

Hidrólisis enzimática de *chenopodium quinoa willd* “quinua”, determinando sus parámetros cinéticos: ph, temperatura y concentración de sustrato.

“Enzymatic hydrolysis of *chenopodium quinoa willd* “quinua”, determining its kinetic parameters: ph, temperature and concentration of substrate”

Terry Calderón, Víctor Manuel¹

Recibido, diciembre 2014
Aceptado, abril 2015

RESUMEN

Se Teniendo en cuenta que un producto, como la “quinua” es lo suficientemente nutritivo y digerible; es necesario que tenga un grado de hidrólisis que permita solubilizar la proteína, almidón, fibras, etc. cambiando sus propiedades organolépticas para hacerlo más aceptable y aprovechable. Por ello la investigación se orientó a determinar los parámetros cinéticos de pH, temperatura y concentración de sustrato que permitan el proceso de hidrólisis de harina de “quinua” en una proporción de 1 en 10 partes de agua, previamente gelatinizada, a la cual se le adicionó una suspensión de enzimas equivalente a 1,5g/1000 g (50% de alpha amilasa y 50 % de proteasa). Con lo cual se logro solubilizar las proteínas y reducir el almidón a azúcares reductores, obteniéndose un producto líquido a una concentración promedio del 8,5 %, que fue posteriormente concentrado a 45 % de sólidos totales. El proceso de hidrólisis permite obtener sobre la base de 1 kilo de harina de “quinua” el 80 a 85 % de material hidrolizado del 20 al 15 % de residuos celulósicos, proteínas e hidratos de carbono, no digeribles por las enzimas. Las experiencias realizadas dieron como resultado

¹ Docente de la Universidad Le Cordon Bleu, Ing. Pesquero

los valores óptimos 10,0% concentración de sustrato; 60° C de temperatura; 5.0 pH y concentración de enzimas: 1,5 g/ 1000 g. El sistema permite obtener sobre una base de cálculo de 1 kilo, los siguientes valores % de proteínas hidrolizadas: 74,00; % de azúcares reductores: 94,00.

Palabras clave: "quinua"; cereal; hidrolizados proteicos.

ABSTRACT

The process of hydrolysis was carried out on a suspension of quinoa flour in water in a proportion of 1 in 10 parts of water, previously gelatinized, to which was added an equivalent suspension of enzymes of 1,5 g/1000 g (50% of alpha amylase and 50% protease). With that, proteins were solubilized and starch was reduced to reducing sugars, obtaining a liquid product at an average concentration of 8,5% that was later concentrated to 45% of total solids. The hydrolysis process allows, on the basis of 1 kg of quinoa flour, to obtain 80 to 85% of hydrolyzed material from 20 to 15% of cellulosic residue, proteins and carbohydrates, non-digestible by the enzymes. The experiences that were carried out brought as results the following optimum values of kinetic parameters: Concentration of substrate: 10,0 %; Temperature: 60 °C; pH: 5,0 and enzyme concentration: 1,5 g/ 1000 g. The system allows on the basis of 1 kg, the following values: percentage of hydrolyzed proteins: 74,00%; percentage of reducing sugars: 94,00%

Key words: quinua; cereal; hydrolyzed proteins

INTRODUCCIÓN

La "quinua" es autóctona de la región andina de características nutricionales importantes, donde su contenido de metionina y lisina es aproximadamente el doble que el de otros cereales. Este cereal también se destaca por su contenido de potasio, fósforo y calcio, se le considera como fuente de vitamina E. (Bravo, 1997). La "quinua" al ser suspendida en agua y sometida a tratamiento térmico (cocción), sufre el efecto de gelatinización, con un gran incremento de su viscosidad, lo que muchas veces no permite mezclarse con bebidas justamente por su alta viscosidad, es por eso que debe recurrir a los procesos de hidrólisis a fin de solubilizar las proteínas hacia péptidos y el almidón en azúcares reductores solubles en agua lo cual dejaría como residuo la fibra (desecho celulósico).

Esto nos indica que proceso de hidrólisis cambia sus propiedades físicas y químicas incluyendo sus cualidades organolépticas, haciéndolas más aceptables, debido a los cambios significativos en el olor y sabor, cuando este producto se encuentra solubilizado (Illanes, 1994). El hidrolizado enzimático ayuda en el aprovechamiento de sus cualidades, teniendo en cuenta la importancia que tiene en países con desnutrición proteica-energética (Arias, 2002). En Colombia se ha venido estudiando la composición química, comportamiento y adaptación de variedades pertenecientes a Bolivia y Perú, considerándose importante realizar estudios de los macro y micro elementos. (FAO/OMS, 1994), es importante obtener este derivado, el mismo que va a permitir adicionar a ciertos productos de alto consumo, como son las bebidas de zumo

de fruta, las mismas que se enriquecen con este aditivo.

Las condiciones de operación para un hidrolizado van a depender específicamente de la temperatura, pH, relación enzima/sustrato, del tipo y concentración de enzima y concentración del sustrato así como las características exigibles al hidrolizado (Illanes, 1994). La utilización de proteasas inmovilizadas y el empleo de reactores de ultrafiltración son procesos que se encuentran a escala de laboratorio y/o piloto, mientras que a nivel industrial se prefiere llevar a cabo la hidrólisis en tanques agitados con la enzima en disolución. (Rodríguez, 1994). En nuestro país se está generalizando el consumo de la quinua en diferentes formas como son principalmente en forma de harina, harina torrada, hojuelas etc., sin embargo no existe una mas

diversificación notoria (Villar, 2003). La presente investigación diseñará una nueva forma de presentación. El objetivo del presente estudio es determinar el rendimiento (material hidrolizado / materia prima) que se obtiene de la hidrólisis de la quinua, así como sus principales parámetros cinéticos, como son: el tiempo, temperatura, pH., concentración de enzima y sustrato. A fin de utilizarlo como una bebida a la que podemos denominar de segunda generación en mezcla con zumos de frutas exóticas (CamúCamú, maracuyá, carambola), para próximas investigaciones

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales y equipos

La investigación se efectuó en el Laboratorio de multipropósito de la Universidad Le Cordon Bleu y la quinua en forma de harina fue adquirida en el Mercado Mayorista de Lima. Teniendo un tamaño de muestra de

10 kilos, sobre la cual se muestrea para la obtención de los ensayos de determinación de los principales parámetros de la hidrólisis enzimática.

Vasos, tubos de ensayo, pipetas 0,5, 1,5, 10, 15, 20 ml espátulas. balanza analítica, refractómetro. papel Whatman, envases de vidrio capacidad 360 ml. Equipos del laboratorio de multipropósito fiolas, balones de digestión, placas petri, termo, centrífuga, estufa, mufla, molino, y tamices

Enzimas: Alpha amilasa fúngica, Proteasa (proteasa neutra obtenida por fermentación sumergida) obtenida del *Aspergillus oryzae* (Amilasa fungica purificada obtenida por fermentación sumergida), (Granotec – Perú)

Fehling A y B, para la determinación de azúcares reductores.

Análisis:

- Determinación de Azúcares Reductores (DE), método de Fehling.

$$DE = \frac{AR}{A} \cdot 100$$

AR: contenido de azúcares reductores. A: contenido inicial de hidratos de carbono

- Determinación de proteínas, grasa, humedad y hidratos de carbono

- Determinación de las constantes cinéticas (pH, temperatura y concentración de enzimas)

La aplicación del método de investigación al presente estudio de investigación se

programo en base a un diseño experimental conformado por los siguientes items:

a. La unidad experimental.- La unidad experimental está conformada por una suspensión en agua de harina de quinua en una proporción de 1 parte de harina de quinua y 10 partes de agua blanda. Esta unidad experimental fue tratada térmicamente (temperatura de gelatinización 85 °C) a fin de acondicionar el almidón contenido en la quinua para el tratamiento posterior con las enzimas. Terminada la gelatinización las unidades experimentales fueron sometidas a una operación de enfriamiento con lo cual se redujo la temperatura a 40 °C. Con la unidad experimental y con la temperatura adecuada, se procedió a adicionar una suspensión de enzimas conformadas por la proteasa y la alphaamilasa. Con lo cual la unidad experimental se coloca en una estufa a la temperatura de hidrólisis por un tiempo definido.

b.Tratamientos.-

Tratamiento 1: Determinar la temperatura óptima de hidrólisis, para lo cual se programo tres temperaturas 30, 40 y 50 °C, aplicadas a las respectivas unidades experimentales, por un tiempo definido.

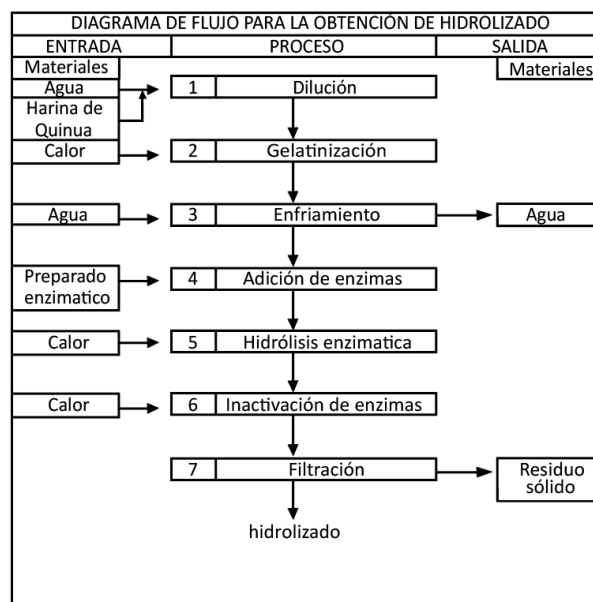
Tratamiento 2: La mejor respuesta del tratamiento 1, se le acondiciono el pH, a tres niveles 5, 6 y 7 respectivamente.

Tratamiento 3: A la mejor respuesta del tratamiento 1 y del tratamiento 2, se le adiciono tres concentraciones de enzimas (proteasas y alphaamilasas, en la proporción 1:1), la concentraciones definidas fueron las siguientes: 0,5 g/1000g , 1,0g /1000 g, y 1,5 g/1000 g

c. Las variables respuesta.-

La variable respuesta para cada uno de los tratamiento fue la evaluación del contenido de dextrosa equivalente (DE) utilizando el método de Fehling para azucares reductores.

Figura 1. Proceso de hidrólisis de la harina de quinua



DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Gelatinización por tratamiento térmico:

Estando la harina de quinua y al agua en una perfecta mezcla, se procedió a tratamiento térmico con el objetivo de acondicionar el almidón por efecto de la temperatura de forma tal que las enzimas puedan proceder a la ruptura de los respectivos enlaces entre sus monómeros, para llegar a azúcares reductores

Enfriamiento: El material que fue gelatinizado se encontraba a una temperatura de 90 °C, por lo que fue necesario enfriar el material hasta 40°C, por inmersión del recipiente en agua.

Adición de enzimas: Terminado el enfriamiento se procede a adicionar la dilución de enzima proteolítica, con la α amilasa en concentraciones previstas en los tratamientos.

Hidrólisis enzimática: Habiéndose adicionado las enzimas a la harina de quinua gelatinizada e enfriada se procede al proceso de hidrólisis, colocando el material en la respectiva estufa de temperatura programada, y por un tiempo dado, acuerdo al programa de trabajo.

Inactivación de enzimas: terminada la hidrólisis enzimática se procede a inactivar las enzimas, para lo cual se elevó la temperatura del medio hasta 75 °C, temperatura a la cual se inactivan estas enzimas.

Filtración: Después de la inactivación de las enzimas por calor, se procede a separar la fase sólida (residuo sólido) que no ha sido afectada por las enzimas y la fase líquida que contenía material soluble, como fueron proteínas diluidas y azúcares reductores de cadena corta.

Figura 2. Secuencia de procesos realizados para la obtención del hidrolizado.

1. Harina de quinua. 2. Harina de quinua gelatinizada. 3. Enzimas proteolíticas y α amilasa. 4. Adición de enzimas a la masa gelatinada. 5. Hidrolizado de quinua. 6. Muestras de quinua hidrolizada. 7. Reactivos de Fehling. 8. Hidrolizado filtrado. 9. Residuo sólido.



RESULTADOS

Valor promedio de análisis proximal de la harina de quinua

La composición proximal promedio del recurso se presenta en la tabla 1

TABLA 1. Composición proximal de harina de quinua

Componentes	%
Proteínas	13,00
Grasas	6,10
Hidratos de carbono	71,00
Humedad	9,00

Obtención del hidrolizado de quinua Determinación de la temperatura en el hidrolizado de quinua

De acuerdo a la programación se efectuaron tres tratamiento a tres temperaturas diferentes (30, 40 y 50 °C), la suspensión de harina y de agua fue de 1 parte de harina de quinua y 10 partes de agua blanda a un pH de 6,5 y con una concentración de enzimas del 1,5 g /1000 g (50 % de proteasa y 50 % de alpha amilasa). Contabilizándose el contenido de dextrosa equivalente enfuncióntiempo. Los resultados se observan en la table 2

TABLA 2. Efecto de la temperatura en la hidrólisis de la quinua

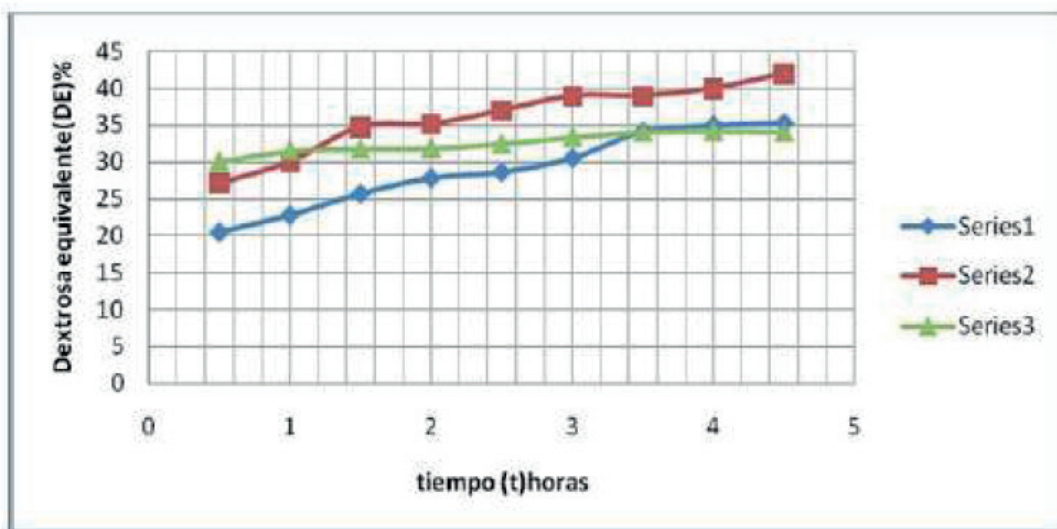
Tiempo	Tratamiento	Tratamiento	Tratamiento
hora	1	2	3
	30°C	40°C	50 °C
	Valor DE (%)	Valor DE (%)	Valor DE (%)
0,5	20,5	27,2	30,1
1,0	22,8	30,1	31,5
1,5	25,7	34,8	31,8
2,0	27,8	35,2	31,9
2,5	28,6	37,0	32,5
3,0	30,5	39,0	33,4
3,5	34,1	39,0	34,1
4,0	34,9	40,0	34,2
4,5	35,2	42,0	34,1

Los resultados muestran que la mejor temperatura fue a 40 °C donde el valor de dextrosa equivalente es DE = 42 %,

en la figura 3 se muestra las respectivas curvas de las experiencias realizadas a 30, 40 y 50 °C.

Figura 3. Efecto de la temperatura en la hidrólisis

Serie1: temperatura: 30°C; Serie 2: temperatura 40 °C; Serie 3: temperatura 50 °C



Determinación del pH

La unidades experimentales para este estudio fueron colocadas a una temperatura de 40 °C, con la misma proporción de harina de quinua y agua, con siguiente la variante, se realizo un ajuste de pH con ácido cítrico (pH:5) y hidróxido de sodio (pH:7). El pH de

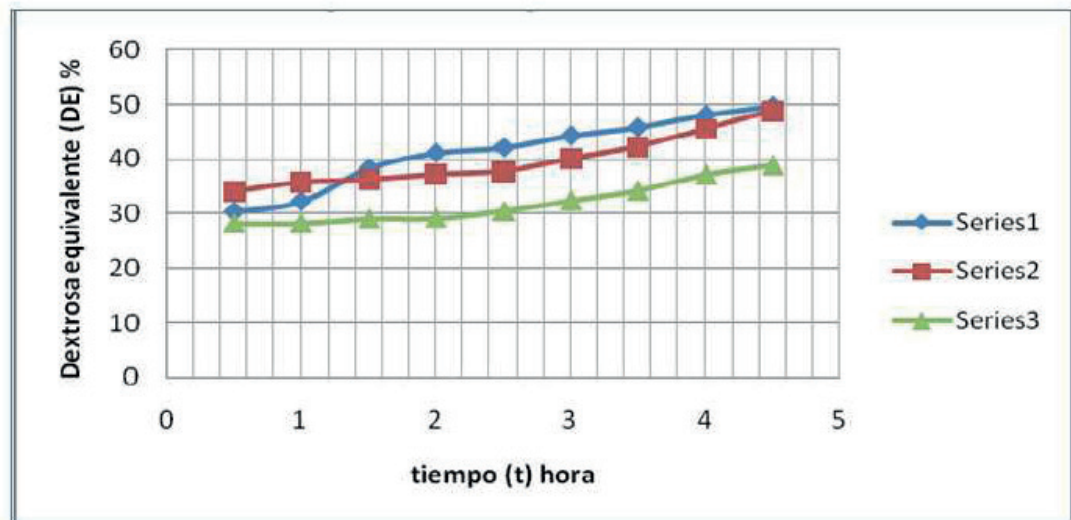
la suspensión es de 6,5 a un pH 7, Los resultados se muestra en la tabla 3.

Se puede apreciar que para un tratamiento de pH 5, se logra un equivalente de dextrosa DE = 49,75 %

TABLA 3. Efecto del pH en la hidrólisis de la quinua a una temperatura de 40 °C

Tiempo	Tratamiento pH:5	Tratamiento pH:6,5	Tratamiento pH:7
Hora	Valor DE (%)	Valor DE (%)	Valor DE (%)
0,50	30,3	34,1	28,3
1,00	32,2	35,8	28,3
1,50	38,3	36,3	29,1
2,00	41,1	37,2	29,2
2,50	42,1	37,8	30,5
3,00	44,3	40,1	32,4
3,50	45,8	42,3	34,2
4,00	48,1	45,5	37,1
4,50	49,7	48,8	38,8

Figura 4. Efecto del pH en la hidrólisis de la quinua a una temperatura de 40 °C
 Serie1: pH: 5,00; Serie2: 6,5; Serie3: pH: 7,00



Determinación de la concentración de enzimas.

Habiéndose determinado la temperatura y pH óptimos, se programó el respectivo estudio del efecto de la concentración de enzimas sobre la suspensión de harina de quinua y agua gelatinizada a un pH 5 y Temperatura de 40 °C. Las concentraciones de enzimas utilizadas fueron las siguientes:

0,5g /1000g, 1,0 g/1000 g y 1,5 g/1000 g donde el 50 % corresponde a proteasas y el 50% a alfaamilasa, el table 4, semuestra resultados de los ensayos realizados a diferentes concentraciones de la mezcla de enzima

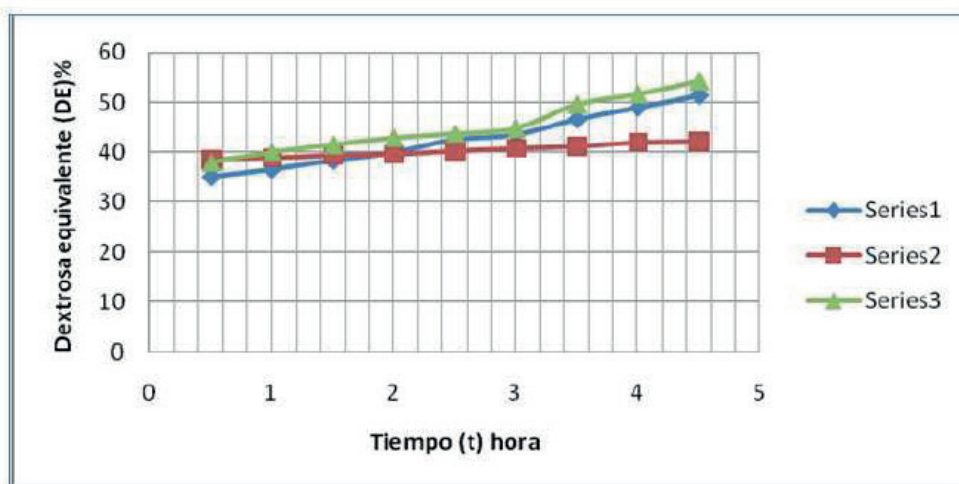
TABLA 4. Efecto de la concentración de enzimas en la hidrólisis de la quinua a una temperatura de 40 °C y pH 5

Tiempo	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
	Concentración	Concentración	Concentración
	Enzimas (0,5g/1000g)	Enzimas (1,0 g/1000g)	Enzimas (1,5 g/1000g)
hora	Valor DE (%)	Valor DE (%)	Valor DE (%)
0,5	35,0	38,4	37,9
1,0	36,5	38,8	39,9
1,5	38,3	39,3	41,4
2,0	39,9	39,5	42,8
2,5	42,5	40,2	43,6
3,0	43,5	40,7	44,7
3,5	46,6	41,1	49,5
4,0	49,0	41,9	51,6
4,5	51,4	42,1	54,2

Se puede apreciar que para una concentración de enzimas del 1,5g/1000g, se logra un equivalente de dextrosa de 54,20 %, en la figura 5 se muestra las curvas correspondientes a los ensayos con las concentraciones de enzimas programadas.

Figura 5. Efecto del pH en la hidrólisis de la quinua a una temperatura de 40 °C y concentración de enzimas.

Serie1: concentración de enzima 0,5g / 1000g; Serie2: concentración de enzimas 1,00g / 100; Serie3: concentración de enzimas 1,5g / 1000g



Composición química del hidrolizado filtrado:

TABLA 5. Composición química del producto final y del residuo (sobre base seca)

característica	base seca del filtrado	base seca del residuo
	g / 100 g	g / 100 g
Proteína	11,9	10,7
Grasa	3,5	9,8
fibra	-	10,5
Ceniza	2,1	1,2
Carbohidratos	82,3	67,7

Cálculo de proteínas y de hidratos de carbono en el filtrado

Basándonos en los resultados del balance de materiales y composición proximal de flujos de entrada y salida de las respectivas operaciones de hidrólisis de la harina de quinua, se procedió a efectuar los cálculos de proteínas y de hidratos de carbono.

Con esta base se pudo calcular el porcentaje de proteínas solubilizadas (% P) y porcentaje de hidratos de carbono como dextrosa (% HC), cuyos cálculos se muestran a continuación

TABLA 6. Recuperación de proteínas en concordancia con el balance de materia

Material	Kilos	Proteínas (%)	Proteína (kg)	Hidratos de carbono (%)	Hidratos de carbono (kg)
Harina de quinua	100,00	13,0	13,00	71,0	71,00
Filtrado	954,80	1,01	9,64	7,00	66,83

Base de cálculo 100 kilos de harina de quinua

Porcentaje de proteínas solubilizadas (% P)

$$\%P = \frac{9,64}{13,00} \cdot 100 = 74,00$$

Porcentaje de hidratos de Carbono solubilizados (%HC)

$$\%HC = \frac{66,83}{71,00} \cdot 100 = 94,10$$

DISCUSIÓN

El proceso de hidrólisis enzimático realizado en el presente trabajo provoca un cambio en sus propiedades físicas y químicas incluyendo sus cualidades organolépticas, haciéndolas más aceptables, debido a los cambios significativos en el olor y sabor, cuando este producto se encuentra solubilizado (Illanes, 1994).

El hidrolizado enzimático en experimentación cuenta con proteína hidrolizada que va permitir diseñar bebidas nutricias y además favorece el aprovechamiento de sus cualidades, teniendo en cuenta la importancia que tiene en países con desnutrición proteica-energética (Arias, 2002).

En Colombia se ha venido estudiando la composición química, comportamiento y adaptación de variedades pertenecientes a Bolivia y Perú, considerándose importante

realizar estudios de los macro y micro elementos. (FAO/OMS, 1994), es importante obtener este derivado, el mismo que va a permitir adicionar a ciertos productos de alto consumo, como son las bebidas de zumo de fruta, las mismas que se enriquecen con este aditivo. Con la obtención de una dilución de la harina de quinua por efecto de la hidrólisis permite la mezcla con zumos de frutas que son ricos en carotenos y vitamina C.

Las condiciones de operación para un hidrolizado van a depender específicamente de la temperatura, pH relación enzima/sustrato, del tipo y concentración de enzima y concentración del sustrato así como las características exigibles al hidrolizado (Illanes, 1994). El proceso de investigación realizado ha determinado los principales parámetros de hidrólisis, como son la temperatura de trabajo (40 C), pH(5,00) concentración de enzimas (1,5 g/1000g).

La utilización de proteasas inmovilizadas y el empleo de reactores de ultrafiltración son procesos que se encuentran a escala de laboratorio y/o piloto, mientras que a nivel industrial se prefiere el levacarobol hidrólisis en tanques agitados con la enzima en disolución. (Rodríguez, 1994) que concuerda con la experimentación realizada en un proceso realizado por lotes.

En nuestro país se está generalizando el consumo de la quinua en diferentes formas como son principalmente en forma de harina, harina torrada, hojuelas etc., sin embargo no existe una mas diversificación notoria (Villar,2003), pero mediante este trabajo es factible la utilización de la quinua como base para elaboración de bebidas nutricias.

CONCLUSIONES

La hidrólisis enzimática de *Chenopodium quinoa* "quinua" requiere de una concentración de sustrato del 10%, Ph de 5,0, temperature de 40°C, concentración de enzimas de 1,5 mg/1000 g

El rendimiento del hidrolizado de "quinua", empleando alphaamilasa y proteasafúngica, es de 85%, obteniendo un hidrolizado con un contenido de sólidos de 8,5 °Brix

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arias, M. 2002 Determinación del contenido proteico en mutantes de quinua. Tesis para optar al Título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Lima. Universidad Nacional Agraria La Molina.

Bravo, B. 1997 Estudio de la hidrólisis enzimática de la harina de quinua. Tesis para optar al Título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina.

AO/OMS 1994 Alimentos para regímenes especiales. Roma: Codex alimentarius

Illanes, A. 1994 Biotecnología de enzimas. Chile: Ediciones Universitarias de Valparaíso. Universidad Católica de Valparaíso.

Rodríguez, G. 1994 Obtención de jarabe de glucosa por el método

enzimático a partir de almidón de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*). Chimbote: Informe de investigación. Universidad Nacional del Santa.

Villar, A. 2003 Obtención de jarabe de *Amallanthus sonchifolius* "yacón". Tesis para optar al Título de Ingeniero Alimentario. Lima, Universidad Nacional Federico Villarreal.

CORRESPONDENCIA

Terry Calderón, Víctor Manuel
victor.terry@ulcb.edu.pe