

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HARINA DE SIETE VARIEDADES DE YUCA Y POLVILLO DE FIQUE POR MICROSCOPIA ÓPTICA DE ALTA RESOLUCIÓN -MOAR-**

**FLOUR MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SEVEN CASSAVA VARIETIES AND FIQUE DUST BY HIGH RESOLUTION LIGHT MICROSCOPY-HRLM-**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DA FARINHA DE SETE VARIEDADES DE MANDIOCA E POEIRA DE FIQUE POR MICROSCOPIA ÓPTICA DE ALTA RESOLUÇÃO -MOAR-**

DIANA PAOLA NAVIA<sup>1</sup>, HÉCTOR SAMUEL VILLADA<sup>2</sup>, GERARDO ANDRÉS TORRES<sup>3</sup>

**PALABRAS CLAVE:**

Microscopía, Morfología, Harina, Yuca, Fique.

**KEYWORDS:**

Microscopy, Morphology, Flour, Cassava, Fique.

**PALAVRAS-CHAVE:**

Microscopia, Morfologia, Farinha, Mandioca, Fique.

**RESUMEN**

Se evaluaron las características morfológicas de siete variedades de harina nativa de yuca y polvillo de fique. Las muestras fueron dispersadas en albúmina de huevo, posteriormente extendidas sobre placas de vidrio y teñidas con azul de toluidina para su observación al microscopio. Se usó la técnica de microscopía óptica de alta resolución (MOAR) por contraste diferencial de interferencia (DIC), para observar las muestras y caracterizar las imágenes. Se encontraron en las harinas gránulos de almidón esféricos y semiesféricos algunos con formas truncadas, y estructuras fibrosas de diferentes formas. En el polvillo de fique se observaron microfibrillas longitudinales en forma de cintas, celdas y espirales. Este estudio permitió caracterizar la morfología de las materias primas estudiadas, cuya información es punto de partida para la continuidad de su uso en el campo de los materiales biodegradables.

**ABSTRACT**

Morphological characteristics of seven varieties of native cassava flour and fique dust were evaluated. The samples were dispersed in egg albumen, then spread on glass plates and stained with toluidine blue for observation under the microscope. High resolution light microscopy technique (HRLM) was used, with differential interference contrast (DIC) to observe the samples and characterize the image. Spherical and hemispherical starch granules, truncated and some with fibrous structures in different ways, were found

Recibido para evaluación: 20/10/2010. Aprobado para publicación: 20/11/2010

1 Ingeniera Agroindustrial, Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo CYTBIA. Popayán-Colombia

2 Ph.D Ingeniería de Alimentos. Docente Titular. Universidad del Cauca, Facultad Ciencias Agropecuarias, Departamento de Agroindustria. Popayán-Colombia

3 Biólogo. Docente Asociado. Universidad del Cauca, Facultad Ciencias Exactas y de la Educación, Departamento de Biología. Popayán-Colombia

in flour. In fique dust longitudinal microfibrils were observed in the form of tapes, cells and spirals. This study allowed to characterize the morphology of the raw materials studied, whose information is the starting point for its continued use in the field of biodegradable materials.

## RESUMO

Nós avaliamos as características morfológicas de sete variedades de farinha de mandioca nativas e pó de fique. As amostras foram dispersas em albumina de ovo, em seguida, espalhar sobre placas de vidro e corados com azul de toluidina para observação ao microscópio. Utilizamos a técnica de microscopia de alta resolução de luz (HRLM) com contraste de interferência diferencial (DIC) de observar as amostras e caracterizar as imagens. Foram encontradas no amido de farinha de grãos esféricos e hemisférica, truncada e com algumas estruturas fibrosas de diferentes maneiras. Em microfibrilas poeira fique longitudinal foram observados sob a forma de fitas, e as células em espiral. Este estudo permitiu caracterizar a morfologia das matérias-primas estudadas, cuja informação é o ponto de partida para a sua utilização continuada na área de materiais biodegradáveis.

## INTRODUCCIÓN

El interés de los investigadores a nivel mundial por la creación de nuevos materiales que reemplacen a los sintéticos de origen fósil, ha potenciado el uso de recursos naturales que permitan la elaboración de una gran diversidad de artículos biodegradables [1] tales como bolsas, platos, vasos y otros implementos que contribuyan a disminuir la problemática ambiental actual generada por la dificultad en la disposición final de los desechos sólidos [2, 3, 4].

En este sentido, los recursos renovables como las harinas y almidones obtenidos a partir de raíces y tubérculos como la papa, yuca y arracacha, o también de fuentes como el plátano, el trigo y amaranto, entre otros, están siendo ampliamente investigados [5]. Por otra parte, las fibras naturales como el sisal, fique [6], yute, coco [7], madera [8] se usan como refuerzos en la elaboración de materiales termoplásticos biodegradables, dado que cumplen con requisitos mínimos de biodegradabilidad, además generan beneficios funcionales (incremento de las propiedades mecánicas) a los materiales mencionados [9, 10]. En Colombia, la fibra de fique y harina de yuca son cultivados de forma sostenible, y se consideran materias primas potenciales para su aplicación en la producción de materiales biodegradables.

El comportamiento de estas materias primas en los procesos térmicos y mecánicos a los que son sometidas, está estrechamente relacionado con sus propiedades

fisicoquímicas y estructurales, y estas a su vez están influenciadas por las variaciones en las condiciones climáticas, tipo de suelo y variedades, entre otros [11, 12, 13, 14, 15]. Las características micro-estructurales de estos materiales son importantes porque permiten potencializar las aplicaciones de los mismos en el campo de los biopolímeros, dilucidando aspectos como la influencia del tamaño, forma, presencia de fracturas o daños de las estructuras, en el desempeño de nuevos biomateriales desarrollados a partir de estos. Por ello, se busca aumentar la base tecnológica sobre el manejo y adecuación de dichas materias primas, y conocer la microestructura, dada su importancia en el uso y adecuación por su funcionalidad en el desarrollo de materiales biodegradables.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la morfología de las siete variedades de harina de yuca y la fibra de fique por medio de microscopía óptica de alta resolución (MOAR).

## MÉTODO

Harina de yuca. Suministrada por Rallandería La Agustina, fue obtenida de la molienda de trozos secos de raíces de yuca de las variedades CM 4574-7, CM 523-7, CM 7951-5, HMC 1, MBRA 383, MPER 183 y NATAIMA 31. Las muestras de cada variedad fueron molidas en molino de martillos (marca Penagos, TP8) y tamizadas usando un juego de tamices (Tyler, USA Standard Testing Sneeve ASTM E-11) y tamizadora eléctrica (Motor Siemens, IRF IP23).

Polvillo de fique. El polvillo seco, fue molido en molino de martillos (marca Penagos, TP8) y tamizado usando un juego de tamices (Tyler, USA Standard Testing Sneve ASTME-11) y tamizadora eléctrica. Este material fue suministrado por la empresa Empaques del Cauca (Popayán, Cauca, Colombia).

Montaje de muestras. Se mezcló 0.1g de muestra de harina en 2ml de albúmina de huevo previamente filtrada. La dispersión se homogeneizó por medio de ultrasonido usando un equipo (Branson Ultrasonics 1200, USA) durante tres minutos. Posteriormente se realizó un extendido de la mezcla sobre porta objetos limpios y secos. Al cabo de 90 minutos, se aplicó solución de azul de toluidina sobre la muestra seca para teñir las estructuras y facilitar su identificación microscópica. Una vez fijado el colorante, se realizaron las observaciones directamente al microscopio. El montaje para las muestras de fibra de fique parte de dispersiones con 0.05g en 2 ml de albúmina de huevo; este procedimiento es similar al tratamiento realizado a la harina. Tanto para muestras de harina como de fibra de fique se realizó un montaje de 30 a 50 placas para realizar la captura de imágenes.

Captura de imágenes. Se realizó mediante el uso de un microscopio óptico (Nikon eclipse 80i, Japón) acoplado a cámara digital (Nikon DS-2Mv 2Mp, Japón), a través de la técnica de campo claro. Para cada variedad de harina nativa se capturaron entre 15 a 20 fotomicrografías con objetivo de 10x con la técnica de Campo Claro (CC) y entre 40 y 70 fotomicrografías con objetivo de 40X con la técnica de Contraste Diferencial de Interferencia (DIC). Para fibra de fique se capturaron

25 fotomicrografías con objetivo de 10x. Las imágenes fueron capturadas a distintos planos focales para su procesamiento y análisis.

Procesamiento y análisis de imágenes. El software Image Pro- Plus Analyzer (Versión 6.3, 2008), fue usado para realizar la composición de las imágenes, con las cuales se realizó el análisis cualitativo de las microestructuras presentes en las muestras tanto de harinas como de polvillo de fique.

## RESULTADOS

Harina nativa de yuca. A continuación se presentan algunas de las fotomicrografías capturadas con objetivos de 10x y 40x (Figuras 1 a 3) y procesadas para las variedades de harina, en las que se observan fibras longitudinales y amorfas y gránulos de almidón de formas redondas y truncadas.

En las figuras 1 a 3, se muestran las estructuras presentes en las diferentes variedades de harina nativa de yuca estudiadas. En general se observan dos tipos de estructuras comunes: fibras y gránulos de almidón.

Las fibras, teñidas de color azul-violeta por acción del colorante usado (azul de toluidina), tienen formas longitudinales alargadas y amorfas no alargadas. Como se muestra en las fotomicrografías anteriores, hay mayor número de gránulos de almidón por número de fibra(s) encontrada(s) en cada captura, esto es porque el contenido de fibra en las harinas estudiadas es muy

Figura 1. Harina nativa de yuca variedad CM 4574-7

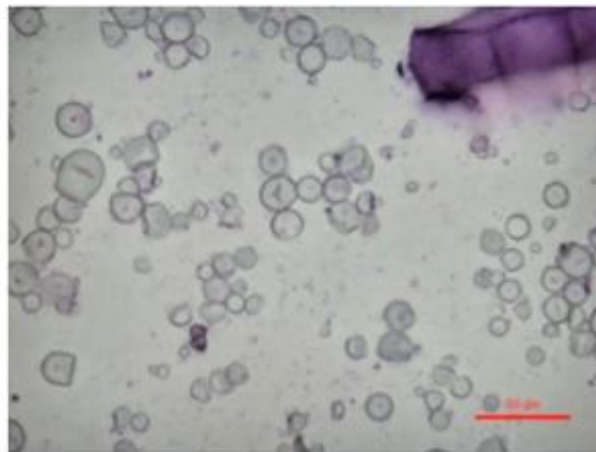
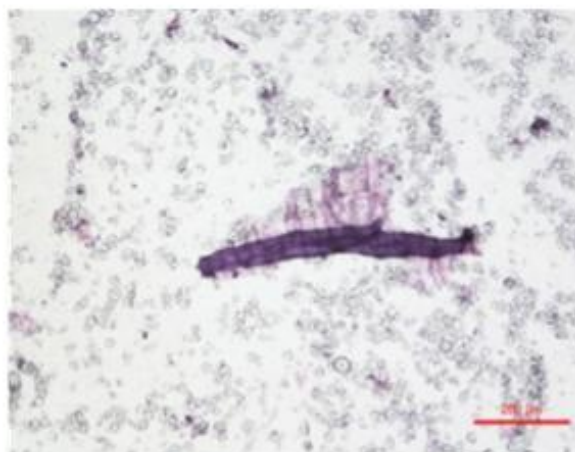


Figura 2. Harina nativa de yuca variedad CM 7951-5

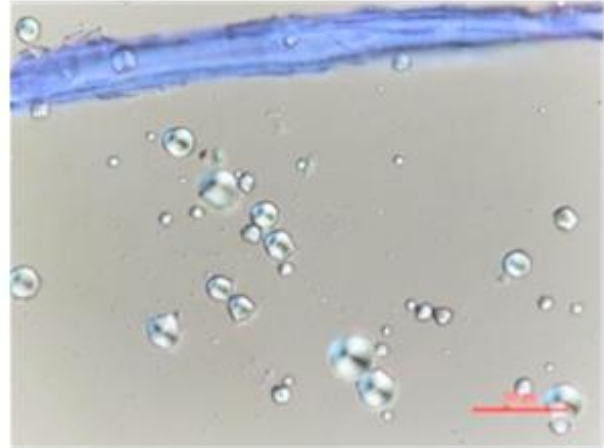
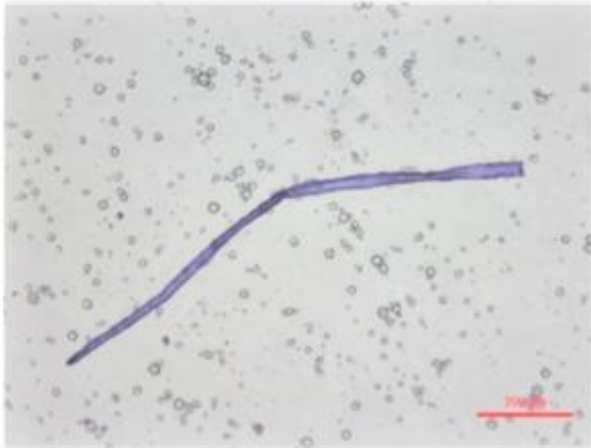
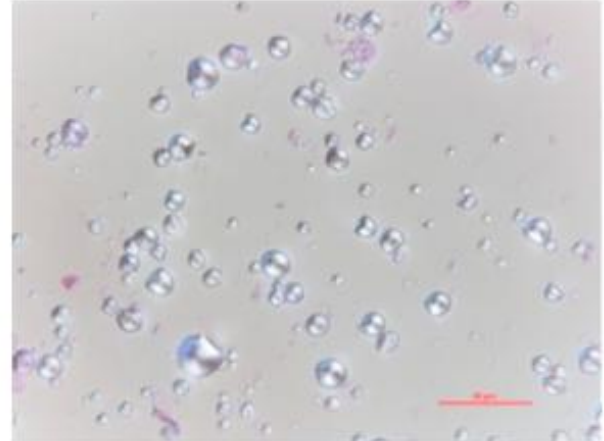
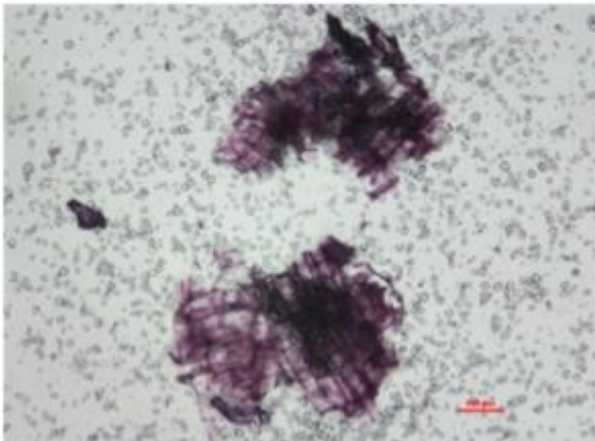


Figura 3. Harina nativa de yuca variedad MBRA 383

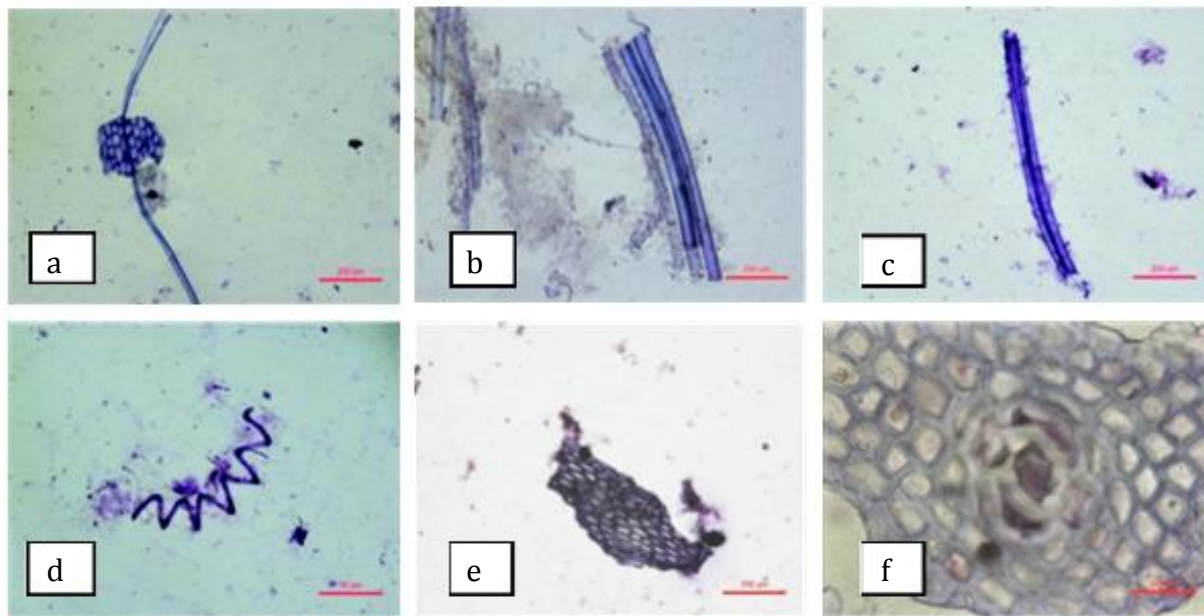


bajo, entre 1.7 y 2.7% B.H. (base húmeda), comparado con el contenido de almidón, entre 75 y 85% B.H. de acuerdo al análisis proximal realizado a las variedades objeto de estudio. Estudios previos reportaron que el contenido de fibra en la harina de yuca se encuentra generalmente entre 2-3% [16], y el contenido de almidón representa el  $84\% \pm 1.4$  [17]. Un reciente estudio sobre raíces de yuca [18] analiza su anatomía por microscopía de luz usando azul de toluidina y muestra cuatro tipos de tejidos: el esclerénquima, parénquima, xilema secundario y primario. Las fibras alargadas (Fig.1 y 2) hacen parte del tejido del esclerénquima, el cual se caracteriza por presentar fibras con largas secciones longitudinales [18]. Las fibras amorfas, que se presentan como secciones o partes de tejidos (Fig. 3), hacen parte del parénquima; otros autores [18], reportaron imágenes con morfologías similares de este tejido en raíces de yuca.

Los gránulos de almidón presentan formas esféricas y semiesféricas- tal como lo reportan otros estudios de morfología de almidón de yuca [19]- algunos de ellos con características truncadas mostradas como superficies planas sobre uno o varios lados del gránulo. Tales características fueron reportadas en otros estudios, para almidón de yuca [20, 21, 22, 23, 24, 25].

Fibra de fique. La figura 4 muestra imágenes de las estructuras presentes en la fibra de fique. Se observan microfibrillas alargadas delgadas en forma de cintas (Fig. 4a, 4c), tejidos en forma de celdas (Fig. 4a, 4e, 4f) y estructuras espirales (Fig. 4b, 4d). En estudios realizados sobre compuestos basados en rellenos lignocelulósicos [26], se han localizado estructuras en forma de espiral y tubulares como las encontradas para fibra de fique. La diversidad de formas se debe al gran impacto de los procesos de fraccionamiento industrial

Figura 4. Fotomicrografías fibra de fique. Imagen capturada con objetivo 10x(a, b, c, e), y objetivo 40x (d, f)



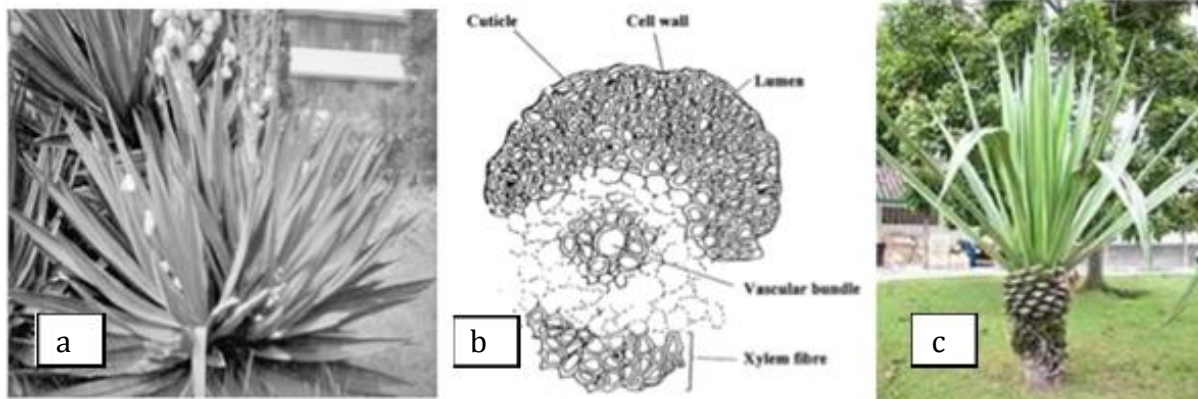
en los tejidos de la planta [26], en particular por los procesos de extracción de la fibra desde el tejido de la hoja de la cabuya (planta de donde proviene el fique) [27]. La fibra de fique es a menudo confundida con la fibra de sisal, por su gran similitud, sin embargo la planta de donde proviene cada una tiene origen botánico diferente (Ver Fig. 5c).

Las hojas de sisal, contienen tres tipos de fibras: mecánicas extraídas de la periferia de la hoja, cintas extraídas de la parte media de la hoja y fibras del xilema con forma de celdas irregulares, como se muestra en la figura 5(a-b). Estas últimas se componen de células de pared delgada y, por lo tanto son susceptibles de destruir y eliminarse durante el proceso de extracción.

Las estructuras amorfas en forma de celdas (Fig. 4a, 4e, 4f), observadas en la fibra de fique son cortes o partes de la sección transversal de las fibras que probablemente hacen parte del tejido xilemático, caracterizado por tener forma poligonal con un espacio en el centro o lumen, típico en fibras naturales vegetales. Estructuras similares en forma de celdas fueron halladas en fibras de okra (*Abelmoschus esculentus*) [28].

El fique ó cabuya es una planta que hace parte de las *Furcraeas* (*Furcraea* spp.) [29]. Los componentes principales de las fibras naturales como el fique, son celulosa, hemicelulosa, lignina, pectinas y algunas ceras.

Figura 5. Planta de sisal (a y b) [27] y fique (c) [31]



De acuerdo con los reportes de otros autores [30], la estructura de una biofibra está compuesta por tres capas, la capa intermedia consiste en una serie de microfibrillas celulares helicoidales formadas por moléculas de celulosa. Estas microfibrillas pueden tener forma espiral o paralela al tejido. En las imágenes capturadas, se observan ambos tipos de fibras, tanto helicoidales como alargadas en forma de cintas.

Las fibras vegetales son más dúctiles si las microfibrillas tienen una orientación de caracol hasta el eje de la fibra, mientras que si las microfibrillas están orientadas en paralelo al eje de fibras, las fibras son rígidas, e inflexibles y son altamente resistentes ante una fuerza [30].

## CONCLUSIONES

La morfología de las estructuras de la fibra de fique, presenta similitudes con otras fibras naturales estudiadas como la fibra de sisal. De igual manera la caracterización morfológica de los gránulos de almidón presentes en las harinas de yuca estudiadas, se asemeja con reportes en este mismo campo por diversos investigadores. En general se estableció que la morfología de las microestructuras de las harinas nativas de yuca estudiadas presentaron afinidad entre ellas. Las estructuras fibrosas de las harinas son similares a las presentadas en las muestras de polvillo de fique. La caracterización morfológica por microscopía óptica en este estudio, permitió integrar las bases para una futura selección de las variedades de harina estudiadas, cuyo destino será la elaboración de materiales poliméricos biodegradables.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad del Cauca por sus recursos, al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y al Centro Regional de Productividad e Innovación del Cauca.

## REFERENCIAS

- [1] MARTINS, I. et al. New biocomposites based on thermoplastic starch and bacterial cellulose, *Compos Sci Technol.*, 69 (13), 2163-2168, 2009.
- [2] SAIAH, R. et al. Fabrication and Characterization of 100% Green Composite: Thermoplastic Based on Wheat Flour reinforced by Flax Fibers, *Poly Composite.*, 30(11), 1595-1600, 2009. [3]
- VILLADA, H.; ACOSTA, H. y VELASCO, R. Biopolímeros naturales usados en empaques biodegradables. *Temas Agrarios*, 12(2), 5-13, 2007. [4]
- KALE, G.; AURAS, R. and SINGH, S. Comparison of the degradability of poly (lactide) packages in composting and ambient exposure conditions, *Packag Technol Sci.*, 20(1), 49-70, 2007. [5]
- TESTER, R.; and KARKALAS, J. and XIN, Q. Starch—composition, fine structure and architecture, *J Cereal Sci.*, 39 (22), 151-165, 2004. [6]
- LUNA, G.; VILLADA, H. and VELASCO, R. Fique's fiber reinforced thermoplastic starch of cassava: preliminary, *Dyna*, 76(159), 145-151, 2009. [7]
- PEREZ, M. Elaboración de matrices de polímeros reciclados reforzados con fibras de la estopa del coco y determinación de sus propiedades físicas y mecánicas. Tesis pregrado. Guatemala (Guatemala): Universidad de San Carlos, 2008. [8]
- BLEDZKI, A. and FARUK, O. Injection moulded microcellular wood fibre-polypropylene composites, *Compos Part A- Appl S*, 37(9), 1358-1367, 2006.
- [9] MA, X.; YU, J. and KENNEDY, J. Studies on the properties of natural fibers-reinforced thermoplastic starch composites, *Carbohydr Polym.*, 62(1): 19-24, 2005.
- [10] JOHNSON, M. et al. Improvement of the impact performance of a starch based biopolymer via the incorporation of *Miscanthus giganteus* fibres, *Ind Crop Prod.*, 22(3), 175-186, 2005.
- [11] CORREIA, P.; LEITA, A. and BEIRÃO-DA-COSTA, M. Effect of drying temperatures on chemical and morphological properties of acorn flours, *Int J Food Sci Tech*, 44(9), 1729-173, 2009.
- [12] LI, G.; SARAZIN, P. and FAVIS, B. The relationship between starch gelatinization and morphology control in melt-processed polymer blends with thermoplastic starch, *Macromol Chem Physic.*, 209(10), 991-1002, 2008.
- [13] AGAMA-ACEVEDO, E. et al. Physicochemical and biochemical characterization of starch granules isolated of pigmented maize hybrids, *Starch/Stärke*, 60(8), 433-441, 2008.
- [14] LAN, W. et al. Morphological, physicochemical and textural properties of starch separated from chinese water chestnut, *Starch/Stärke*, 60(3-4), 181-191, 2008.
- [15] GUNARATNE, A. and HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches, *Carbohydr Polym.*, 49(4), 425-437, 2002

- [16] MOORTHY, S. Physicochemical and functional properties of tropical tuber starches: a review, *Starch/Stärke*, 54(12), 559-592, 2002.
- [17] RODRÍGUEZ, E. et al. Starch retrogradation in cassava flour from cooked parenchyma, *Starch/Stärke*, 60(3-4), 174-180, 2008.
- [18] TEERAWANICHPAN, P. et al. Influence of cassava storage root development and environmental conditions on starch granule size distribution, *Starch/Stärke*, 60(12), 696-705, 2008.
- [19] ALVIS, A. et al. Análisis físico-químico y morfológico de almidones de ñame, yuca y papa y determinación de la viscosidad de las pastas, *Inf Tecnol.*, 19(1), 19-28, 2008.
- [20] GOMAND, S. et al. Structural properties and gelatinization characteristics of potato and cassava starches and mutants thereof, *Food Hydrocolloid.*, 24(4), 1-11, 2010.
- [21] HONGSPRABHAS, P.; ISRAKARN, K. and RATANAWATTANAPRAKIT, C. Architectural changes of heated mungbean, rice and cassava starch granules: Effects of hydrocolloids and protein-containing envelope, *Carbohydr Polym.*, 67(4), 614-622, 2007.
- [22] FAO. Guía técnica para producción de almidón de yuca. Boletín de servicios agrícolas de la FAO No.163; 2007.
- [23] MISHRA S. and RAI, T. Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches, *Food Hydrocolloid.*, 20(5), 557-566, 2006.
- [24] GONZÁLEZ, Z. y PÉREZ, E. Evaluación fisicoquímica y funcional de almidones de yuca (*Manihot esculenta crantz*) pregelatinizados y calentados con microondas, *Acta Cient Venez.*, 54(2), 127-137, 2003.
- [25] Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT. La yuca en el tercer milenio. Taxonomía y morfología de la yuca (Capítulo 2). Publicación CIAT No. 327; 2002.
- [26] AVÉROUS, L. and LE DIGABEL, F. Properties of biocomposites based on lignocellulosic fillers, *Carbohydr Polym.*, 66(4), 480-493, 2006.
- [27] LI, Y.; MAI, Y-W. and YE, L. Sisal fibre and its composites: a review of recent developments, *Compos Sci Technol.*, 60 (11), 2037-2055, 2000.
- [28] DE ROSA, I. et al. Morphological, thermal and mechanical characterization of okra (*Abelmoschus esculentus*) fibres as potential reinforcement in polymer composites, *Compos Sci Technol.*, 70(1), 116-122, 2010.
- [29] Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. La cadena del fique en Colombia. Documento de trabajo No. 123. Observatorio Agrocadenas Colombia. Bogotá: El Ministerio; 2006.
- [30] MAYA, J. and SABU, T. Biofibres and biocomposites, *Carbohydr Polym.*, 71(3) 343-364, 2008.
- [31] Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Acuerdo para el fomento de la producción y la competitividad del subsector del fique. Corpoica-IICA. Bogotá: El Ministerio; 2004.