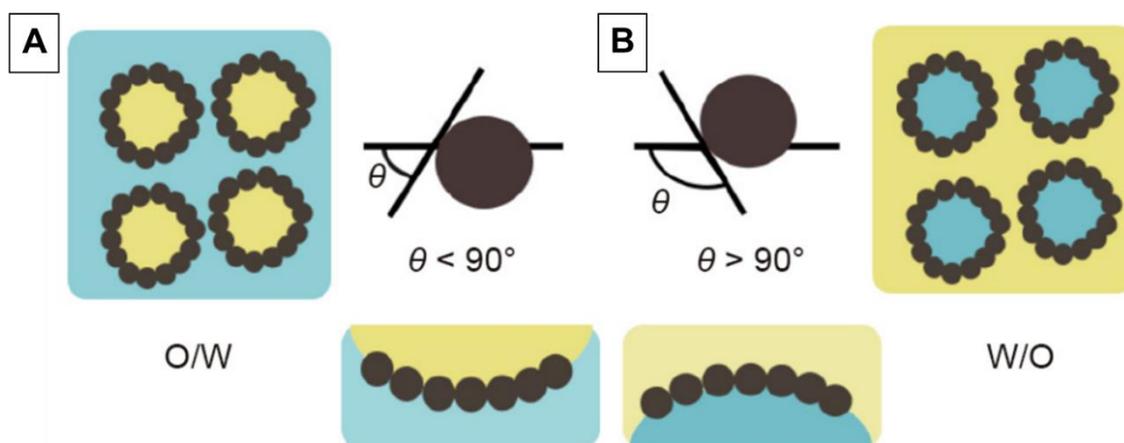


Figura 3.18. Descripción de la relación entre el ángulo de contacto de las partículas (θ) y el tipo de emulsión: **A)** aceite en agua (O/W) y **B)** agua en aceite (W/O).

Fuente: Ortiz et al. (2020).

4.2.5. Emulsiones formuladas con la fracción fina de la cáscara de ahípa

4.2.5.1. Determinación de compuestos fenólicos en la dispersión acuosa

Se encontró que, durante la incubación de la dispersión acuosa de la FF de la cáscara de ahípa a 20°C , una fracción de los compuestos fenólicos presentes se solubilizó. De los $520,6 \pm 35,9$ mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/ 100 g cuantificados en dicha fracción (**Tabla 3.1**), $298,2 \pm 29,7$ se encontraron en la fase acuosa, lo cual corresponde al 57,7 % del total. En cuanto a los taninos, el 53,3 % de los hallados en la cáscara se solubilizaron.

Teniendo en cuenta que las dispersiones de la fracción fina de la cáscara de ahípa se incubaron en medios acuosos (a pH 3, 5 o 7), resulta importante cuantificar la fracción de los compuestos fenólicos que quedarían disponibles en solución para interactuar luego con la fase oleosa en la homogeneización.

Adicionalmente, en una posible aplicación alimentaria de estos residuos, esto también impactaría directamente en la biodisponibilidad que pueden presentar las distintas estructuras de los polifenoles (Pathiraja et al., 2023).

También es interesante el aporte que estos compuestos fenólicos podrían generar con su actividad antioxidante para disminuir la oxidación lipídica que deriva en rancidez (Hyatt, Zhang & Akoh, 2021).

4.2.5.2. Caracterización de las emulsiones

Dado que es imprescindible un tamaño de partícula pequeño para la estabilización de emulsiones con partículas sólidas, la fracción gruesa no sería útil con este fin. Sin embargo, considerando que de la mayor parte de la molienda se obtiene fracción fina, el desperdicio en este caso sería reducido.

Para el estudio de la fracción fina de la cáscara de ahípa como emulsificante/estabilizante, se realizaron emulsiones gruesas, mediante un homogeneizador de alta velocidad Ultraturrax. Tal como se detalló en la **sección 3.3.6.1** del presente capítulo, la fase acuosa constó de una dispersión de la FF en soluciones a pH 3 y 7, y cada una se analizó a concentraciones de 6 y 8%. La estabilidad de las emulsiones se evaluó de manera visual, observando la separación de las fases.

En la **Figura 3.19** se muestran las emulsiones de cada residuo a las distintas concentraciones, transcurridas 1 y 24 h posteriores a la homogeneización con Ultraturrax.

Las emulsiones a pH 3 presentaron una menor separación de fase que aquellas a pH 7. Esta diferencia resultó más evidente en la menor concentración, donde a tiempos cortos ya se distingue una mayor proporción de una fase mayormente acuosa en la zona inferior del tubo a pH 7. Esta zona presentó más turbidez y una coloración más oscura que a pH ácido, probablemente debido a que parte de la FF quedó soluble en esa fase. Si bien no se aprecia en la figura, a concentraciones menores, para ambos pHs, se observaron gotas de aceite inmersas en la emulsión, lo cual podría indicar un efecto de coalescencia o floculación (ver **Figura 3.3** del presente **Capítulo**). Aunque esta evaluación se llevó a cabo de manera cualitativa, arrojó indicios de la concentración adecuada para la formulación de emulsiones con este tipo de material.

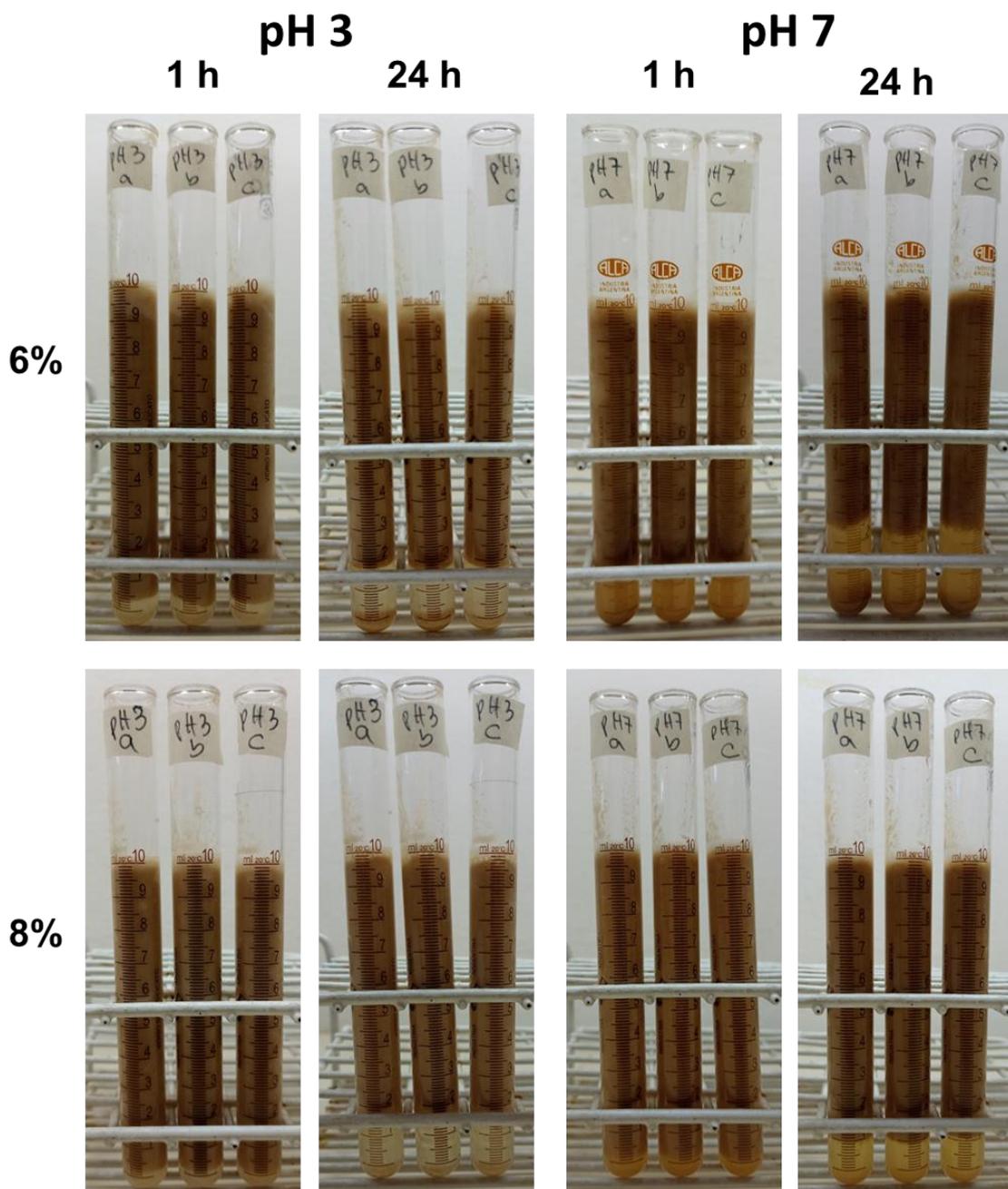


Figura 3.19. Imágenes a diferentes tiempos (1 y 24 h) de emulsiones obtenidas con la fracción fina de la cáscara de ahípa a pH 3 y 7. En la primera fila se muestran aquellas cuya dispersión acuosa fue del 6% de muestra, y en la segunda, del 8%.

En función de estos resultados se prosiguió con el estudio de las emulsiones con suspensiones de FF al 8% p/p. Además, se incluyó un pH intermedio para analizar el efecto del mismo sobre las emulsiones. En la **Figura 3.20** se muestra

una fotografía de las emulsiones 30/70 (O/W) de dispersiones a pH 3, 5 y 7 al 8% preparadas con la FF de la cáscara de ahípa. En ella puede observarse que la de pH 3 presenta un color más claro, respecto a los otros dos pHs estudiados.



Figura 3.20. Emulsiones 30/70 (O/W) preparadas a partir de las dispersiones (al 8 %) a distintos pHs.

Como se determinó previamente, la fracción fina de la cáscara presentó un alto contenido de compuestos fenólicos (520,6 mg EAG/ 100 g). Dentro de este gran grupo, se encuentran las antocianinas (polifenoles hidrosolubles) las cuales aportan a las coloraciones rojizas, azules o violáceas observadas para las raíces de ahípa, particularmente en la cara interna de sus cáscaras (**Figura 3.2**). Si bien en este Trabajo de Tesis no se cuantificaron las antocianinas, en el grupo de trabajo se ha estudiado el contenido de estos pigmentos en la accesión IRNAS 9 de ahípa, habiéndose obtenido valores de 1,63 mg de monómeros de antocianinas/ g de cáscara y 0,187 mg/ g de pulpa (cilindro central) (Dini et al., 2020). Debido a su estructura iónica, dependiendo del medio en el que se encuentran, las antocianinas pueden cambiar su coloración (Enaru et al., 2021). Dini et al. (2020) determinaron que para ahípa, a pH 1 existe un pico máximo de absorbancia a $\lambda=520$ nm, otorgando una coloración rojiza/rosada; a pH 4 la absorbancia en el espectro visible es prácticamente nula, indicando que las antocianinas son incoloras, debido a la prevalencia de estructuras de

pseudobases; y a pH 7, el pico máximo de absorbancia se obtiene a $\lambda=600$ nm, brindando coloración azulada. Es por esto que las diferencias de color de las emulsiones a distintos pHs podrían deberse, en parte, a los cambios en estos polifenoles.

El análisis en Turbiscan reveló que las emulsiones preparadas a partir de dispersiones de la fracción fina de la cáscara a pH 3 presentaron un valor de retrodispersión superior al de las otras formulaciones, alcanzando valores de un 60% y manteniéndose relativamente constante dentro de la primera hora; esto indicaría que las gotas tienen un tamaño pequeño y permanecen suspendidas en la emulsión. Estas emulsiones mostraron un cremado continuo que se puede observar dentro de los 60 minutos, evidenciado por la disminución de BS en la zona inferior del tubo (0 a 4 mm, **Figura 3.21**). Esto es indicador de una estructura viscosa, donde las gotas que se movilizan, lo hacen “*en bloque*”. Una hipótesis es que dicha viscosidad podría deberse a la interacción de la carga negativa de los polisacáridos constituyentes de la fibra y, a pH 3, la carga positiva de las proteínas, dado que éstas están por debajo de su pI (3,64), lo que podría ayudar a mantener las partículas en suspensión.

Los polisacáridos pueden interactuar con las proteínas adsorbidas en la interfase mejorando la estabilidad de la emulsión y sólo aquellos con suficiente carácter hidrofóbico para adsorberse fuertemente en la interfase aceite-agua, o aquellos directamente complejados con proteínas, son capaces de producir y estabilizar emulsiones O/W (Porfiri et al., 2017). Considerando que el contenido proteico de esta fracción es del 12,2 % (**Tabla 3.1**), es esperable que este efecto sea notorio. La alta solubilidad de las proteínas de ahipa hace que el sistema se comporte como una emulsión estabilizada por proteínas y por la fibra insoluble. Esto es asimilable a lo descrito por Huang et al. (2019) para emulsiones O/W generadas con una fase acuosa con proteínas de porotos de soja en baja concentración con la adición de fibra insoluble del mismo producto. La interacción fibra/proteína modificó las propiedades viscoelásticas del sistema, e incrementó la estabilidad a diferentes pHs y fuerzas iónicas.

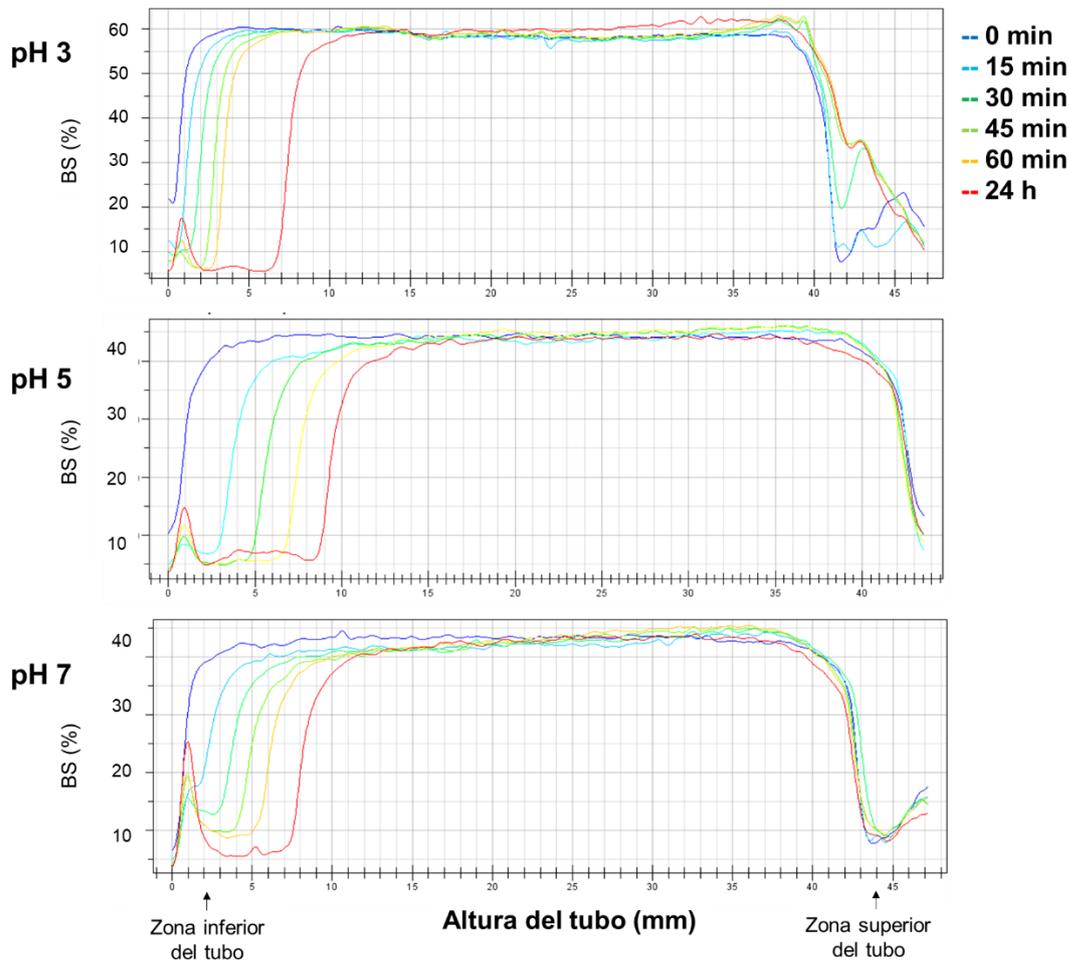


Figura 3.21. Representación de la estabilidad según la retrodispersión (BS) en el tiempo a lo largo del tubo de las emulsiones 30/70 (O/W) realizadas con las dispersiones de FF a distintos pHs (3, 5 y 7).

Las emulsiones a pH 5 presentaron un cremado mayor, que abarca la zona inferior del tubo entre 0 y 10 mm (**Figura 3.21**), el cual se incrementó rápidamente desde los 15 minutos de realizada la homogeneización. A este pH puede estar en juego la carga de las proteínas, que por su pl se esperaría que fuera mayormente negativa, generando repulsiones electrostáticas con los polisacáridos y así, disminuyendo la estabilidad de la interfase aceite/agua.

Siguiendo la misma línea, las proteínas a pH 7 estarán prácticamente en su totalidad con carga negativa, desestabilizando la matriz por la repulsión de carga con las fibras, disminuyendo así la estabilidad de la interfase aceite/agua. En la gráfica de retrodispersión (**Figura 3.21**) se observó que el pico de sedimentación (ubicado entre 0 y 3 mm) ocurre ya a los 60 minutos, es decir, que hay partículas de la FF que no permanecen inmersas en la emulsión, si no que se alojan en el

fondo del tubo. A su vez, presentó mayor cremado a tiempos cortos (zona de 0 a 8 mm), con gotas grandes en migración.

Respecto al tamaño de partícula (**Figura 3.22**), las emulsiones a pH 3 presentaron un menor diámetro promedio de gotas ($D[4,3]$), manteniéndose durante 24 h, (lo cual puede relacionarse con el mayor valor de BS encontrado en estas emulsiones, **Figura 3.21**), mientras que a pH 5 estos valores fueron superiores desde el inicio, marcándose aún más a las 24 h. Para pH 7, se encontró un valor cercano al de pH 3 en el momento inicial, aunque luego de 24 h, los valores de $D[4,3]$ indicarían un reordenamiento hacia flóculos de mayor tamaño o un principio de coalescencia.

Porfiri et al. (2017) encontraron que para emulsiones gruesas O/W obtenidas a partir de dispersiones acuosas de okara de soja a pHs 3 y 7, a mayor concentración de okara las gotas presentaban un menor tamaño de partícula, con valores de $D[4,3]$ ~ 125 y 60 μm (1 y 2 % p/p) a pH ácido, y ~ 90 y 75 μm , respectivamente, a pH neutro.

La forma de las curvas muestra que a pH 3 la distribución es “acampanada” y no un pico más definido, como ocurre a pH 5. En el caso de las emulsiones obtenidas a pH 7, se marcan dos poblaciones de tamaños de partículas en un comienzo, que se fusionan en parte luego de transcurridas 24 horas.

Finalmente, analizando el diámetro de gota correspondiente al 90% del volumen de las gotas en la emulsión (D_{90}) para cada condición (**Figura 3.23**), se puede confirmar que para pH 3, hay una mayor proporción ($p < 0,05$) de partículas más pequeñas respecto a las otras condiciones, y este valor no se ve afectado a las 24 h, como se evidencia también en la distribución de los tamaños de partícula (**Figura 3.22**). En cambio, a pH 5 puede observarse un aumento del D_{90} luego de un día, indicando que la emulsión se vio desestabilizada en ese lapso de tiempo. Finalmente, a pH 7 no se observó una diferencia de tamaños a lo largo del tiempo estudiado, pero sí se obtuvieron tamaños de partícula mayores que a pH 3. Como se detalló previamente, las cargas de las partículas a los distintos pHs podrían tener una gran influencia en la estabilidad, generando atracciones o repulsiones que modifiquen el comportamiento de las emulsiones.

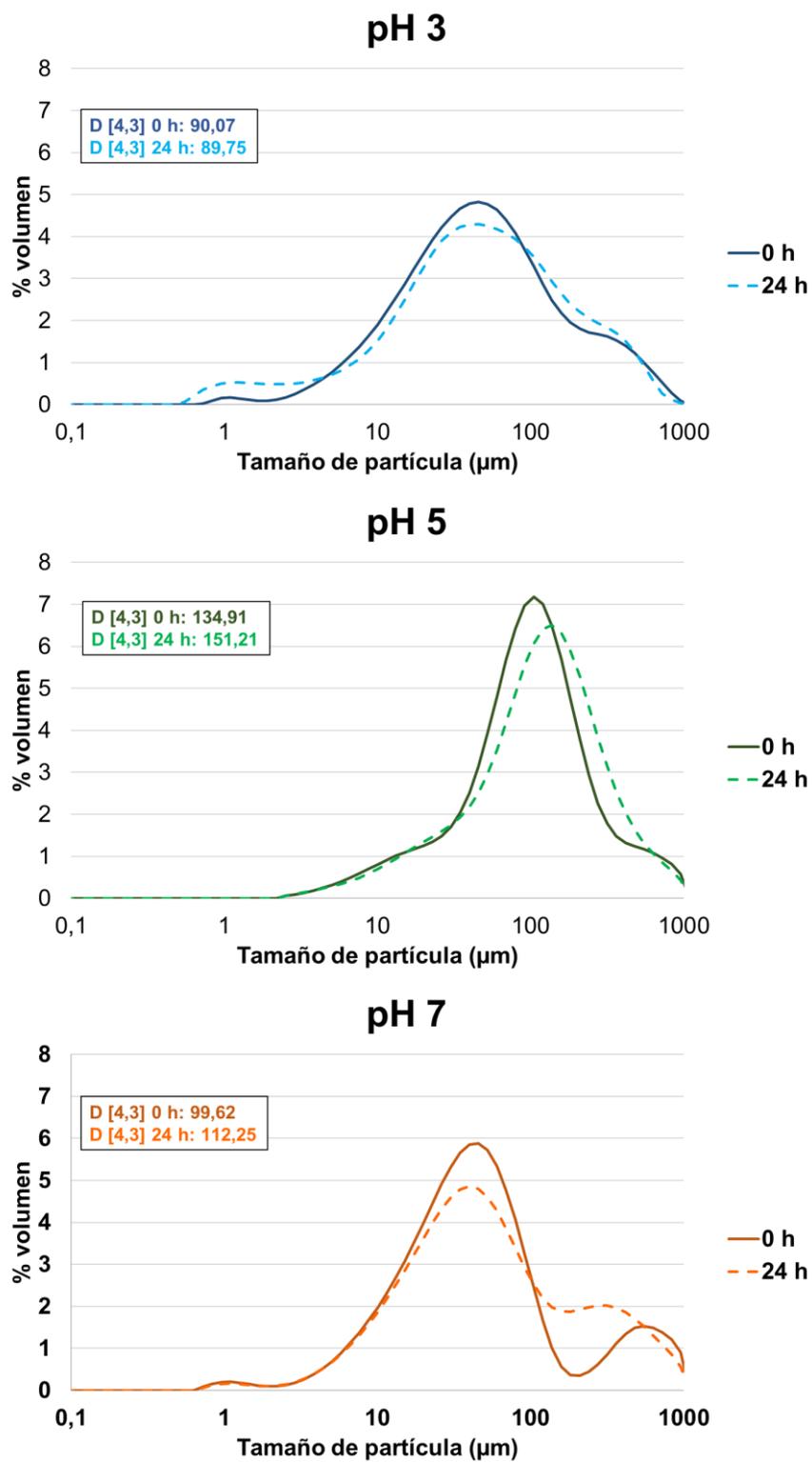


Figura 3.22. Caracterización del tamaño de partícula de las emulsiones O/W (30/70) 8 %p/p de la FF a distintos pHs. Distribución del tamaño de partícula y diámetro de las gotas (D [4,3]).

Normalmente, las gotas más pequeñas son más resistentes a la separación por gravedad y a la agregación en gotas más grandes (Yan et al., 2020). A medida que se reduce el tamaño de las partículas coloidales, aumenta el área de superficie específica de las gotas de la emulsión que puede ser estabilizada, lo que conduce a la formación de emulsiones más estables (Liang & Tang, 2013).

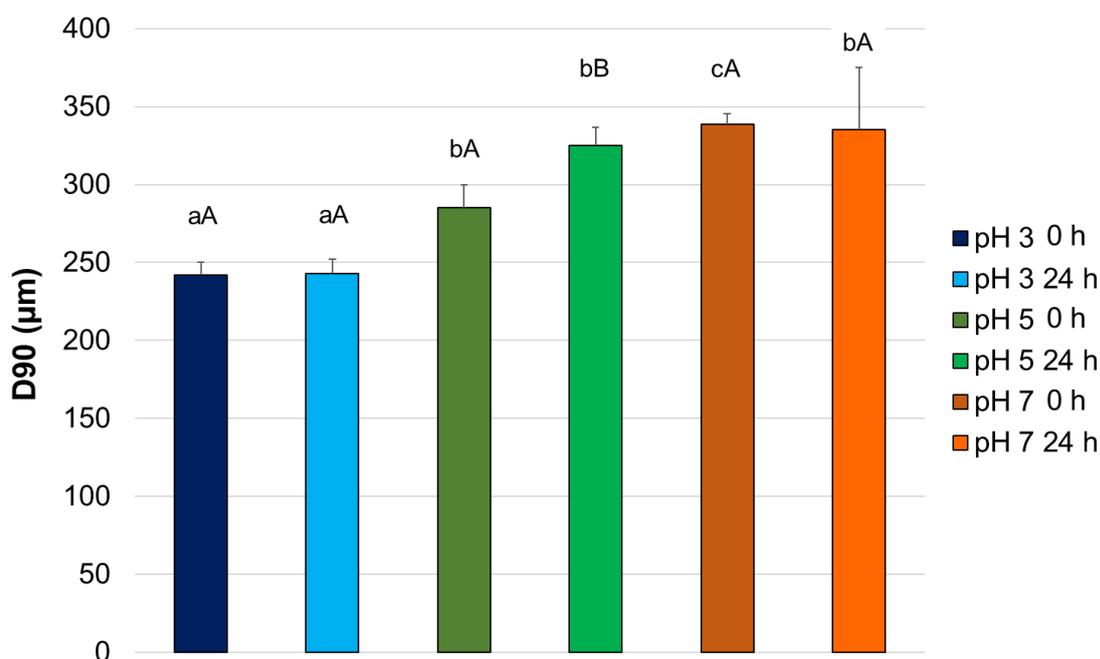


Figura 3.23. Diámetro de gota correspondiente al 90% del volumen de las gotas en la emulsión (D90) a distintos tiempos.

Las letras en minúscula indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre distintas muestras a igual tiempo; letras mayúsculas, en la misma muestra a distintos tiempos.

4.2.5.3. Observaciones microscópicas de las emulsiones

En la **Figura 3.24** se muestran las imágenes de las distintas emulsiones tomadas con un microscopio óptico. En las imágenes que muestran la emulsión sin diluir no se pudo apreciar el tamaño de las gotículas tanto como en las diluidas, pero sí se observó la disposición de las mismas: a pH 3 y 5 no parecería haber una distribución en particular, mientras que a pH 7, se vió que las gotículas más pequeñas rodean a las más grandes, lo que podría proporcionarle cierta estabilidad en un comienzo. Sin embargo, como se observó en la **Figura 3.21**, a

tiempos cercanos a 60 minutos, esta diferencia de tamaños podría generar la migración de flóculos, generando una separación de fases.

Las diluciones 1:5 permitieron observar la distribución de tamaños de las partículas que se presentaron en la **Figura 3.22**, en las cuales el menor tamaño correspondió a las de pH 3 (pico centrado en 45 μm), y el mayor a las de pH 5 (centrado en 105 μm); asimismo se enfatizó la distribución de doble campana a pH 7, con una población mayoritaria con un pico máximo de 70 μm y otra con uno de 550 μm .

Dada la capacidad de la fracción fina de cáscara de ahipa de interactuar tanto con la fase acuosa como la oleosa, como se evidenció en la determinación de la capacidad de retención de agua y aceite (**Tabla 3.2**), así como en la del ángulo de contacto para ambas fases (**Figura 3.17**), se pudo establecer una condición favorable para la formulación de emulsiones gruesas a distintos pHs, donde la mayor estabilidad se obtuvo a pH 3, el cual podría ser compatible en alimentos formulados a partir de emulsiones del tipo aceite en agua (O/W).

Si bien estos resultados son preliminares, brindan una primera aproximación al comportamiento de la cáscara de ahipa, que, sin haber tenido ningún tratamiento, ya mostró mejores características a tiempos cortos (60 min) que las de los bagazos obtenidos de la extracción del almidón de mandioca, mientras que el residuo de la extracción de almidón de ahipa directamente no resultó adecuado este fin.

Una diferencia entre el residuo del cilindro central y la cáscara de ahipa puede ser que en este último caso se hizo un tamizado, eliminando las partículas muy grandes que pueden ser responsables de mayor desestabilización en las emulsiones. Otro parámetro que puede explicar la gran diferencia entre los residuos de la extracción de almidón y la cáscara, es que esta última, al no haber sido sometida a extracciones acuosas, conserva todos los compuestos hidrosolubles ionizables que podrían estar jugando un rol importante en la modificación de la estabilidad de las emulsiones a diferentes pHs.

Dada la mejora producida en los residuos del cilindro central por la aplicación de ultrasonido, se continuará explorando esta línea sobre la cáscara.

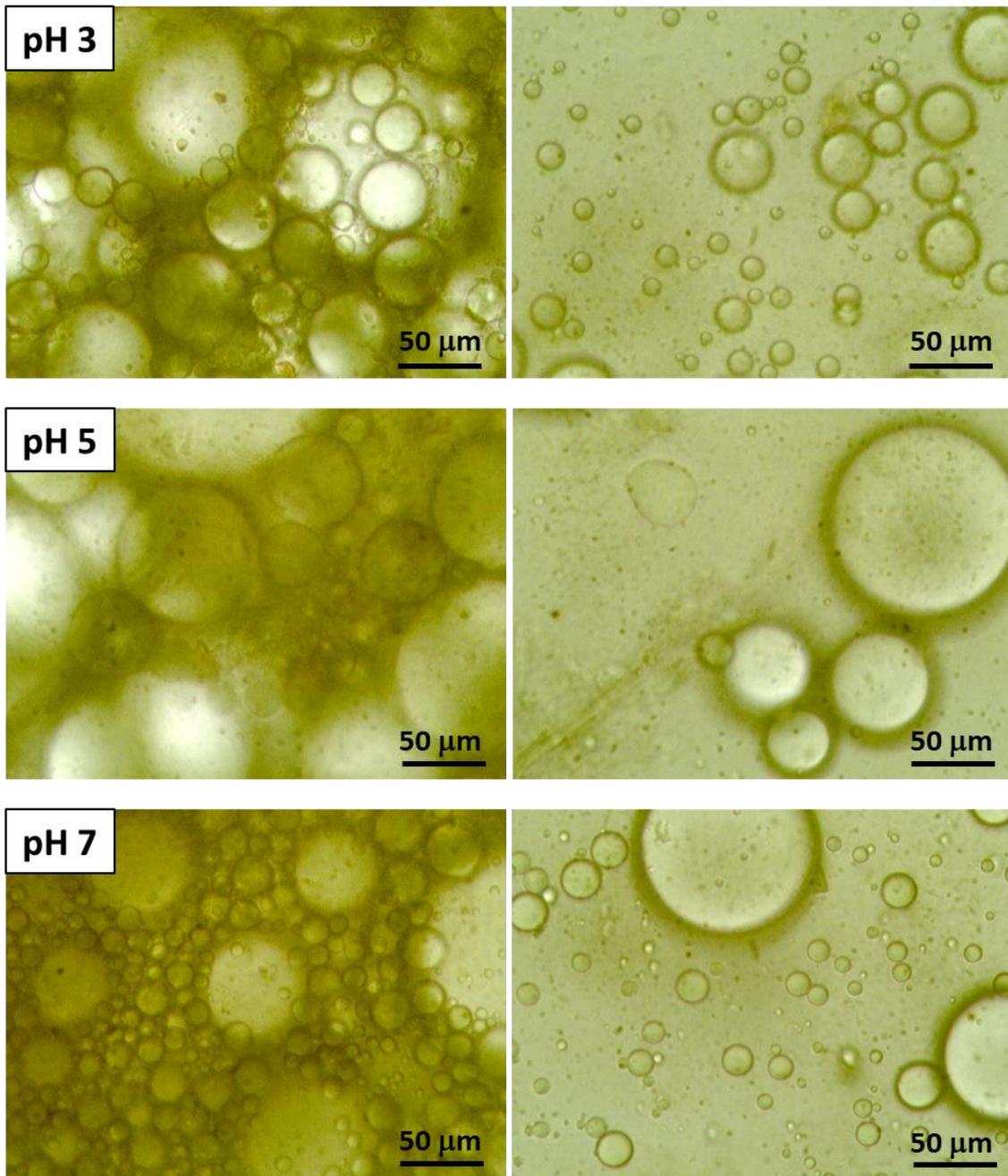


Figura 3.24. Observaciones al microscopio óptico (40×) de las emulsiones realizadas con las dispersiones a distintos pHs de la fracción fina de cáscara de ahípa a tiempo cero; sin diluir (izquierda) y diluida 1:5 (derecha).

5. Conclusiones

Con el fin de estudiar posibles aplicaciones tecnofuncionales de los residuos fibrosos de la extracción de almidón de mandioca y ahípa, así como de la cáscara de esta última, se estudió su aplicación en emulsiones gruesas de aceite en agua (30/70, O/W).

Dada la heterogeneidad de los residuos fibrosos de la extracción de almidón de ahípa, éstos no fueron aptos para generar una emulsión, por lo que no se continuó con su análisis.

El residuo M de mandioca formó una emulsión muy inestable, mientras que los residuos tratados con autoclave, y autoclave seguido de ultrasonido, MA y MAU, tuvieron mejores características, siendo MAU el más promisorio. La aplicación de ultrasonido sobre las dispersiones acuosas de los residuos M y MA previo a formar las emulsiones correspondientes (obteniéndose las muestras M_{sonic} y MA_{sonic}) mejoró tanto el tiempo de separación de las fases como el tamaño de partícula de las gotas, aunque esto no fue suficiente como para considerarlas emulsiones estables.

La cáscara de las raíces ahípa representa entre el 15 y el 17 % en peso de las mismas, y junto con el bagazo de la extracción de almidón, es un residuo que se generaría a partir de su potencial procesamiento. Hasta el momento no se ha reportado información precisa sobre su composición, y tampoco sobre cáscaras de raíces de otras especies del género *Pachyrhizus*.

En el presente **Capítulo** se estudiaron dos fracciones derivadas del secado, molienda y tamizado de la cáscara de ahípa, provenientes de una mezcla de distintas accesiones (IRNAS 9, 11 y 13): la fracción gruesa (FG), compuesta por partículas mayores a 0,5 mm que correspondió al 7,2 % de la masa total, y la fina (FF), menores a 0,5 mm, representando el 92,8 % restante, ambas con un color ligeramente amarronado característico de este tipo de matrices.

La FG presentó un contenido de humedad menor, pero una capacidad de hinchamiento superior, debido a la estructura porosa observada en las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido. La heterogeneidad de estas partículas se reflejó en grandes desviaciones en los valores obtenidos para la

capacidad de sorción e hinchamiento. La FF mostró una capacidad de retención de agua presuntamente menor que la FG, aunque no difirieron estadísticamente ($p > 0,05$), mientras que la FG tuvo una mayor capacidad de retención de aceite, presentando la FF un valor relativamente bajo. La fracción de mayor tamaño presentó mayor contenido de fibra dietaria total (78,3 y 49,1 % para FG y FF, respectivamente), y ambas fracciones mostraron alto contenido de compuestos fenólicos, sin diferencias significativas entre ellas. Las cenizas de ambas fracciones fueron de un color rosáceo, con mayor proporción en FF (6,77%); asimismo, el contenido proteico fue superior en FF (12,2 %) respecto a la FG (10,5 %).

Para la fracción fina se determinó el ángulo de contacto con gotas de una fase acuosa y una oleosa, obteniendo en ambos casos valores menores a 90° , lo que indica que la FF tiene la capacidad de interactuar atractivamente tanto con compuestos hidro como lipofílicos, que se condice con su capacidad de retención de agua y de aceite. Esta característica resultaría favorable para la formulación de emulsiones.

Para la FF de cáscara ahípa se estudió el comportamiento de las emulsiones a pHs levemente por debajo y superiores al pI de sus proteínas (pH 3, 5 y 7). Se observó que las emulsiones a pH 3 fueron más estables en el tiempo, y presentaron un mayor porcentaje de retrodispersión posiblemente asociado a tamaños de partícula menores que aquellas a pH 5 y 7, siendo la de pH 5 la más inestable. Estas diferencias podrían deberse a las interacciones atractivas (a pH 3) y repulsivas (pHs 5 y 7) entre las proteínas y los polisacáridos que componen la FF.

De todas las condiciones estudiadas, las emulsiones formuladas a partir de la fracción fina de cáscara de ahípa molida y dispersada en buffer a pH 3 presentó las mejores características como potencial emulsificante/estabilizante. A futuro, se propone estudiar el efecto de un tratamiento con ultrasonido sobre las dispersiones acuosas, tal como se realizó para los residuos fibrosos de mandioca.

Plantear usos potenciales para estos desechos puede ayudar a revalorizar estos cultivos e incentivar su producción en pos de una economía circular.



Anexo



1. Introducción

Durante el transcurso de la realización del presente Trabajo de Tesis, el grupo de investigación se contactó con Fernando Witzke, gerente de CAISA, Cooperativa Agrícola e Industrial San Alberto Ltda., ubicada en el Departamento L.G. San Martín de la Provincia de Misiones, Argentina. La misma produce fécula nativa de mandioca, así como féculas modificadas, adhesivos, premezcla para chipá o chipitas, y puré deshidratado de mandioca.

En dicha Cooperativa, en una jornada de trabajo completa, se procesan alrededor de 200 toneladas de raíces, de las cuales se obtienen entre 50-53 ton de almidón seco (cuyo contenido de humedad máximo es 15 %), y entre 60-70 ton de “afrecho” húmedo. Este último se obtiene a partir de las aguas residuales que contienen en suspensión gran cantidad de materiales fibrosos. Dado que este bagazo posee hasta un 95 % de agua, se estima que se producen entre 3-3,5 ton de “afrecho” seco a partir del procesamiento de las raíces. El principal uso del residuo es para alimentación animal (**Figura A.1**), aunque la humedad que contiene puede ocasionar que fermente y deba ser descartado, sin poder utilizarse para ese fin.



Figura A.1. Afrecho de mandioca, subproducto del procesamiento de las raíces. Fuente: Uset, O. A. “Mandioca, mucho más que chipá”. Sitio Argentino de Producción animal.

https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas%20artificiales/06-mandioca.pdf

Dada la importancia de la reducción de desechos agroindustriales, así como de la revalorización de los subproductos del procesamiento de materias primas, resultó de especial interés estudiar el residuo remanente luego de la extracción de almidón de raíces de mandioca proveniente de una industria. Este subproducto guarda relación con los residuos o bagazos fibrosos que fueron material de estudio del presente Trabajo de Tesis.

2. Objetivo

- Comparar las características fisicoquímicas de un residuo obtenido a escala agroindustrial con uno obtenido a escala de laboratorio.

3. Materiales y métodos

3.1. Obtención del bagazo o “afrecho” de mandioca

El residuo proveniente de la Cooperativa (RC) fue obtenido por el personal de la misma, y luego enviado a nuestro laboratorio para su análisis.

En la **Figura A.2** se muestra un diagrama de flujo simplificado de la obtención de fécula (almidón) a partir de raíces de mandioca, provisto por Fabián Dilkin (Jefe de Calidad y segundo Jefe de Planta de CAISA). En una primera instancia, las raíces son lavadas y peladas por rozamiento. Luego son descargadas en un molino de martillo fijo (*picado* en la **Figura A.2**) y trituradas hasta que el material pueda atravesar una criba mallada de 1-1,2 mm (*desintegración*). Se agrega agua por medio de duchas y se realizan tres etapas de tamizado (con mallas de tamaño decreciente en cada una), en zarandas cónicas rotativas (*separación de fibras*) para apartar el afrecho del almidón. El volumen de almidón en suspensión es centrifugado para eliminar restos vegetales y otras impurezas, obteniendo la llamada *lechada* de almidón. La misma es concentrada, filtrada y secada para, finalmente, obtener el almidón y envasarlo. Por otra parte, el afrecho se envía a una tolva, que alimenta un tornillo sinfín, el cual conecta con los camiones que lo transportan para utilizarse como alimento para el ganado.

Debido a la dificultad para enviar a nuestro laboratorio una muestra de afrecho tal como se obtiene en la Cooperativa, el mismo fue prensado a través de una malla de 400 mesh (0,037 mm) para eliminar parte del agua, aunque sólo escurrió entre 10-15 % de la misma (F. Dilkin, com. pers.). Luego, el afrecho se secó en estufa a 110 °C, al menos durante 8 h, rotando periódicamente el material en las bandejas, y finalmente fue enviado a nuestro laboratorio. En la **Figura A.3 A** se muestra el residuo RC.

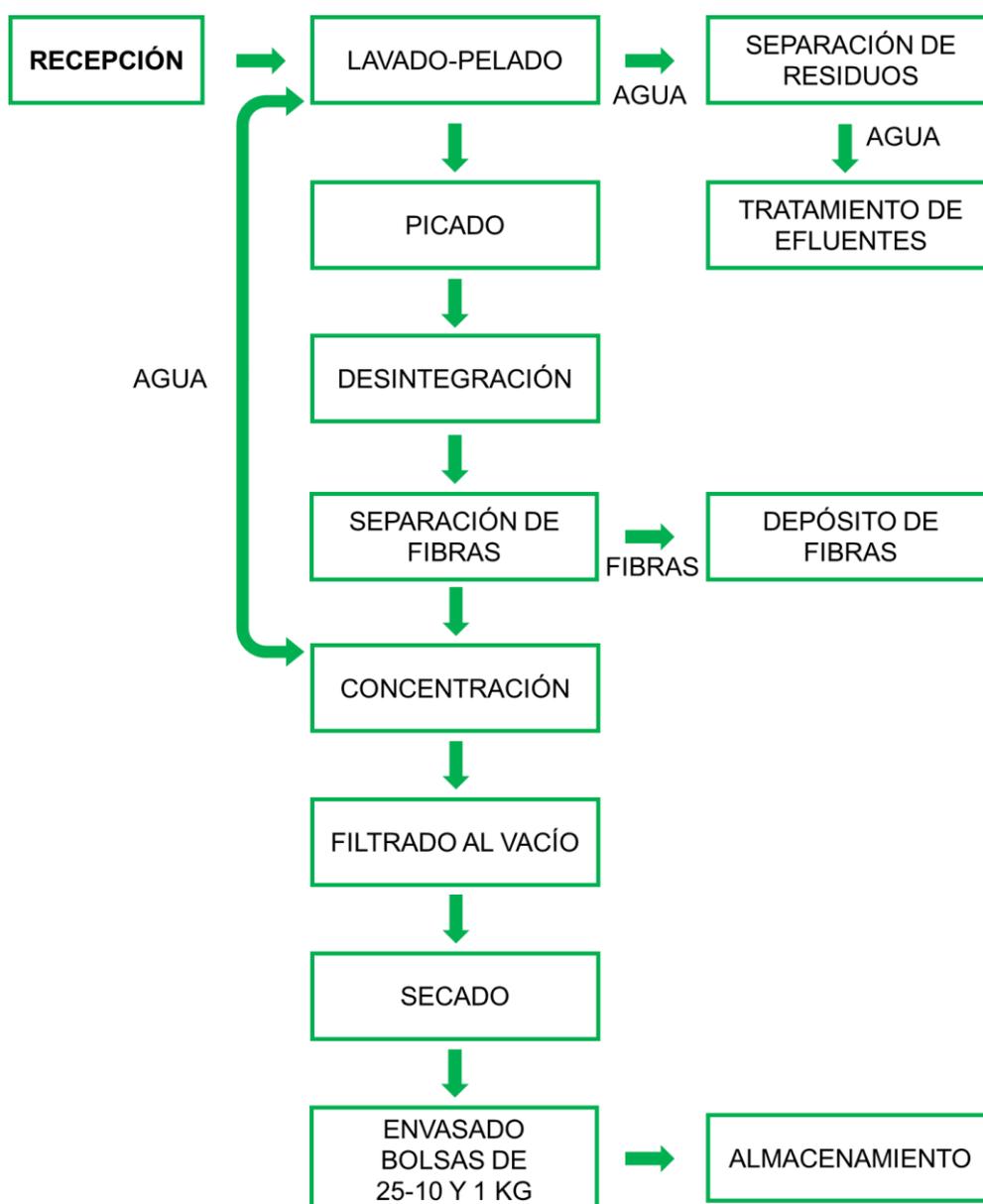


Figura A.2. Diagrama de flujo de la producción de almidón de mandioca brindado por la Cooperativa CAISA.

Como comparación con una de las muestras obtenidas a escala de laboratorio en el presente Trabajo de Tesis, se utilizó el residuo fibroso M (**Figura A.3 B**), que correspondió al procesamiento de raíces de mandioca sometidas a seis extracciones acuosas (**Capítulo 2, sección 3.1**).



Figura A.3. **A)** Residuo o “afrecho” seco (RC) tal como se recibió en nuestro laboratorio. **B)** Residuo M obtenido en el presente Trabajo de Tesis.

3.2. Caracterización física de los residuos

3.2.1. Distribución de tamaño de partículas

La distribución de tamaño de partículas de un producto sólido granulado es una especificación importante del mismo ya que afecta no solo su aplicación final sino también su manipulación.

Para realizar el análisis se colocó un conjunto de tamices estandarizados, acoplados en serie, con el tamiz más pequeño en el fondo y el más grande en la parte superior. La muestra (adecuadamente tomada para que sea representativa del total) se colocó en el tamiz superior y el conjunto se sometió a sacudidas mecánicas, realizadas en una zaranda (**Figura A.4**) durante 10 minutos. Las partículas retenidas sobre cada tamiz se retiraron y se pesaron, y las masas de los incrementos individuales sobre cada tamiz se convirtieron en porcentajes de la muestra total. Los tamaños de los mismos fueron los siguientes: 2; 1; 0,710; 0,500; 0,355 y 0,250 mm. Las mediciones se realizaron por triplicado.

3.2.2. Medida de color

Esta determinación se realizó como se detalla en el **Capítulo 1, sección 3.6**. Se calculó la diferencia total de color (ΔE) y el índice de pardeamiento (IP) según las **Ecuaciones 1.3, 1.4 y 1.5**.

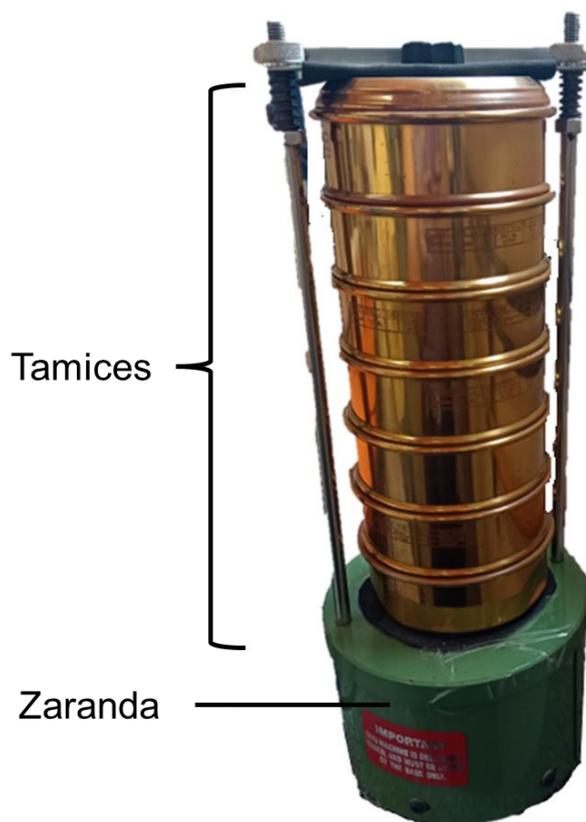


Figura A.4. Tamices ensamblados en una zaranda, dispuestos de mayor a menor tamaño (de arriba hacia abajo).

3.3. Caracterización química

3.3.1. Contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó gravimétricamente según el método AOAC 925.10 (AOAC, 1990), mediante secado en estufa a 105 °C hasta peso constante. El resultado se expresó como porcentaje (% p/p).

3.3.2. Contenido de almidón total

Se cuantificó el almidón total utilizando el kit comercial K-TSTA como se explicó en el **Capítulo 2, sección 3.11.2**.

3.3.3. Contenido de proteínas

El contenido de proteínas se determinó por el método Kjeldahl (**Capítulo 1, sección 3.2.3.3**), utilizando un factor de conversión de 6,25.

3.3.4. Fracción lipídica

Esta determinación se llevó a cabo por el método Soxhlet detallado en el **Capítulo 1, sección 3.2.3.2**.

3.3.5. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos totales, taninos y no taninos se cuantificaron espectrofotométricamente ($\lambda=760$ nm) tal como se describió en el **Capítulo 1, sección 3.5.4**.

3.4. Propiedades de sorción

La capacidad de hinchamiento, de absorción y de retención de agua y de aceite se determinaron según lo indicado en el **Capítulo 2, sección 3.3 (Ecuaciones 2.2, 2.3, 2.4 y 2.5, respectivamente)**.

4. Resultados

Con el fin de facilitar la comparación entre la muestra provista por la Cooperativa (RC) y la muestra obtenida en nuestro laboratorio luego de seis extracciones acuosas (M), los datos se presentarán en paralelo, repitiendo los detallados en el **Capítulo 2** del presente Trabajo de Tesis.

4.1. Caracterización física

En la **Figura A.5** se muestran las distribuciones de tamaño de partículas obtenidas para las muestras RC y M. En la primera, la mayor proporción (42,5 %), correspondió a la fracción comprendida entre 1 y 2 mm; las fracciones entre 0,710 y 1 mm y menor a 0,250 mm presentaron valores similares (15,2 y 14,6 %); el resto de las fracciones tuvo una menor representación. En cambio, para M, la fracción contenida entre 0,710 y 1 mm obtuvo la mayor proporción (62,1 %), seguida por la fracción comprendida entre 0,500 y 0,710 mm (9,7 %), mientras que las fracciones de tamaños menores presentaron porcentajes similares (entre 8,0 y 8,9 %). A diferencia de RC, M presentó un bajo porcentaje de partículas entre 1 y 2 mm (2,9 %), indicando la presencia, en general, de elementos más pequeños.

Como se puede observar en la **Figura A.3**, RC mostró un aspecto granuloso que se corresponde con los resultados obtenidos en esta determinación. Visualmente, fue similar al residuo tratado en autoclave (MA) del presente Trabajo de Tesis (**Capítulo 2, sección 3.1, Figura 2.2**); en cambio, el residuo M tuvo una apariencia pulverulenta.

Visualmente, RC presentó una coloración tendiente al ocre, evidenciada por el índice de pardeamiento (IP) que arrojó un valor igual a $55,83 \pm 1,10$. Contrariamente, el IP calculado para la muestra M fue de $4,63 \pm 0,21$, en correspondencia con su color blanquecino, asociado a su alto contenido de almidón remanente. La diferencia entre las muestras podría deberse a factores del procesamiento, como la eliminación parcial o total de la cáscara (para RC y M, respectivamente), el prensado automático o manual y las distintas temperaturas de secado (RC: 110 °C; M: 70 °C). El residuo RC pudo haber experimentado un proceso de pardeamiento no enzimático, también conocido como reacción de Maillard, correspondiente a la reacción química entre azúcares reductores y aminoácidos a temperaturas elevadas (Fennema, 1996).

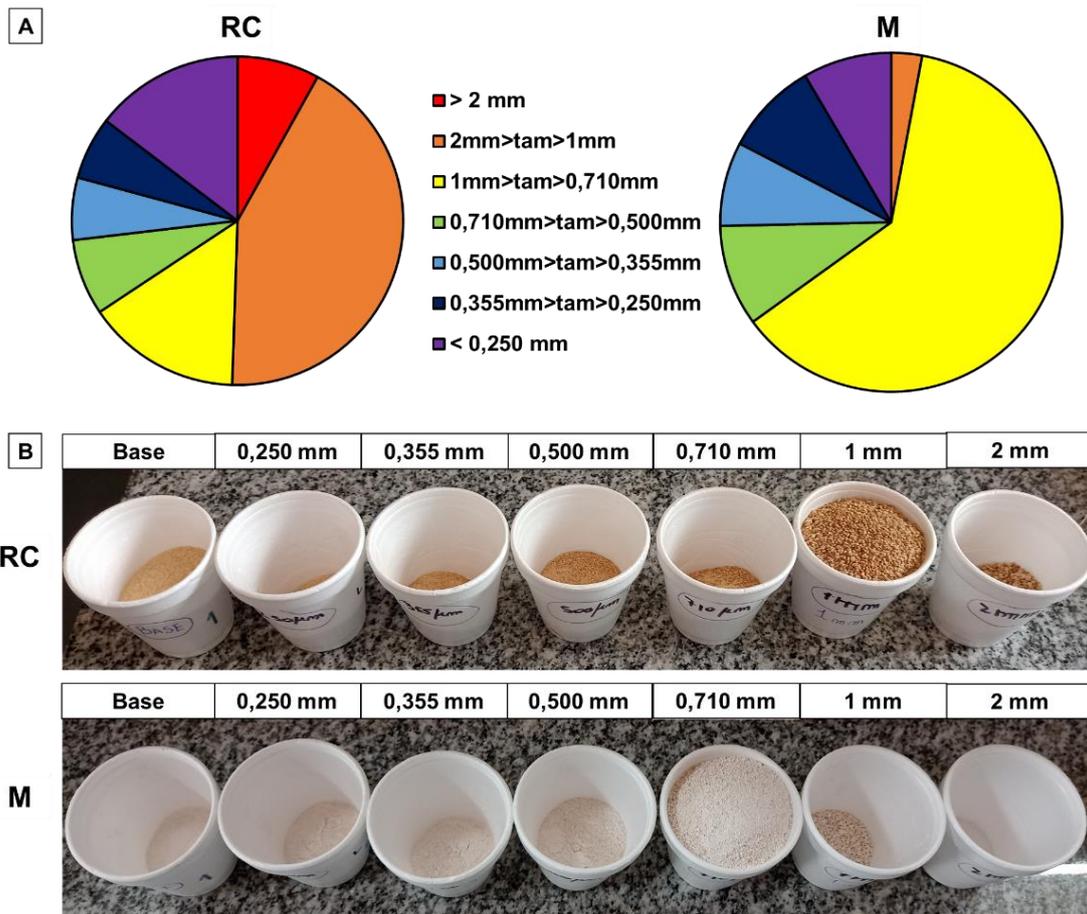


Figura A.5. A) Porcentajes de cada fracción de tamaño para el bagazo (afrecho) proveniente de la cooperativa (RC) y para el residuo de la extracción de almidón del presente Trabajo de Tesis (M). **B)** Fracciones separadas mediante el tamizado.

4.2. Caracterización química

En la **Tabla A.1** se proporcionan los resultados obtenidos para la caracterización química de los residuos. El bagazo RC mostró un menor contenido de humedad que M, producto de las diferentes condiciones de secado; al alcanzar temperaturas superiores, RC experimentó una mayor pérdida de agua y, consecuentemente, presentó un mayor valor de materia seca.

En cuanto al almidón total, se registró un menor contenido del mismo en RC: 1,6 veces inferior que el de M (**Tabla A.1**). Esta diferencia con M puede deberse a las variedades de mandioca procesadas, así como a la temperatura de secado, ya que a 110 °C parte del almidón se pudo haber degradado, impidiendo su cuantificación por el método utilizado. De acuerdo con Zhang et al. (2016), el

bagazo de mandioca puede contener entre 40,1-75,1 % de almidón (en base seca), por lo que M se encontraría en dicho rango, mientras que RC presentó un contenido levemente por debajo del mismo.

Se encontró que RC contiene casi cinco veces más proteínas que M (**Tabla A.1**). Como se ha mencionado antes, las raíces de mandioca tienen un bajo contenido proteico que varía entre 1-3% en base seca (Morgan & Choct, 2016). En el caso de la pulpa, este parámetro puede modificarse de acuerdo a la variedad y procesamiento de las raíces, obteniendo valores entre 0,3-2,8 % en base seca (Pandey et al., 2000; Napasirth et al. 2015), lo cual se condice con lo hallado en el presente Trabajo de Tesis tanto para RC como para M.

Tabla A.1. Caracterización química del bagazo o afrecho de mandioca.

Muestra	Humedad (%)	Almidón total (% b.s.)	Proteínas (% b.s.)	Lípidos (% b.s)	FTE (mg EAG/ 100g b.s)	Taninos (mg EAG/ 100g b.s)
RC	5,96 ± 0,07 ^a	35,99 ± 0,12 ^a	2,88 ± 0,02 ^b	0,11 ± 0,07	70,01 ± 2,31 ^b	28,91
M	11,95 ± 0,06 ^b	58,20±0,84* ^b	0,60±0,04* ^a	ND	20,31±0,76 ^a	6,42

Residuos fibrosos de la extracción de almidón de mandioca: RC, provisto por la Cooperativa y M, obtenido en el laboratorio. FTE: Compuestos fenólicos extraíbles; EAG: equivalentes de ácido gálico; b.s: base seca. ND: no determinado.

El asterisco indica que esa determinación se realizó en la muestra con extracciones acuosas de 12 horas (segundo ciclo de cultivo). Letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Según Montagnac, Davis & Tanumihardjo (2009), las raíces de mandioca pueden presentar un contenido de lípidos que varía entre 0,1-0,3 %. Teniendo en cuenta esto, el resultado obtenido luego de la extracción de almidón para la muestra RC (**Tabla A.1**) podría indicar que esta fracción queda retenida en su mayor parte en el residuo fibroso, aunque no representa un gran aporte ya que el porcentaje es pequeño en comparación con el de almidón, por ejemplo.

Respecto a los compuestos fenólicos, RC mostró un valor más de tres veces superior al de M para los fenólicos totales (**Tabla A.1**), con un 41,3 % correspondiente a taninos, mientras que para M los taninos representaron el 31,6 %. Cabe señalar que, para el residuo obtenido a escala de laboratorio el pelado se realizó de manera exhaustiva, mientras que en la Cooperativa se lleva a cabo por rozamiento entre las raíces (**sección 3.1** del presente anexo), por lo que puede haber restos de la cáscara e impactar en el contenido de compuesto fenólicos. Las cáscaras de mandioca pueden contener entre 254-676 mg de equivalentes de ácido gálico/100 g en base seca, dependiendo de la variedad procesada (Ekeledo et al., 2021).

4.3. Propiedades de sorción

Como se mencionó en el **Capítulo 2**, las propiedades de hidratación de materiales fibrosos son muy importantes cuando estos son empleados como ingredientes de alimentos, con el objetivo de mejorar sus propiedades tecnofuncionales.

Todas las determinaciones arrojaron valores significativamente mayores ($p < 0,05$) en la muestra RC respecto a M (**Figura A.6**), donde la capacidad de hinchamiento (CH), de absorción (CAA) y de retención (CRA) de agua representaron más del doble para RC. Desde la Cooperativa se hizo referencia a que, visualmente, el afrecho obtenido en el procesamiento de las raíces (**sección 3.1**) pareciera estar relativamente seco, aunque en realidad posee contenidos muy elevados de agua, incluso del 95 %. Esto da un indicio de la gran capacidad de absorber y retener agua, tal como se encontró al realizar las determinaciones informadas en este apartado.

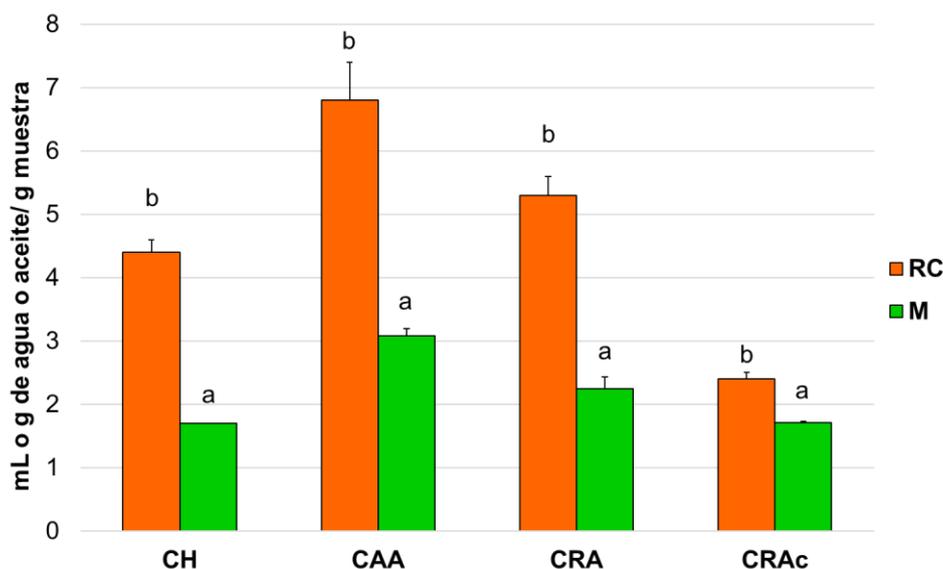


Figura A.6. Propiedades de sorción de las muestras.

Residuos fibrosos de la extracción de almidón de mandioca: RC, provisto por la Cooperativa y M, obtenido en el laboratorio.

CH: capacidad de hinchamiento (mL/g); CAA: capacidad de absorción de agua (g agua/g); CRA: capacidad de retención de agua (g agua/g); CRAc: capacidad de retención de aceite (g aceite/g). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las muestras, para cada propiedad.

Los resultados de RC, particularmente los valores de CAA y CRA, fueron similares a los obtenidos para el residuo fibroso tratado en autoclave (MA) analizado en el presente Trabajo de Tesis (**Capítulo 2, Tabla 2.1**), probablemente debido a la exposición a altas temperaturas durante el secado, las que pueden haber generado modificaciones estructurales de las fibras análogas a las experimentadas por el residuo MA.

En el caso de la capacidad de retención de aceite, la del afrecho RC fue un 40% superior a la del residuo M. Esto podría representar una ventaja en la formulación de alimentos, previniendo la pérdida de grasa o aceite (Luo et al., 2018).

5. Conclusiones

La muestra obtenida del bagazo de mandioca luego de la extracción de almidón proporcionada por la Cooperativa Agrícola e Industrial San Alberto Ltda (RC) presentó una distribución de tamaños de partícula diferente a la del residuo obtenido a escala de laboratorio (M), donde se observó que RC contenía una mayor proporción de elementos superiores a 1 mm, mientras que para M, la fracción mayoritaria correspondió a la comprendida entre 0,710 y 1 mm. Visualmente, RC mostró un aspecto granuloso con coloración ocre, reflejada en un mayor índice de pardeamiento que M, la cual exhibió un color blanquecino debido a su alto contenido de almidón, con apariencia de polvo.

Respecto a la caracterización química, RC presentó un menor contenido de humedad y almidón total que M, así como una mayor proporción de proteínas y compuestos fenólicos, lo que puede estar relacionado tanto a las variedades de raíces procesadas, a la diferencia en las metodologías de obtención de los residuos, así como a las temperaturas de secado aplicadas.

Las propiedades de sorción fueron superiores para RC en comparación con M, en especial las vinculadas a la interacción con el agua, mostrando un comportamiento más similar al del residuo fibroso tratado en autoclave (MA) obtenido en el presente Trabajo de Tesis. Este comportamiento podría deberse a la exposición a altas temperaturas durante el secado del afrecho, la que pudo generar modificaciones fisicoquímicas conducentes a una mayor capacidad de absorción y retención de agua.

El estudio de residuos a escala agroindustrial resulta de utilidad para los procesadores, brindando información útil para desarrollar alternativas de revalorización de los subproductos del procesamiento de mandioca, como en este caso particular. Resulta de gran importancia encontrar soluciones para el tratamiento y disposición de dichos materiales, ya que generan contaminación ambiental o bien tienen un destino subvalorado, como la alimentación de animales o, en otros casos, el uso como abonos. Adicionalmente, el análisis de sus propiedades fisicoquímicas aporta información necesaria para el desarrollo de alternativas de incorporación a determinadas matrices alimentarias.



Conclusiones generales



- En el estudio de los componentes anatómicos del cilindro central de raíces de ahípa (accesión IRNAS 9) se observaron, de manera preponderante, elementos de tejidos de sostén y conducción, así como parénquima de reserva amilífero. Asimismo, se caracterizó la cáscara de dichas raíces tanto anatómica como químicamente, encontrando numerosos cristales de oxalato, principalmente en la felodermis, y un alto contenido proteico en relación al cilindro central, empleado como materia prima para la obtención de harina.
- Se analizaron los residuos de la primera y sexta extracción acuosa de almidón del cilindro central de raíces de ahípa (que se denominaron A1 y A6, respectivamente) y sus cambios luego de un tratamiento físico, con autoclave y ultrasonido (residuo ATF), y posteriormente uno químico, con EDTA y oxalato (residuo AEO). Se encontró una disminución progresiva en el contenido de almidón remanente entre los residuos de la primera y la sexta extracción acuosa, y un marcado descenso de este polisacárido luego de los tratamientos físicos. Esto se produjo tanto por la gelatinización del almidón como por la disrupción de la estructura de las fibras, lo que permitió una mayor remoción. Finalmente, el tratamiento químico (AEO) no presentó diferencias significativas en el contenido de almidón respecto al residuo anterior (ATF). Si bien el proceso de extracción del almidón removió simultáneamente la mayor parte de los compuestos fenólicos, aquellos que permanecieron en los bagazos podrían ser responsables del incremento en la diferencia total de color y el índice de pardeamiento registrados luego de los tratamientos físicos en autoclave y con ultrasonido.
- Los tratamientos físicos aplicados conjuntamente en los residuos de ahípa fueron los que indujeron los mayores cambios, especialmente en lo que respecta a la remoción del almidón. No se observaron mayores diferencias al aplicar el tratamiento químico con agentes secuestrantes EDTA y oxalato.
- El estudio de los tratamientos físicos (tratamiento térmico en autoclave y tratamiento con punta sonicadora), evaluados individualmente, sobre los bagazos provenientes de la extracción de almidón de raíces de ahípa (A) se amplió también a los residuos de mandioca (M), obteniendo en los sucesivos pasos los residuos AA, MA, AAU, MAU cuando se aplicó primero el tratamiento en autoclave y luego el ultrasonido. En el caso de mandioca,

también se implementó el orden inverso (bagazos MU y MUA). Se observó que fue principalmente el tratamiento térmico el que facilitó la remoción del almidón remanente. Los tratamientos aplicados generaron además modificaciones en la estructura de los residuos fibrosos, especialmente en los derivados de mandioca, lo que se vio reflejado en sus propiedades de hidratación, que aumentaron para MA respecto a M, y presentaron un valor intermedio en MAU. Los residuos de ahipa mostraron valores mayores que los de mandioca en cuanto a sus propiedades de hidratación, y también en su capacidad de retención de aceite, aunque no se vieron sustancialmente alterados por los tratamientos físicos aplicados.

- Al estudiar las propiedades reológicas de suspensiones acuosas (al 4 %p/p) calentadas a 90 °C de estos materiales, la heterogeneidad de los residuos de ahipa no permitió la formación de geles en las condiciones ensayadas. Contrariamente, los residuos de mandioca M y MAU gelificaron por calentamiento de sus suspensiones en agua.
- Los residuos de ahipa presentaron un mayor contenido de fibra dietaria total que los de mandioca: 27,2-32,3 % y 14,5-21,4 %, respectivamente. Los tratamientos físicos generaron variaciones en la proporción de hemicelulosa y lignocelulosa de los residuos de mandioca, lo cual se asocia a los cambios observados en su morfología y propiedades de sorción, mientras que en ahipa las modificaciones fueron muy leves, aunque resultaron efectivos en la remoción del almidón remanente.
- En el caso de mandioca, se vio que el tratamiento con ultrasonido por sí mismo no generó cambios significativos en las propiedades fisicoquímicas de los bagazos, aunque combinado con un posterior tratamiento en autoclave, se lograron modificaciones similares a las observadas con el orden de aplicación planteado originalmente (primero autoclave y luego ultrasonido).
- La solubilidad del almidón presente en el residuo de mandioca tratado en autoclave (MA) fue considerablemente mayor que en el residuo no tratado (M), a temperatura igual o superior a la de gelatinización del almidón de mandioca (68 °C).
- Como un posible uso de los residuos fibrosos de la extracción de almidón de mandioca y ahipa se estudió su aplicación en emulsiones gruesas de aceite

en agua (30/70, O/W), con vistas a incrementar el contenido de fibra dietaria de estos sistemas alimentarios. Dada la heterogeneidad y elevado tamaño de partículas de los residuos de ahípa, éstos no resultaron aptos para generar una emulsión estable. El residuo M formó una emulsión muy inestable, mientras que MA y MAU permitieron mejorar la estabilidad, siendo el residuo MAU el que presentó, comparativamente, las mejores características.

- Como mejora operativa, la aplicación de ultrasonido sobre las dispersiones acuosas de los residuos M y MA (denominadas M_{sonic} y MA_{sonic}), previo a formar las emulsiones correspondientes, permitió prolongar el tiempo de separación de las fases y obtener un menor tamaño de partícula de las gotas, aunque esto no fue suficiente como para considerarlas emulsiones estables.
- Al investigar sobre las características y propiedades de la cáscara de las raíces de ahípa, se halló que este componente representa entre el 15 y el 17 % en peso de las mismas y, junto con el bagazo de la extracción de almidón, es un residuo voluminoso que se generaría a partir de su potencial procesamiento. Se estudiaron dos fracciones de la molienda de cáscaras de ahípa: la fracción gruesa (FG), compuesta por partículas mayores a 0,5 mm que correspondió al 7,2 % de la masa total, y la fina (FF), con tamaño menor a 0,5 mm, representando el 92,8 % restante. Ambas fracciones mostraron una buena capacidad de absorción y retención de agua, mientras que la FG tuvo una mayor capacidad de retención de aceite. Esta FG presentó mayor contenido de fibra dietaria total (78,3 y 49,1 % para FG y FF, respectivamente), y ambas fracciones mostraron alto contenido de compuestos fenólicos (360,7 y 520,6 mg equivalente de ácido gálico/ 100 g para FG y FF, respectivamente) y de proteínas (10,5 % para FG y 12,2 % para FF).
- Para evaluar las propiedades de humectabilidad y dispersión de la FF de cáscara de ahípa, se determinó el ángulo de contacto en su interacción con gotas de una fase acuosa y una oleosa, y se registraron valores menores a 90°, lo que indica que la FF tiene la capacidad de interactuar atractivamente con ambos tipos de medios, característica potencialmente favorable para la formulación de emulsiones.

- Para la FF se estudió el comportamiento de las emulsiones a pHs levemente por debajo (pH 3) y superiores (pH 5 y 7) al punto isoeléctrico de las proteínas que la componen. Se observó que las emulsiones a pH 3 fueron más estables en el tiempo, y presentaron un mayor porcentaje de retrodispersión, posiblemente asociado a tamaños de gota menores. La dispersión preparada a pH 5 resultó ser la más inestable. Las emulsiones elaboradas con dispersiones de la FF de las cáscaras de ahípa a pH 3 podrían considerarse un punto de partida para la optimización de formulaciones de emulsiones alimenticias enriquecidas con fibra dietaria.
- Dado el interés de la industria de la fécula de mandioca en agregar valor al bagazo (o afrecho) obtenido en el procesamiento de las raíces, ya que se trata de un subproducto de compleja disposición, manipulación y altamente perecedero, resultaría relevante aplicar los tratamientos físicos estudiados en el presente Trabajo de Tesis a dicho material para mejorar su estabilidad y ampliar sus propiedades tecnofuncionales. Esta podría representar, asimismo, una de las líneas a continuar en el futuro, sobre la base de la caracterización del bagazo industrial realizada como parte de este Trabajo.



Bibliografía



- Abidi, N., Cabrales, L., & Haigler, C. H. (2014). Changes in the cell wall and cellulose content of developing cotton fibers investigated by FTIR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, *100*, 9-16.
- Adheeb Usaid, A. S., Premkumar, J., & Ranganathan, T. V. (2014). Emulsion and its applications in food processing—A review. *International Journal of Engineering Research and Applications*, *4*(4), 241-248.
- Agubosi, O. C. P., Dumkenekwkwu, I. F., & Alagbe, J. O. (2021). Evaluation Of the Nutritive Value of Air-Dried and SunDried Sweet Potato (*Ipomoea Batatas*) Peels. *Texas Journal of Agriculture and Biological Sciences*, *1*, 14-21.
- Agrawal, G., Negi, Y. S., Pradhan, S., Dash, M., & Samal, S. K. (2017). Wettability and contact angle of polymeric biomaterials. In *Characterization of Polymeric Biomaterials* (pp. 57–81). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100737-2.00003-0>
- Ahn, K., Henniges, U., Banik, G., & Potthast, A. (2012). Is cellulose degradation due to β -elimination processes a threat in mass deacidification of library books?. *Cellulose*, *19*, 1149-1159.
- Akmeemana, C., Somendrika, D., Wickramasinghe, I., & Wijesekara, I. (2023). Cassava pomace-based biodegradable packaging materials: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 1-22.
- Altamirano, S. M., Borrelli, N., Benvenuto, M. L., Fernández, M., Osterrieth, M. Chapter 32. *Biomineralization: from molecular and nano-structural analyses to environmental science* (p. 413). (2018). Springer Nature. Endo, K., Kogure, T., & Nagasawa, H.
- Amado, I. R., Franco, D., Sánchez, M., Zapata, C., & Vázquez, J. A. (2014). Optimisation of antioxidant extraction from *Solanum tuberosum* potato peel waste by surface response methodology. *Food Chemistry*, *165*, 290–299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.103>
- AOAC (1990). Official Methods of Analysis, 15th edn. Washington DC: Association of Official Analytical Chemist.
- Bakaloudi, D. R., Halloran, A., Rippin, H. L., Oikonomidou, A. C., Dardavesis, T. I., Williams, J., ... & Chourdakis, M. (2021). Intake and adequacy of the vegan diet. A systematic review of the evidence. *Clinical nutrition*, *40*(5), 3503-3521.
- Balbin, A. J. F. T., Gonzales, H. A., Bornillo, L. A. M., Tagupa, J. H. A., Jaro, R. H., Ido, A. L., & Arazo, R. O. (2022). High biohydrogen yield from fresh cassava waste pulps via gas dissolution in a dark fermentative environment. *Cleaner Waste Systems*, *3*, 100039. <https://doi.org/10.1016/j.clwas.2022.100039>
- Bargagli, M., Tio, M. C., Waikar, S. S., & Ferraro, P. M. (2020). Dietary oxalate intake and kidney outcomes. In *Nutrients* (Vol. 12, Issue 9, pp. 1–15). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu12092673>
- Barua, S., Rakshit, M., & Srivastav, P. P. (2021). Optimization and digestogram modeling of hydrothermally modified elephant foot yam (*Amorphophallus paeoniifolius*) starch using hot air oven, autoclave, and microwave treatments. *Lwt*, *145*, 111283.
- Basconsuelo, S., Grosso, M., Molina, M. G., Malpassi, R., Kraus, T., & Bianco, C. (2011). Comparative root anatomy of papilionoid legumes. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, *206*(9), 799-807.
- Batalla, L. D., Aldapa, C. A. G., Rosas, J. C., & Jurado, A. T. (2016). *Biotechnología y Alimentos en Hidalgo: Transitando a la Bioeconomía*. Capítulo 6.
- Bayata, A. (2019). Review on Nutritional Value of Cassava for Use as a Staple Food. *Science Journal of Analytical Chemistry*, *7*(4), 83. <https://doi.org/10.11648/j.sjac.20190704.12>
- Bayram, B., Ozkan, G., Kostka, T., Capanoglu, E., & Esatbeyoglu, T. (2021). Valorization and application of fruit and vegetable wastes and by-products for food packaging materials. *Molecules*, *26*(13), 4031.
- Behak, L. (2017). Soil stabilization with rice husk ash. *Rice: Technology and Production*, *29*.
- Belwal, T., Chemat, F., Venskutonis, P. R., Cravotto, G., Jaiswal, D. K., Bhatt, I. D., ... & Luo, Z. (2020). Recent advances in scaling-up of non-conventional extraction techniques: Learning from successes and failures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *127*, 115895.

- Benitez, V., Rebollo-Hernanz, M., Hernanz, S., Chantres, S., Aguilera, Y., & Martin-Cabrejas, M. A. (2019). Coffee parchment as a new dietary fiber ingredient: Functional and physiological characterization. *Food Research International*, 122, 105–113. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2019.04.002>
- Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential—what they are and what they are not?. *Journal of controlled release*, 235, 337-351.
- Blumenkrantz, N., & Asboe-Hansen, G. (1973). New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical biochemistry*, 54(2), 484-489.
- Boca, B. M., Pretorius, E., Gochin, R., Chapoullie, R., & Apostolides, Z. (2002). An overview of the validation approach for moist heat sterilization, part I. *Pharmaceutical technology*, 26(9), 62-71.
- Borchert, R. Functional anatomy of the calcium excreting system of *Gleditsia triacanthos* L. *Bot. Gaz.* **1984**, 145, 474–482.
- Buckman, E. S., Oduro, I., Plahar, W. A., & Tortoe, C. (2018). Determination of the chemical and functional properties of yam bean (*Pachyrhizus erosus* (L.) Urban) flour for food systems. *Food Science and Nutrition*, 6(2), 457–463. <https://doi.org/10.1002/fsn3.574>
- Buera, M.P. , Petriella, C. , Lozano, R.D. , 1986. Definition of colour in the non-enzymatic browning. *Die Farbe* 33, 316–326 .
- Burgos, Á. M. (2018). Estado actual del cultivo de mandioca en la República Argentina. *Agrotecnia*, 27. <https://doi.org/10.30972/agr.0273482>
- Cabezas, D. M., Madoery, R., Diehl, B. W., & Tomás, M. C. (2012). Emulsifying properties of different modified sunflower lecithins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89, 355-361.
- Calabrese, V., Muñoz-García, J. C., Schmitt, J., da Silva, M. A., Scott, J. L., Angulo, J., Khimyak, Y. Z., & Edler, K. J. (2019). Understanding heat driven gelation of anionic cellulose nanofibrils: Combining saturation transfer difference (STD) NMR, small angle X-ray scattering (SAXS) and rheology. *Journal of Colloid and Interface Science*, 535, 205–213. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.09.085>
- Cano-Sarmiento, C. T. D. I., Téllez-Medina, D. I., Viveros-Contreras, R., Cornejo-Mazón, M., Figueroa-Hernández, C. Y., García-Armenta, E., Alamilla-Beltrán, L., García, H.S. & Gutiérrez-López, G. F. (2018). Zeta potential of food matrices. *Food Engineering Reviews*, 10, 113-138.
- Canteri, M. H. G., Renard, C. M. G. C., Le Bourvellec, C., & Bureau, S. (2019). ATR-FTIR spectroscopy to determine cell wall composition: Application on a large diversity of fruits and vegetables. *Carbohydrate Polymers*, 212, 186–196. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.021>
- Capilla, M., San-Valero, P., Izquierdo, M., Peña-roja, J. M., & Gabaldón, C. (2021). The combined effect on initial glucose concentration and pH control strategies for acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation by *Clostridium acetobutylicum* DSM 792. *Biochemical Engineering Journal*, 167, 107910.
- Carmona-Hernandez, J. C., Taborda-Ocampo, G., & González-Correa, C. H. (2021). Folin-Ciocalteu Reaction Alternatives for Higher Polyphenol Quantitation in Colombian Passion Fruits. *International Journal of Food Science*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8871301>
- Chanamai, R. A. D. J. M., & McClements, D. J. (2002). Comparison of gum arabic, modified starch, and whey protein isolate as emulsifiers: influence of pH, CaCl₂ and temperature. *Journal of food science*, 67(1), 120-125.
- Chandel, V., Biswas, D., Roy, S., Vaidya, D., Verma, A., & Gupta, A. (2022). Current Advancements in Pectin: Extraction, Properties and Multifunctional Applications. In *Foods* (Vol. 11, Issue 17). MDPI. <https://doi.org/10.3390/foods11172683>
- Chandrasekara, A. (2018). Roots and tubers as functional foods. *Bioactive Molecules in Food. Reference Series in Phytochemistry*. Springer, Cham. DOI, 10, 978-3.
- Charles, A. L., Siroth, K., & Huang, T. C. (2005). Proximate composition, mineral contents, hydrogen cyanide and phytic acid of 5 cassava genotypes. *Food Chemistry*, 92(4), 615–620. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.024>

- Chen, B., Cai, Y., Liu, T., Huang, L., Deng, X., Zhao, Q., & Zhao, M. (2019). Improvements in physicochemical and emulsifying properties of insoluble soybean fiber by physical-chemical treatments. *Food Hydrocolloids*, 93(January), 167–175. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.058>
- Chen, H., Zhao, C., Li, J., Hussain, S., Yan, S., & Wang, Q. (2018). Effects of extrusion on structural and physicochemical properties of soluble dietary fiber from nodes of lotus root. *Lwt*, 93, 204-211.
- Cho, S. S. (Ed.). (2001). Handbook of dietary fiber. CRC Press.
- Coe, F. L., Evan, A., & Worcester, E. (2005). Kidney stone disease. In *Journal of Clinical Investigation* (Vol. 115, Issue 10, pp. 2598–2608). <https://doi.org/10.1172/JCI26662>
- Cole, M. R., Eggleston, G., Gilbert, A., & Chung, Y. J. (2016). Development of an analytical method to measure insoluble and soluble starch in sugarcane and sweet sorghum products. *Food Chemistry*, 190, 50–59. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.05.049>
- Coman, V., Teleky, B. E., Mitrea, L., Martău, G. A., Szabo, K., Călinoiu, L. F., & Vodnar, D. C. (2020). Bioactive potential of fruit and vegetable wastes. *Advances in food and nutrition research*, 91, 157-225.
- Dabydeen, S., & Sirju-Charran, G. (1990). The developmental anatomy of the root system in yam bean, *Pachyrhizus erosus* Urban. *Annals of Botany*, 66(3), 313-320.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986). Manual de técnicas en histología vegetal. Buenos Aires: Hemisferio Sur.
- Dai, D., & Fan, M. (2011). Investigation of the dislocation of natural fibres by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 55(2), 300–306. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2010.12.009>
- D'costa, A. S., & Bordenave, N. (2023). Whole grain chemistry and nutrition from a health perspective: Understanding the fibre-phenolic-starch ménage à trois. *Trends in Food Science & Technology*, 104196.
- de Escalada Pla, M. F., Ponce, N. M., Stortz, C. A., Gerschenson, L. N., & Rojas, A. M. (2007). Composition and functional properties of enriched fiber products obtained from pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poirét). *LWT - Food Science and Technology*, 40(7), 1176–1185. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.08.006>
- Demarty, M., Morvan, C., & Thellier, M. (1984). Calcium and the cell wall. *Plant, Cell & Environment*, 7(6), 441-448.
- De Moura, F. A., Pereira, J. M., Da Silva, D. O., Zavareze, E. D. R., Da Silveira Moreira, A., Helbig, E., & Dias, A. R. G. (2011). Effects of oxidative treatment on the physicochemical, rheological and functional properties of oat β -glucan. *Food Chemistry*, 128(4), 982–987. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.003>
- Díaz, Andrea. 2021. Tesis doctoral “Raíces no tradicionales como fuente de ingredientes para el desarrollo de alimentos funcionales”. Universidad Nacional de La Plata. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/132089>
- Díaz, A., Dini, C., Viña, S. Z., & García, M. A. (2016). Starch extraction process coupled to protein recovery from leguminous tuberous roots (*Pachyrhizus ahipa*). *Carbohydrate Polymers*, 152, 231–240. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.004>
- Díaz, A., Dini, C., Viña, S. Z., & García, M. A. (2018). Technological properties of sour cassava starches: Effect of fermentation and drying processes. *Lwt*, 93, 116-123.
- Dickinson, E. (2010). Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81(1), 130-140.
- Dimitri, M. J., & Orfila, E. N. (1985). Tratado de Morfología y Sistemática Vegetal. 1ra. Ed. ACME, Bs As.
- Dini, C., Doporto, M. C., García, M. A., & Viña, S. Z. (2013). Nutritional profile and anti-nutrient analyses of *Pachyrhizus ahipa* roots from different accessions. *Food Research International*, 54(1), 255–261. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.027>

- Dini, C., Quiroga, A. V., Viña, S. Z., & García, M. A. (2021). Extraction and Characterization of Proteins from *Pachyrhizus ahipa* Roots: an Unexploited Protein-Rich Crop. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76(2), 179–188. <https://doi.org/10.1007/s11130-021-00890-y>
- Dini, C., Zaro, M. J., Rolny, N., Caputo, M., Boido, E., Dellacassa, E., & Viña, S. Z. (2020). Characterization and stability analysis of anthocyanins from *Pachyrhizus ahipa* (Wedd) Parodi roots. *Food Bioscience*, 34, 100534.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Dopporto, M. C., Mugridge, A., García, M. A., & Viña, S. Z. (2011). *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi roots and flour: Biochemical and functional characteristics. *Food Chemistry*, 126(4), 1670–1678. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.053>
- Dopporto MC, Dini C, Mugridge A, Viña SZ, García MA (2012) Physicochemical, thermal and sorption properties of nutritionally differentiated flours and starches. *J Food Eng* 113(4):569–576
- Dopporto, M. C., Dini, C., Viña, S. Z., & García, M. A. (2014). *Pachyrhizus ahipa* roots and starches: Composition and functional properties related to their food uses. *Starch-Stärke*, 66(5-6), 539-548.
- Dopporto, M.C., 2014. Tesis Doctoral “Aprovechamiento integral de raíces de ahipa (*Pachyrhizus ahipa*) y sus productos derivados con fines alimentarios. Universidad Nacional de La Plata <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/34924?show=full>
- Dreher, M. L. (2001). Dietary fiber overview (Chapter 1). In *Handbook of dietary fiber* (pp. 1-16). CRC Press.
- Dusuki, N. J. S., Abu Bakar, M. F., Abu Bakar, F. I., Ismail, N. A., & Azman, M. I. (2020). Proximate composition and antioxidant potential of selected tubers peel. *Food Res*, 4(1), 121-126.
- Ekeledo, E., Latif, S., Abass, A., & Müller, J. (2021). Antioxidant potential of extracts from peels and stems of yellow-fleshed and white cassava varieties. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(3), 1333-1342.
- Ekop IE, Simonyan KJ, & Ewrierhoma ET. (2019). Utilization of Cassava Wastes for Value Added Products: An Overview. In *International Journal of Scientific Engineering and Science* (Vol. 3, Issue 1). <http://ijses.com/>
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., & Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. In *Food Chemistry* (Vol. 124, Issue 2, pp. 411–421). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>
- Enaru, B., Dreţcanu, G., Pop, T. D., Stănilă, A., & Diaconeasa, Z. (2021). Anthocyanins: Factors affecting their stability and degradation. *Antioxidants*, 10(12), 1967.
- Escaramboni, B., Núñez, E. G. F., Carvalho, A. F. A., & de Oliva Neto, P. (2018). Ethanol biosynthesis by fast hydrolysis of cassava bagasse using fungal amylases produced in optimized conditions. *Industrial crops and products*, 112, 368-377.
- Fahn, A. (1982). Anatomía Vegetal. Ediciones Pirámide S. A, Madrid, España.
- Fakir, M. S. A., Jannat, M., Mostafa, M. G., & Seal, H. (2012). Starch and flour extraction and nutrient composition of tuber in seven cassava accessions. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 10(452-2016-35665), 217-222.
- Fan, X., Chang, H., Lin, Y., Zhao, X., Zhang, A., Li, S., Feng, Z., & Chen, X. (2020). Effects of ultrasound-assisted enzyme hydrolysis on the microstructure and physicochemical properties of okara fibers. *Ultrasonics Sonochemistry*, 69, 105247. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105247>
- FAOSTAT, 2023. Food and Agriculture Data. <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. Accedido el 18-09-2023.
- Fellah, P. Anjukandi, M.R. Waterland, M.A.K. Williams, Carbohydr. Pol. 78, 847–853 (2009)
- Fennema, O. R. (1996). *Food chemistry* (Vol. 76). CRC Press.

- Fierascu, R.C., Fierascu, I., Avramescu, S.M., Sieniawska, E., 2019. Recovery of natural antioxidants from agro-industrial side streams through advanced extraction techniques. *Molecules* 24 (23), 4212. doi: 10.3390/molecules24234212 .
- Filisetti-Cozzi, T. M., & Carpita, N. C. (1991). Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Analytical biochemistry*, 197(1), 157-162.
- Food and Agriculture Organization (FAO). The State of Food and Agriculture 2019. Moving Forward on Food Loss and Waste Reduction. 2019. Available online: <http://www.fao.org/3/ca6030en/ca6030en.pdf>
- Franklin, G.L. 1945. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature* 155: 51.
- Fritsch, C., Staebler, A., Happel, A., Márquez, M. A. C., Aguiló-Aguayo, I., Abadias, M., Gallur, M., Cigognini, I. M., Montanari, A., López, M. J., Suárez-Estrella, F., Brunton, N., Luengo, E., Sisti, L., Ferri, M., & Belotti, G. (2017). Processing, valorization and application of bio-waste derived compounds from potato, tomato, olive and cereals: A review. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 9, Issue 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/su9081492>
- Gan, J., Xie, L., Peng, G., Xie, J., Chen, Y. & Yu, Q. (2021). Systematic review on modification methods of dietary fiber. *Food Hydrocolloids*, 119, 106872.
- George, M., Chae, M., & Bressler, D. C. (2016). Composite materials with bast fibres: Structural, technical, and environmental properties. In *Progress in Materials Science* (Vol. 83, pp. 1–23). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2016.04.002>
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Current protocols in food analytical chemistry. Unit F, 1, 2-1.
- González-Vázquez, M., Calderón-Domínguez, G., Mora-Escobedo, R., Salgado-Cruz, M. P., Arreguín-Centeno, J. H., & Monterrubio-López, R. (2022). Polysaccharides of nutritional interest in jicama (*Pachyrhizus erosus*) during root development. *Food Science and Nutrition*, 10(4), 1146–1158. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2746>
- Grace Adebisi, F., Adeniran Ogunwole, O., Ayodeji, A., Mosuro, A., O, O. S., A, A. A., O, M. A., F, A. B., C, E. S., G, A. F., & A, O. O. (n.d.). *Nutritional composition of cassava (Manihot esculenta Crantz) peel products*. <https://www.lrrd.org/lrrd34/10/3490olad.html>
- Griffiths, J.A. De Haseth, Fourier Transform Infrared Spectrometry, 2nd edn. (Wiley, 2007), pp 321–362
- Guilherme Sebastião, V., Batista, D., Rebellato, A. P., Alves Macedo, J., & Steel, C. J. (2023). Sustainable production of naturally colored extruded breakfast cereals from blends of broken rice and vegetable flours. *Food Research International*, 172. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113078>
- Hatfield, R.D., Jung, H.-J.G., Ralph, J., Buxton, D.R. & Weimer, P.J. (1994). A comparison of the insoluble residues produced by the Klason lignin and acid detergent lignin procedures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 65,51–58.
- He, Y., Wang, B., Wen, L., Wang, F., Yu, H., Chen, D., ... & Zhang, C. (2022). Effects of dietary fiber on human health. *Food Science and Human Wellness*, 11(1), 1-10.
- Hebbar, R. S., Isloor, A. M., & Ismail, A. F. (2017). Contact Angle Measurements. In *Membrane Characterization* (pp. 219–255). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63776-5.00012-7>
- Hosseini, A., Jafari, S. M., Mirzaei, H., Asghari, A., & Akhavan, S. (2015). Application of image processing to assess emulsion stability and emulsification properties of Arabic gum. *Carbohydrate polymers*, 126, 1-8.
- Hua, M., Lu, J., Qu, D., Liu, C., Zhang, L., Li, S., Chen, J., & Sun, Y. (2019). Structure, physicochemical properties and adsorption function of insoluble dietary fiber from ginseng residue: A potential functional ingredient. *Food Chemistry*, 286, 522–529. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.01.114>
- Huang, L., Cai, Y., Liu, T., Zhao, X., Chen, B., Long, Z., ... & Zhao, Q. (2019). Stability of emulsion stabilized by low-concentration soybean protein isolate: Effects of insoluble soybean fiber. *Food Hydrocolloids*, 97, 105232.

- Huang, L., Ding, X., Zhao, Y., Li, Y., & Ma, H. (2018). Modification of insoluble dietary fiber from garlic straw with ultrasonic treatment. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13399>
- Huang, L., Zhang, X., Xu, M., An, S., Li, C., Huang, C., ... & Liu, Y. (2018). Dietary fibres from cassava residue: Physicochemical and enzymatic improvement, structure and physical properties. *AIP Advances*, 8(10).
- Hussain, S., Li, J., Jin, W., Yan, S., & Wang, Q. (2018). Effect of micronisation on dietary fibre content and hydration properties of lotus node powder fractions. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(3), 590–598. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13632>
- Hussain, S., Jöudu, I., & Bhat, R. (2020). Dietary fiber from underutilized plant resources—A positive approach for valorization of fruit and vegetable wastes. *Sustainability*, 12(13), 5401.
- Hüttner Kringel, D., El Halal, S. L. M., Zavareze, E. D. R., & Dias, A. R. G. (2020). Methods for the extraction of roots, tubers, pulses, pseudocereals, and other unconventional starches sources: a review. *Starch-Stärke*, 72(11-12), 1900234.
- Hyatt, J. R., Zhang, S., & Akoh, C. C. (2021). Comparison of antioxidant activities of selected phenolic compounds in O/W emulsions and bulk oil. *Food Chemistry*, 349, 129037.
- Idrovo Encalada, A. M., Basanta, M. F., Fissore, E. N., De'Nobili, M. D., & Rojas, A. M. (2016). Carrot fiber (CF) composite films for antioxidant preservation: Particle size effect. *Carbohydrate Polymers*, 136, 1041–1051. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.109>
- Ji, Q., Yu, X., Yagoub, A. E. G. A., Chen, L., Mustapha, A. T., & Zhou, C. (2021). Enhancement of lignin removal and enzymolysis of sugarcane bagasse by ultrasound-assisted ethanol synergized deep eutectic solvent pretreatment. *Renewable Energy*, 172, 304–316. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.03.050>
- Jia, F., Yang, S., Ma, Y., Gong, Z., Cui, W., Wang, Y., Wang, W. (2020). Extraction optimization and constipation-relieving activity of dietary fiber from *Auricularia polytricha*, *Food Bioscience*, 33, 100506.
- Jiang, J., Chen, J., & Xiong, Y. L. (2009). Structural and emulsifying properties of soy protein isolate subjected to acid and alkaline pH-shifting processes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(16), 7576-7583.
- Jiménez-Hernández, J., Salazar-Montoya, J. A., & Ramos-Ramírez, E. G. (2007). Physical, chemical and microscopic characterization of a new starch from chayote (*Sechium edule*) tuber and its comparison with potato and maize starches. *Carbohydrate polymers*, 68(4), 679-686.
- Johansen, D. A. (1940). Plant microtechnique. *Plant microtechnique.*, (First Ed).
- Joshi, M., Adhikari, B., Aldred, P., Panozzo, J. F., Kasapis, S., & Barrow, C. J. (2012). Interfacial and emulsifying properties of lentil protein isolate. *Food Chemistry*, 134(3), 1343–1353. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.029>
- Ju, D., Mu, T. hua, & Sun, H. nan. (2017). Sweet potato and potato residual flours as potential nutritional and healthy food material. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(11), 2632–2645. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61601-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61601-5)
- Karaca, A. C., Low, N., & Nickerson, M. (2011). Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food research international*, 44(9), 2742-2750.
- Kaya, E., Tuncel, N. B., & Yılmaz Tuncel, N. (2017). The effect of ultrasound on some properties of pulse hulls. *Journal of Food Science and Technology*, 54(9), 2779–2788. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2714-5>
- Keegstra, K. (2010). Plant cell walls. *Plant Physiology*, 154(2), 483–486. <https://doi.org/10.1104/pp.110.161240>
- Keskin, S. O., Ali, T. M., Ahmed, J., Shaikh, M., Siddiq, M., & Uebersax, M. A. (2022). Physico-chemical and functional properties of legume protein, starch, and dietary fiber—A review. *Legume Science*, 4(1), e117.

- Kim, M. Y., Lee, B. W., Lee, H. U., Lee, Y. Y., Kim, M. H., Lee, J. Y., ... & Kim, H. J. (2019). Phenolic compounds and antioxidant activity in sweet potato after heat treatment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(15), 6833-6840.
- Koch, M., Naumann, M., Pawelzik, E., Gransee, A., & Thiel, H. (2020). The importance of nutrient management for potato production Part I: Plant nutrition and yield. *Potato research*, 63(1), 97-119.
- Komaiko, J. S., & McClements, D. J. (2016). Formation of food-grade nanoemulsions using low-energy preparation methods: A review of available methods. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 15(2), 331-352.
- Lan, G., Chen, H., Chen, S., Tian, J. Chemical composition and physicochemical properties of dietary fiber from *Polygonatum odoratum* as affected by different processing methods. (2012) Food Research International. Volume 49, November 2012, Pages 406-410
- Leidi, E. O., Altamirano, A. M., Mercado, G., Rodriguez, J. P., Ramos, A., Alandia, G., Sørensen, M. & Jacobsen, S. E. (2018). Andean roots and tubers crops as sources of functional foods. *Journal of Functional Foods*, 51, 86-93.
- Li, H.T., Chen, S.Q., Bui, A.T., Xu, B. & Dhital, S. (2021). Natural 'capsule' in food plants: cell wall porosity controls starch digestion and fermentation. *Food Hydrocolloids*, 117, 106657.
- Li, S., Chen, G., Qiang, S., Tang, D., Chen, Y., Zhang, Z., ... & Chen, Y. (2019). Intensifying soluble dietary fiber production and properties of soybean curd residue via autoclaving treatment. *Bioresource technology reports*, 7, 100203.
- Liang, H. N., & Tang, C. H. (2013). PH-dependent emulsifying properties of pea [*Pisum sativum* (L.)] proteins. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 309–319. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.04.005>
- Lin, F., You, Y., Yang, X., Jiang, X., Lu, Q., Wang, T., ... & Lu, B. (2017). Microwave-assisted facile synthesis of TEMPO-oxidized cellulose beads with high adsorption capacity for organic dyes. *Cellulose*, 24, 5025-5040.
- Lopak, S.S., Meryandini, A. & Sunarti, T.C. (2020). Dietary fibre production from cassava pulp fibre using *Actinomyces cellulase*. *International Food Research Journal*, 27, 702–711.
- López, O. V., Viña, S. Z., Pachas, A. N., Sisterna, M. N., Rohatsch, P. H., Mugridge, A., ... & García, M. A. (2010). Composition and food properties of *Pachyrhizus ahipa* roots and starch. *International journal of food science & technology*, 45(2), 223-233.
- López, O. V. (2011). Tesis doctoral: “*Desarrollo, caracterización y aplicación de envases biodegradables a partir de almidón.*” Universidad Nacional de La Plata.
- López, O. V., & García, M. A. (2012). Starch films from a novel (*Pachyrhizus ahipa*) and conventional sources: Development and characterization. *Materials Science and Engineering C*, 32(7), 1931–1940. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.05.035>
- López, O. V., Viña, S.Z. & García, M.A. (2012). *Pachyrhizus ahipa*: Revalorización de un cultivo ancestral, Eds. O.V. López, M.A. García, & S.Z. Viña: Editorial Académica Española. 181.
- Lovera, M., Pérez, E., & Laurentin, A. (2017). Digestibility of starches isolated from stem and root tubers of arracacha, cassava, cush–cush yam, potato and taro. *Carbohydrate polymers*, 176, 50-55.
- Luo, X., Wang, Q., Fang, D., Zhuang, W., Chen, C., Jiang, W., & Zheng, Y. (2018). Modification of insoluble dietary fibers from bamboo shoot shell: Structural characterization and functional properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 1461–1467. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.09.149>
- Luo, X., Wang, Q., Zheng, B., Lin, L., Chen, B., Zheng, Y., & Xiao, J. (2017). Hydration properties and binding capacities of dietary fibers from bamboo shoot shell and its hypolipidemic effects in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 1003–1009. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2017.02.029>
- Lupano, C. E. (2013). Modificaciones de componentes de los alimentos: cambios químicos y bioquímicos por procesamiento y almacenamiento.

- Ma, M., & Mu, T. (2016). Effects of extraction methods and particle size distribution on the structural, physicochemical, and functional properties of dietary fiber from deoiled cumin. *Food Chemistry*, 194, 237–246. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.07.095>
- Machado, P. P., Steele, E. M., da Costa Louzada, M. L., Levy, R. B., Rangan, A., Woods, J., ... & Monteiro, C. A. (2020). Ultra-processed food consumption drives excessive free sugar intake among all age groups in Australia. *European Journal of Nutrition*, 59(6), 2783-2792.
- Makkar, H. P., Siddhuraju, P., & Becker, K. (2007). Plant secondary metabolites. *Methods Mol Biol*, 393, 1-122.
- Maniglia, B. C., & Tapia-Blácido, D. R. (2019b). Structural modification of fiber and starch in turmeric residue by chemical and mechanical treatment for production of biodegradable films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 507–516. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.206>
- Manthei, A., López-Gámez, G., Martín-Belloso, O., Elez-Martínez, P., & Soliva-Fortuny, R. (2023). Relationship between Physicochemical, Techno-Functional and Health-Promoting Properties of Fiber-Rich Fruit and Vegetable By-Products and Their Enhancement by Emerging Technologies. *Foods*, 12(20), 3720.
- Maréchal, Y., & Chanzy, H. (2000). *The hydrogen bond network in I b cellulose as observed by infrared spectrometry*. www.elsevier.nl/locate/molstruc
- Martín, C., Wei, M., Xiong, S., & Jönsson, L. J. (2017). Enhancing saccharification of cassava stems by starch hydrolysis prior to pretreatment. *Industrial Crops and Products*, 97, 21–31. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.11.067>
- Martinez-Solano, K. C., Garcia-Carrera, N. A., Tejada-Ortigoza, V., García-Cayuela, T., & Garcia-Amezquita, L. E. (2021). Ultrasound application for the extraction and modification of fiber-rich by-products. *Food Engineering Reviews*, 13(3), 524-543.
- McClements D J (1999). *Food Emulsions: principles, practice and techniques*. Ed. CRC Press, New York (USA)
- McClements, D.J., (2004). Protein-stabilized emulsions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 9, 305–313
- McClements, D. J., & Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(4), 285-330.
- McHugh, T. (2016). Putting ultrasound to use in food processing. *Food Technol*, 12, 16.
- Mierczyńska, J., Cybulska, J., Pieczywek, P. M., & Zdunek, A. (2015). Effect of storage on rheology of water-soluble, chelate-soluble and diluted alkali-soluble pectin in carrot cell walls. *Food and bioprocess technology*, 8, 171-180.
- Milanez, C. R., & Moraes-Dallaqua, M. A. (2003). Ontogênese do sistema subterrâneo de *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi (Fabaceae). *Brazilian Journal of Botany*, 26, 415-427.
- Ministerio de Salud de la Nación. (2017). Documento de consenso de enfermedad celíaca. Disponible en http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000001142cnt-documento_de_consenso_2017.pdf. Accedido el 14 de julio de 2020.
- Montagnac, J. A., Davis, C. R., & Tanumihardjo, S. A. (2009). Nutritional value of cassava for use as a staple food and recent advances for improvement. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 8(3), 181-194.
- Moore, S.A., Ai, Y., Chang, F. & Jane, J.L. (2015). Effects of alpha-amylase reaction mechanisms on analysis of resistant-starch contents. *Carbohydrate Polymers*, 115, 465–471.
- Morales de la Peña M.M., Odriozola-Serrano I., Oms-Oliu G., Martín-Belloso O. (2020). Dietary Fiber in Fruits and Vegetables. En: Welti-Chanes J., Serna-Saldívar S., Campanella O., Tejada-Ortigoza V. (eds). *Science and Technology of Fibers in Food Systems*. Food Engineering Series. Springer, Cham.
- Morgan, N. K., & Choct, M. (2016). Cassava: Nutrient composition and nutritive value in poultry diets. *Animal Nutrition*, 2(4), 253-261.

- Mudgil, D., & Barak, S. (2013). Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 61, pp. 1–6). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.06.044>
- Mudgil, D. (2017). The interaction between insoluble and soluble fiber. In *Dietary fiber for the prevention of cardiovascular disease* (pp. 35-59). Academic Press.
- Nabeshima, E. H., Moro, T. M., Campelo, P. H., Sant'Ana, A. S., & Clerici, M. T. P. (2020). Tubers and roots as a source of prebiotic fibers. In *Advances in food and nutrition research* (Vol. 94, pp. 267-293). Academic Press.
- Napasirth, V., Napasirth, P., Sulinthone, T., Phommachanh, K., & Cai, Y. (2015). Microbial population, chemical composition and silage fermentation of cassava residues. *Animal Science Journal*, 86(9), 842-848.
- Nardini, M. (2022). Phenolic Compounds in Food: Characterization and Health Benefits. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27030783>
- Nations, U., of Economic, D., Affairs, S., & Division, P. (n.d.). *World Population Prospects 2019 Highlights*.
- Ngouémazong, E. D., Christiaens, S., Shpigelman, A., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2015). The emulsifying and emulsion-stabilizing properties of pectin: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 705-718.
- Niba, L. L., Bokanga, M. M., Jackson, F.L., Santayana, M., Rossel, G., Núñez, J., Valencia G., F. E., Román M., M. O. 2006. Caracterización fisicoquímica y funcional de tres concentrados comerciales de fibra dietaria. *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica Volumen 13 número 2*, 54-60.
- Nilusha, R. A. T., Jayasinghe, J. M. J. K., Perera, O. D. A. N., Perera, P. I. P., & Jayasinghe, C. V. L. (2021). Proximate composition, physicochemical, functional, and antioxidant properties of flours from selected cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties. *International journal of food science*, 2021.
- Nilsson, L., & Bergenståhl, B. (2006). Adsorption of hydrophobically modified starch at oil/water interfaces during emulsification. *Langmuir*, 22(21), 8770-8776.
- Niu, H., Wang, W., Dou, Z., Chen, X., Chen, X., Chen, H., & Fu, X. (2023). Multiscale combined techniques for evaluating emulsion stability: A critical review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 311, 102813.
- Nguyen, H. H., & Savage, G. P. (2020). Oxalate bioaccessibility in raw and cooked rhubarb (*Rheum Rhabarbarum* L.) during in vitro digestion. *Journal of Food Composition and Analysis*, 94, 103648.
- Novák, P., & Havlíček, V. (2016). Protein extraction and precipitation. In *Proteomic profiling and analytical chemistry* (pp. 51-62). Elsevier.
- Nwokocha, L. M., & Ogunmola, G. B. (2014). Colour of starch-iodine complex as index of retrogradability of starch pastes. *Afr. J. Pure Appl. Chem*, 8, 89-93.
- Nyam, K. L., Lau, M., & Tan, C. P. (2013). Fibre from pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds and rinds: physico-chemical properties, antioxidant capacity and application as bakery product ingredients. *Malaysian Journal of Nutrition*, 19(1), 99-110. PMID:24800388.
- Oke, O. L., Redhead, J., & Hussain, M. A. (1990). Roots, tubers, plantains and bananas in human nutrition. *FAO food and nutrition series*, 24.
- Oliveira, J. P. de, Bruni, G. P., Lima, K. O., Halal, S. L. M. El, Rosa, G. S. da, Dias, A. R. G., & Zavareze, E. da R. (2017). Cellulose fibers extracted from rice and oat husks and their application in hydrogel. *Food Chemistry*, 221, 153–160. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.048>
- Ong, V. Z., & Wu, T. Y. (2020). An application of ultrasonication in lignocellulosic biomass valorisation into bio-energy and bio-based products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 132. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109924>
- Ortiz, D. G., Pochat-Bohatier, C., Cambedouzou, J., Bechelany, M., & Miele, P. (2020). Current trends in Pickering emulsions: Particle morphology and applications. *Engineering*, 6(4), 468-482.

- Ozturk, B., & McClements, D. J. (2016). Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions. *Current Opinion in Food Science*, 7, 1-6.
- Pandey, A., Soccol, C. R., Nigam, P., Soccol, V. T., Vandenberghe, L. P., & Mohan, R. (2000). Biotechnological potential of agro-industrial residues. II: cassava bagasse. *Bioresource technology*, 74(1), 81-87.
- Pandey, K. K., & Pitman, A. J. (2003). FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 52(3), 151–160. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(03\)00052-0](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(03)00052-0)
- Park, S. H., Hanning, I., Gilbert, W., Munro, M., Devareddy, L., & Ricke, S. C. (2013). Feeding mice aged and fresh blackberries powder supplements result in shifts in the gastrointestinal microflora. *Food Bioscience*, 1, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.02.003>
- Pathiraja, D., Wanasundara, J. P., Elessawy, F. M., Purves, R. W., Vandenberg, A., & Shand, P. J. (2023). Water-soluble phenolic compounds and their putative antioxidant activities in the seed coats from different lentil (*Lens culinaris*) genotypes. *Food Chemistry*, 407, 135145.
- Pérez-Uz, B., de Silóniz, M. I., Torralba, B., & Vázquez, C. (2011). Metodología de esterilización en el laboratorio microbiológico. *Reduca (Biología)*, 3(5).
- Perrin, J., Pouyet, F., Chirat, C., & Lachenal, D. (2014). *Formation of Carbonyl and Carboxyl Groups on Cellulosic Pulps: Effect on Alkali Resistance*.
- Piermaria, J., Bosch, A., Pinotti, A., Yantorno, O., Garcia, M. A., & Abraham, A. G. (2011). Kefiran films plasticized with sugars and polyols: water vapor barrier and mechanical properties in relation to their microstructure analyzed by ATR/FT-IR spectroscopy. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1261–1269. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.11.024>
- Polthanee, A., Janthajam, C., & Promkhambut, A. (2014). Growth, yield and starch content of cassava following rainfed. *Int. J. Agric. Res*, 9, 319-324.
- Ponnusamy, V. K., Nguyen, D. D., Dharmaraja, J., Shobana, S., Banu, J. R., Saratale, R. G., Chang, S. W., & Kumar, G. (2019). A review on lignin structure, pretreatments, fermentation reactions and biorefinery potential. In *Bioresource Technology* (Vol. 271, pp. 462–472). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.070>
- Porfiri, M. C., Vaccaro, J., Stortz, C. A., Navarro, D. A., Wagner, J. R., & Cabezas, D. M. (2017). Insoluble soybean polysaccharides: Obtaining and evaluation of their O/W emulsifying properties. *Food Hydrocolloids*, 73, 262-273.
- Proserpio, C., Bresciani, A., Marti, A., & Pagliarini, E. (2020). Legume flour or bran: Sustainable, fiber-rich ingredients for extruded snacks? *Foods*, 9(11). <https://doi.org/10.3390/foods9111680>
- Ramos, A. da S., Verçosa, R. de M., Teixeira, S. M. L., & Teixeira-Costa, B. E. (2020). Calcium oxalate content from two amazonian amilaceous roots and the functional properties of their isolated starches. *Food Science and Technology (Brazil)*, 40(3), 705–711. <https://doi.org/10.1590/fst.18419>
- Rashid, B., Leman, Z., Jawaid, M., Ghazali, M. J., & Ishak, M. R. (2016). Physicochemical and thermal properties of lignocellulosic fiber from sugar palm fibers: effect of treatment. *Cellulose*, 23(5), 2905–2916. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-1005-z>
- Raungrusmee, S. & Anal, A.K. (2019). Effects of Lintnerization, autoclaving, and freeze-thaw treatments on resistant starch formation and functional properties of Pathumthani 80 Rice starch. *Food*, 8, 558.
- Ravera, F., Dziza, K., Santini, E., Cristofolini, L., & Liggieri, L. (2021). Emulsification and emulsion stability: The role of the interfacial properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 288, 102344.
- Redgwell, R. J., & Fischer, M. (2005). Dietary fiber as a versatile food component: An industrial perspective. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(6), 521-535.
- Renard, C. M., & Thibault, J. F. (1993). Structure and properties of apple and sugar-beet pectins extracted by chelating agents. *Carbohydrate Research*, 244(1), 99-114.

- Rinaldo, D. (2020). Carbohydrate and bioactive compounds composition of starchy tropical fruits and tubers, in relation to pre and postharvest conditions: A review. In *Journal of Food Science* (Vol. 85, Issue 2, pp. 249–259). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15002>
- Ringuelet, J. A., & Viña, S. Z. (2013). *Productos naturales vegetales*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP).
- Rodríguez-Navarro, D. N., Camacho, M., Daza, A., Santamaría, C., Temprano, F., Lourenço, A. P. M. S., & Leidi, E. (2000). Symbiotic performance of Bradyrhizobium sp.[*Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi] strains under controlled conditions. In *4th European Nitrogen Fixation Conference, Sevilla* (Spain) (p. 315).
- Rosell, C. M., Santos, E., & Collar, C. (2009a). Physico-chemical properties of commercial fibres from different sources: A comparative approach. *Food Research International*, 42(1), 176–184. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2008.10.003>
- Rosell, C. M., Santos, E., & Collar, C. (2009b). Physico-chemical properties of commercial fibres from different sources: A comparative approach. *Food Research International*, 42(1), 176–184. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2008.10.003>
- Ross, A. B., Savage, G. P., Martin, R. J., & Vanhanen, L. (1999). Oxalates in oca (new zealand yam)(*Oxalis tuberosa* Mol.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(12), 5019-5022.
- Saba, B., Bharathidasan, A. K., Ezeji, T. C., & Cornish, K. (2023). Characterization and potential valorization of industrial food processing wastes. *Science of The Total Environment*, 868, 161550.
- Salawu, S. O., Udi, E., Akindahunsi, A. A., Boligon, A. A., & Athayde, M. L. (2015). Antioxidant potential, phenolic profile and nutrient composition of flesh and peels from Nigerian white and purple skinned sweet potato (*Ipomea batatas* L.). *Pelagia Research Library Asian Journal of Plant Science and Research*, 5(5), 14–23. www.pelagiaresearchlibrary.com
- Salem, M. A., Mansour, H. E. A., Mosalam, E. M., El-Shiekh, R. A., Ezzat, S. M., & Zayed, A. (2023). Valorization of by-products Derived from Onions and Potato: Extraction Optimization, Metabolic Profile, Outstanding Bioactivities, and Industrial Applications. *Waste and Biomass Valorization*, 1-36.
- Sánchez-Alonso, I., Jiménez-Escrig, A., Saura-Calixto, F., Borderías, A.J., 2007. Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. *Food Chem.* 101 (1), 372–378. doi:10.1016/j.foodchem.2005.12.058
- Sanyang, M. L., Ilyas, R. A., Sapuan, S. M., & Jumaidin, R. (2018). Sugar palm starch-based composites for packaging applications. *Bionanocomposites for packaging applications*, 125-147.
- Scott, G. J. (2021). A review of root, tuber and banana crops in developing countries: past, present and future. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(3), 1093-1114.
- Serra-Majem, L., & Bautista-Castaño, I. (2015). Relationship between bread and obesity. *British Journal of Nutrition*, 113(Suppl. 2), S29-S35. <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114514003249> PMID:26148919. <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114514003249>
- Sharif, H. R., Williams, P. A., Sharif, M. K., Abbas, S., Majeed, H., Masamba, K. G., Safdar, W., & Zhong, F. (2018). Current progress in the utilization of native and modified legume proteins as emulsifiers and encapsulants – A review. *Food Hydrocolloids*, 76, 2–16. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.002>
- Sharpton, S. R., Schnabl, B., Knight, R., & Loomba, R. (2021). Current Concepts, Opportunities, and Challenges of Gut Microbiome-Based Personalized Medicine in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. In *Cell Metabolism* (Vol. 33, Issue 1, pp. 21–32). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.11.010>
- Siddiqui, H., Sultan, Z., Yousuf, O., Malik, M., & Younis, K. (2023). A review of the health benefits, functional properties, and ultrasound-assisted dietary fiber extraction. In *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* (Vol. 30). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2023.100356>
- Sim, S. Y. J., Srv, A., Chiang, J. H., & Henry, C. J. (2021). Plant proteins for future foods: A roadmap. In *Foods* (Vol. 10, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods10081967>

- Singh, A. K., Mishra, S., & Singh, J. K. (2019). Underwater superoleophobic biomaterial based on waste potato peels for simultaneous separation of oil/water mixtures and dye adsorption. *Cellulose*, 26, 5497-5511.
- Singh, B., Singh, J., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2020). Phenolic compounds in potato (*Solanum tuberosum* L.) peel and their health-promoting activities. *International journal of food science & technology*, 55(6), 2273-2281.
- Singh, L., Kaur, S., Aggarwal, P., & Kaur, N. (2023). Characterisation of industrial potato waste for suitability in food applications. *International Journal of Food Science & Technology*, 58(5), 2686-2694.
- Sivam, A. S., Sun-Waterhouse, D., Quek, S., & Perera, C. O. (2010). Properties of bread dough with added fiber polysaccharides and phenolic antioxidants: A review. *Journal of food science*, 75(8), R163-R174.
- Sousa-Baena, M. S., & Onyenedum, J. G. (2022). Bouncing back stronger: Diversity, structure, and molecular regulation of gelatinous fiber development. *Current Opinion in Plant Biology*, 67, 102198.
- Strack, K. N., Dini, C., Garcia, M. A., & Viña, S. Z. (2021). Effect of thermal and ultrasonic treatments on technological and physicochemical characteristics of fibrous residues from ahipa and cassava starch extraction. *Future Foods*, 4, 100057.
- Stupak, M., Vanderschuren, H., Gruissem, W., & Zhang, P. (2006). Biotechnological approaches to cassava protein improvement. *Trends in Food Science & Technology*, 17(12), 634-641.
- Suárez-Eiroa, B., Fernández, E., Méndez-Martínez, G., & Soto-Oñate, D. (2019). Operational principles of circular economy for sustainable development: Linking theory and practice. *Journal of Cleaner Production*, 214, 952-961.
- Subiria-Cueto, R., CORIA-OLIVEROS, A. J., Wall-Medrano, A., Rodrigo-Garcia, J., GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A., MARTINEZ-RUIZ, N. D. R., & Alvarez-Parrilla, E. (2021). Antioxidant dietary fiber-based bakery products: a new alternative for using plant-by-products. *Food Science and Technology*, 42.
- Sun, M., Mu, T., Zhang, M., & Arogundade, L. A. (2012). Nutritional assessment and effects of heat processing on digestibility of Chinese sweet potato protein. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26(1–2), 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.03.008>
- Sutherland, J. M., & Sprent, J. I. (1984). Calcium-oxalate crystals and crystal cells in determinate root nodules of legumes. *Planta*, 161, 193-200.
- Szymanska-Chargot, M., & Zdunek, A. (2013). Use of FT-IR Spectra and PCA to the Bulk Characterization of Cell Wall Residues of Fruits and Vegetables Along a Fraction Process. *Food Biophysics*, 8(1), 29–42. <https://doi.org/10.1007/s11483-012-9279-7>
- Taiz & Zeiger, Cell Walls: Structure, Biogenesis, and Expansion, en: *Plant Physiology*, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, United States, 2002, pp. 313-338.
- Tamang, N., Shrestha, P., Khadka, B., Mondal, M. H., Saha, B., & Bhattarai, A. (2021). A review of biopolymers' utility as emulsion stabilizers. *Polymers*, 14(1), 127.
- Tan, C., & McClements, D. J. (2021). Application of advanced emulsion technology in the food industry: A review and critical evaluation. *Foods*, 10(4), 812.
- Tejada-Ortigoza, V., Garcia-Amezquita, L. E., Serna-Saldívar, S. O., & Welti-Chanes, J. (2016). Advances in the functional characterization and extraction processes of dietary fiber. *Food Engineering Reviews*, 8, 251-271.
- Téllez-Morales, J. A., Hernández-Santo, B., & Rodríguez-Miranda, J. (2020). Effect of ultrasound on the techno-functional properties of food components/ingredients: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 61(August 2019). <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104787>
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of cereal science*, 39(2), 151-165.
- Thomas, D. J., & Atwell, W. A. (1999). Starch structure. *Starches*, 1-11.

- Udoro, E. O., Anyasi, T. A., & Jideani, A. I. O. (2020). Characterization of the root and flour of South African *Manihot esculenta* Crantz landraces and their potential end-use properties. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 820-838.
- Ullah, I., Yin, T., Xiong, S., Huang, Q., Zia-ud-Din, Zhang, J., & Javaid, A. B. (2018). Effects of thermal pre-treatment on physicochemical properties of nano-sized okara (soybean residue) insoluble dietary fiber prepared by wet media milling. *Journal of Food Engineering*, 237, 18–26. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2018.05.017>
- Uset, O. A. "Mandioca, mucho más que chipá". (2011). Sitio Argentino de Producción animal
- Valenti, S., Corica, D., Ricciardi, L., & Romano, C. (2017). Gluten-related disorders: certainties, questions and doubts. In *Annals of Medicine* (Vol. 49, Issue 7, pp. 569–581). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/07853890.2017.1325968>
- Vasileva, I., Denkova, R., Chochkov, R., Teneva, D., Denkova, Z., Dessev, T., ... & Slavov, A. (2018). Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) and melissa (*Melissa Officinalis*) waste on quality and shelf life of bread. *Food Chemistry*, 253, 13-21.
- Vaz, A., Odriozola-Serrano, I., Oms-Oliu, G., & Martín-Belloso, O. (2022). Physicochemical Properties and Bioaccessibility of Phenolic Compounds of Dietary Fibre Concentrates from Vegetable By-Products. *Foods*, 11(17). <https://doi.org/10.3390/foods11172578>
- Venkidasamy, B., Selvaraj, D., Nile, A. S., Ramalingam, S., Kai, G., & Nile, S. H. (2019). Indian pulses: A review on nutritional, functional and biochemical properties with future perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 228-242.
- Versino, F., & García, M. A. (2014). Cassava (*Manihot esculenta*) starch films reinforced with natural fibrous filler. *Industrial Crops and Products*, 58, 305-314.
- Wang, C., Li, L., Sun, X., Qin, W., Wu, D., Hu, B., Raheem, D., Yang, W., Dong, H., Vasanthan, T., & Zhang, Q. (2019). High-speed shearing of soybean flour suspension disintegrates the component cell layers and modifies the hydration properties of okara fibers. *LWT*, 116, 108505. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108505>
- Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q., & Wang, S. (2015). Starch retrogradation: A comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5), 568-585.
- Wang, X., Purcaro, G., Fan, B., Tong, L. T., Liu, L., Sun, J., ... & Wang, L. (2023). Antioxidant dietary fibre: A structure-function journey. *Trends in Food Science & Technology*, 104305.
- Wani, S. M., Amin, S., Javaid, I., Masoodi, A., Mir, S. A., Ganai, S. A., & Yildiz, F. (2017). Minimal processing of tropical and subtropical fruits, vegetables, nuts and seeds. In F. Yildiz & R. C. Wiley (Eds.), *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables* (2nd ed., pp. 469–512). Food Engineering Series. Springer.
- Weber, C. T., Trierweiler, L. F., & Trierweiler, J. O. (2020). Food waste biorefinery advocating circular economy: Bioethanol and distilled beverage from sweet potato. *Journal of Cleaner Production*, 268, 121788.
- Wichrowska, D., & Szczepanek, M. (2020). Possibility of limiting mineral fertilization in potato cultivation by using bio-fertilizer and its influence on protein content in potato tubers. *Agriculture (Switzerland)*, 10(10), 1–16. <https://doi.org/10.3390/agriculture10100442>
- Xie, Y., Liu, H., Li, Y., Tian, J., Qin, X., Shabani, K. I., ... & Liu, X. (2020). Characterization of Pickering emulsions stabilized by OSA-modified sweet potato residue cellulose: Effect of degree of substitute and concentration. *Food Hydrocolloids*, 108, 105915.
- Yadav, M. P., Kale, M. S., Hicks, K. B., & Hanah, K. (2017). Isolation, characterization and the functional properties of cellulosic arabinoxylan fiber isolated from agricultural processing by-products, agricultural residues and energy crops. *Food Hydrocolloids*, 63, 545–551. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.022>

- Yan, L., Liu, B., Liu, C., Qu, H., Zhang, Z., Luo, J., & Zheng, L. (2020). Preparation of cellulose with controlled molecular weight via ultrasonic treatment improves cholesterol-binding capacity. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(2). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14340>
- Yan, X., Ma, C., Cui, F., McClements, D. J., Liu, X., & Liu, F. (2020). Protein-stabilized Pickering emulsions: Formation, stability, properties, and applications in foods. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 103, pp. 293–303). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.005>
- Yang, H., Sun, Y., Cai, R., Chen, Y., & Gu, B. (2020). The impact of dietary fiber and probiotics in infectious diseases. *Microbial Pathogenesis*, 140, 103931.
- Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D.H. & Zheng, C. (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*, 86, 1781–1788.
- Zhang, X., Wang, Y., Lu, C., & Zhang, W. (2014). Cellulose hydrogels prepared from micron-sized bamboo cellulose fibers. *Carbohydrate Polymers*, 114, 166–169. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.08.012>
- Zhang, M., Xie, L., Yin, Z., Khanal, S. K., & Zhou, Q. (2016). Biorefinery approach for cassava-based industrial wastes: Current status and opportunities. *Bioresource technology*, 215, 50-62.
- Zhou, L., Zhang, J., Xing, L., & Zhang, W. (2021). Applications and effects of ultrasound assisted emulsification in the production of food emulsions: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 493-512.
- Zierer, W., Rüscher, D., Sonnewald, U., & Sonnewald, S. (2021). Tuber and tuberous root development. *Annual review of plant biology*, 72, 551-580.
- Zobel, H. F. (1988). Molecules to granules: a comprehensive starch review. *Starch-Stärke*, 40(2), 44-50.