

Obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de yuca *Manihot (esculenta Crantz)* y estudio comparativo entre los métodos de hidrólisis ácida y enzimática

“Getting glucose syrup from cassava starch *Manihot* and comparative study of the methods of acid and enzymatic hydrolysis”

¹Alicia Decheco Egúsquiza^a

Recibido, noviembre 2015

Aceptado, diciembre 2015

RESUMEN

Evalúa la hidrólisis del almidón de yuca al 30% p/v por el método de hidrólisis ácida y enzimática. En el proceso de hidrólisis ácida se evaluó el efecto de la concentración del ácido clorhídrico de 1%, 3% y 5% sobre el rendimiento del proceso de elaboración del jarabe de glucosa. Para la hidrólisis enzimática se empleó α amilasa fúngica al 1%. Existió diferencia significativa entre el porcentaje de azúcares reductores y porcentaje de equivalente de dextrosa (ED) medida para distintas temperaturas de licuefacción del almidón (65, 70 y 75°C) por la enzima α amilasa al 1%, siendo la temperatura de mayor actividad la de 70°C. Para la hidrólisis ácida existió diferencia significativa entre el porcentaje de azúcares reductores y porcentaje de equivalente de dextrosa (ED) medida para distintas concentraciones de ácido clorhídrico siendo la de 5% la que tuvo mayores rendimientos. Al comparar ambos tipos de hidrólisis se encontró que existe diferencia significativa entre el porcentaje de azúcares reductores y porcentaje de equivalente de dextrosa (ED) medida para la hidrólisis

¹ Universidad Le Cordon Bleu
^a Bióloga

ácida y enzimática del almidón de yuca, siendo la hidrólisis enzimática donde se obtuvo un producto de mayor valor agregado. Se definieron las condiciones de operación y las etapas del proceso.

Palabras clave: Almidón, Equivalente Dextrosa, Enzimas, Hidrólisis ácida y enzimática.

ABSTRACT

Starch hydrolysis cassava (*Manihot esculenta* Crantz) to 30% (w/v) was evaluated by the method of acid and enzymatic hydrolysis. In the acid hydrolysis process was evaluated effect of hydrochloric acid in concentrations of 1%, 3% and 5% on the performance of glucose syrup. For enzymatic hydrolysis fungal amylase α 1% was used. There was significant difference between the percentage of reducing sugars and percentage dextrose equivalent (DE) measured for different temperatures liquefaction starch (65, 70 and 75°C) by the α -amylase enzyme at 1%, with 70°C temperature increased activity. For acid hydrolysis significant difference between the percentage reducing sugars and ED percentage measured for various acid concentrations Hydrochloric being the 5% which had higher yields. Comparing both types of hydrolysis was found that there are significant differences between the percentage of sugars and reducing percentage of ED measure acidic and enzymatic hydrolysis of starch cassava, where the enzymatic hydrolysis being a product of greater value was obtained aggregate. Operating conditions and process steps defined.

Keywords: Starch, Dextrose Equivalent, Enzymes, enzymatic and acidic hydrolysis.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, en el Perú, los jarabes de glucosa se producen a partir de almidón de maíz a nivel industrial. Sin embargo, la producción nacional de maíz ya no es suficiente para cubrir las necesidades de consumo de los humanos y animales, y a la creciente demanda de las industrias farmacéuticas y de alimentos por jarabes, debido a esto, se han propuesto nuevas alternativas de materias primas para el aislamiento de almidón y su posterior utilización para la producción de jarabes.

Los jarabes de glucosa es uno de los productos de gran valor comercial que pueden sustituir a la sacarosa o azúcar de mesa, o pueden ser utilizados para la obtención de jarabes de fructosa. Son soluciones concentradas y purificadas de sacáridos nutritivos obtenidos

a partir de hidrólisis ácida o enzimática del almidón. (Anaya Vega, F. 2004).

Químicamente, el almidón es un polisacárido que está integrado por dos polímeros de diferente estructura: la amilosa y la amilopectina. Ambas son moléculas de alto peso molecular organizadas en gránulos semicristalinos (1-100 μm) y que influyen de manera determinante en las propiedades sensoriales y reológicas del almidón, principalmente en su capacidad de hidratación y gelatinización (Pingyi Zhang, 2005; Hongsheng Liu et. al. 2009).

El proceso de conversión de almidón gelatinizado a un jarabe glucosado generalmente está representado en 2 etapas: licuefacción y sacarificación.

La licuefacción señalan que en la hidrólisis ácida del almidón, el ácido penetra en la densa capa de macromoléculas, actuando solamente en la superficie accesible. Inicialmente se rompen los enlaces terminales de las moléculas y posteriormente los internos, provocando la disminución en el peso molecular y la viscosidad, cambiando el color de la solución e incrementando el poder reductor a medida que transcurre la reacción.

La hidrólisis de dispersiones de almidón, tanto con ácidos como con enzimas, produce maltodextrinas. Las maltodextrinas son descritas y clasificadas normalmente de acuerdo con su equivalencia en dextrosa (ED). Las maltodextrinas se definen como productos cuyos valores de ED son medibles, pero inferiores a 20. (Beltrán Mondragón A. D. y L. A. Herreño Téllez, 2010).

La producción de jarabes de glucosa y fructosa en nuestro país, es muy limitada ya que existen muy pocas compañías dedicadas a esta actividad cuya producción apenas abastece una parte mercado nacional y el resto se tiene que importar.

Como consecuencia de esto surge la necesidad de buscar alternativas eficaces para producir jarabe de glucosa. En el presente trabajo se destaca la importancia de evaluar un nuevo sustrato (yuca) pues está enfocado a la obtención de jarabes de glucosa a partir del almidón de yuca mediante hidrólisis ácida y enzimática que posea una calidad estandarizada, como parte de una industria rentable, sostenible y amigable ecológicamente se presenta cuando se emplea la enzima α -para su utilización en la industria alimentaria. amilasa (durante o después de gelatinizar el almidón), cortando las cadenas de los polímeros amilosa y amilopectina en cadenas de tamaño regular, dando como resultado dextrinas, maltosa, maltotriosa y maltopentosa. Para la producción de glucosa, se requiere de una segunda etapa consecutiva a la licuefacción denominada sacarificación, adicionando la enzima amiloglucosidasa (AMG) dando como principal producto la glucosa. (Anaya Vega, F. 2004) BeMiller James and Roy Whistler (2009),

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra

Se trabajó con un lote de 25 kg de yuca, para evaluar la hidrólisis del almidón de yuca por el método de hidrólisis ácida y enzimática.

Unidad experimental

Estuvo conformada por almidón de yuca que se obtuvo en condiciones de laboratorio para tener suficiente cantidad para las pruebas de hidrólisis ácida y enzimática.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y las medias testadas mediante la prueba de Tukey al 5% para determinar si entre los niveles de cada factor hay diferencias significativas, las variables de respuesta fueron % de azúcares reductores, % de Equivalente de dextrosa (ED) y rendimiento de jarabe medida para la hidrólisis ácida y enzimática del almidón.

Procedimiento

Los diagramas de flujo del proceso de Hidrólisis ácida y enzimática aplicado al almidón para obtener el jarabe y las fotografías se muestran en la figura 1, 2 y 3.

Figura 1. Diagrama del proceso de Hidrólisis acida aplicado al almidón de Yuca.



Figura 2. Diagrama de proceso de Hidrólisis enzimática aplicado al almidón de Yuca.

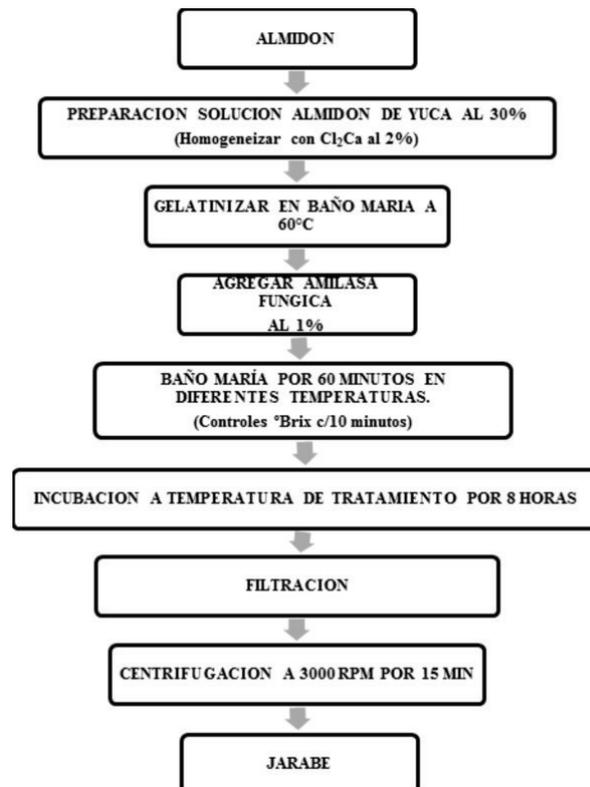


Figura 3. Fotografías del desarrollo del proceso de hidrólisis del almidón.**Prueba de determinación de Porcentaje de Azúcares Reductores**

Para la determinación cuantitativa del contenido de azúcares reductores se utilizó el método volumétrico de Eynon-Lane (NTP 203.002-1979 y NTP 208.102:2014).

Prueba de determinación de Porcentaje de Equivalente de dextrosa (ED).

La cuantificación de ED se realizó tomando como base los azúcares reductores y la cantidad en sustancia seca de la muestra de jarabe utilizada.

$$\text{E.D.} = \frac{\% \text{ Azúcares reductores (base seca)}}{\% \text{ Extracto seco (base seca)}} \times 100$$

Para obtener el porcentaje de extracto seco (% ES), de 100 se resta el porcentaje de humedad del jarabe, es decir: % ES = 100 - % humedad de la muestra de jarabe

RESULTADOS

Se determinaron los valores de grado Brix, % Azúcares reductores, % de equivalente de dextrosa cuyos resultados se ven en la tabla 1. En general se pudo observar que la enzima amilasa actuó en mayor proporción en la hidrólisis del almidón que por acción del ácido clorhídrico. Los resultados por cada ensayo presentaron variabilidad en los porcentajes de equivalente de dextrosa (ED) de cada proceso de hidrólisis (ácida y enzimática) siendo mayores en la hidrólisis enzimática a 70 °C con α amilasa al 1% (ED 23.72%) que en la hidrólisis ácida con HCl al 5% (ED 15%).

TABLA 1: Caracterización de los jarabes obtenidos de cada proceso de hidrólisis (ácida y enzimática).

TIPO	DE	Grado Brix final	Grado Brix promedio	Azucares reductores (%)	Azucares Reductores Promedio (%)	Equivalente Dextrosa (%)	Equivalente Dextrosa Promedio (%)
ACIDA	1	22.1	21.6	5.6	5.5	15.4	15
	2	21		5.3		14.5	
ENZIMATICA	1	35	35.8	8.52	8.71	23.21	23.72
	2	36.5		8.89		24.22	

Del almidón de yuca hidrolizado se obtuvieron productos con valores diferentes de D.E, siendo mucho más solubles que el almidón nativo y con posibilidades de aplicación en la industria de alimentos y farmacéutica.

Las temperaturas de licuefacción (hidrólisis enzimática) y las concentración de ácido clorhídrico (hidrólisis ácida) afectan los rendimientos de jarabe de glucosa obtenido del proceso de hidrólisis y licuefacción del almidón de yuca. Se obtuvieron mayores rendimientos de jarabe en la hidrólisis enzimática (61%), comparado con un 21% en la hidrólisis ácida. Los jarabes obtenidos de la hidrólisis ácida fueron más viscosos reportando una menor cristalinidad que los obtenidos por hidrólisis enzimática.

Los parámetros de evaluación más importantes y confiables para evaluar el desarrollo de la hidrólisis del almidón, sea ácida o enzimática son el porcentaje de azúcares reductores y porcentaje de equivalentes de dextrosa (ED). Los resultados obtenidos para los parámetros de porcentaje de azúcares reductores y porcentaje de equivalentes de dextrosa obtenidos fueron considerablemente menores en la hidrólisis ácida comparado con la hidrólisis enzimática. (figura n°4 y 5).

Figura 4. Comparativo de los jarabes obtenidos de cada proceso de hidrólisis ácida y enzimática en función del porcentaje de azúcares reductores (% Az. Red.).

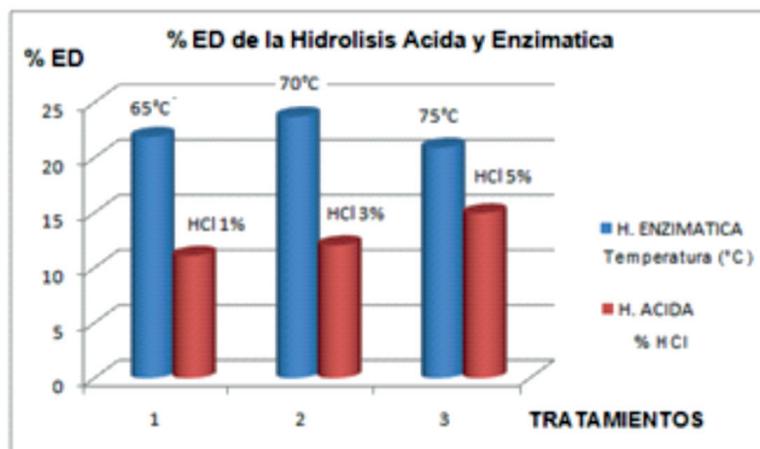
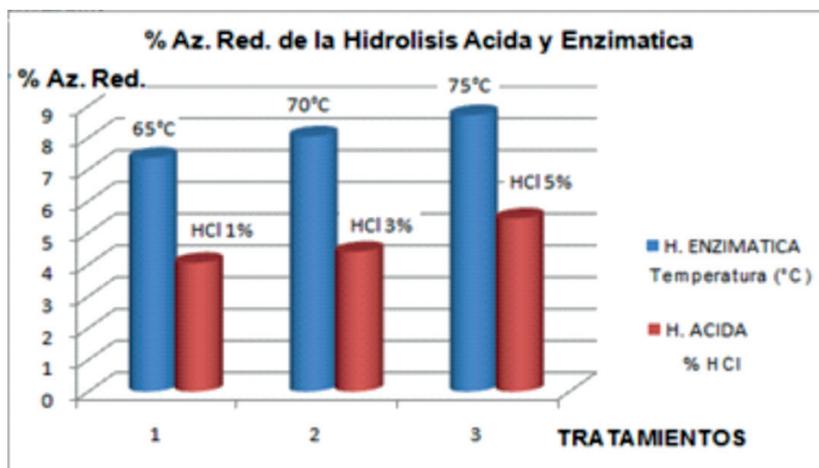


Figura 5. Comparativo de los jarabes obtenidos de cada proceso de hidrólisis Ácida y Enzimática en función del porcentaje de Equivalente Dextrosa (% ED).



Los resultados obtenidos tanto en la hidrólisis ácida como enzimática deben corresponderse con un aumento de dicha hidrólisis a lo largo del tiempo. Este aumento fue proporcional. Se determinó que a mayor porcentaje de HCl, se obtuvo un mejor resultado en la prueba de hidrólisis ácida del almidón al 30% pero en menor proporción que en la hidrólisis enzimática.

Existe diferencia significativa entre el porcentaje de azúcares reductores y porcentaje de equivalente de dextrosa (ED) medida para la hidrólisis ácida y enzimática del almidón de yuca, siendo la hidrólisis enzimática la que tuvo mejores resultados (tabla 2 y 3).

TABLA 2: Análisis de varianza de la relación entre la hidrólisis ácida y enzimática con el porcentaje de azúcares reductores formados a partir del almidón de yuca.

Criterio estadístico: 95% de confianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	17.34	1	17.34	35.2764663	0.00402959	7.70864742
Dentro de los grupos	1.96618333	4	0.49154583			
Total	19.3061833	5				

0.05

TABLA 3: Análisis de varianza de la relación entre la hidrólisis ácida y enzimática con el porcentaje de Equivalente de dextrosa formados a partir del almidón de yuca.

Criterio estadístico: 95% de confianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad F	Valor crítico para F
Entre grupos	134.616067	1	134.616067	44.4517066	0.00262963	7.70864742
Dentro de los grupos	12.1134667	4	3.02836667			
Total	146.729533	5				
					0.05	

DISCUSIÓN

Cuando se comparo la hidrólisis ácida de suspensiones de almidón de yuca al 30% (p/v) y HCl al 1, 3 y 5%, mediante calentamiento continuo convencional (baño maría) por 08 horas y el aumento de los valores de grado brix, porcentaje de azúcares reductores y equivalentes de dextrosa obtenidos, se encontró que a mayor concentración de HCl se agiliza la reacción de hidrólisis ácida obteniéndose resultados mayores de esos parámetros. Esto coincide con Murgas Torres, J. D. y Vásquez Monterrosa, M.A. (2012), que encontraron que el grado de degradación depende de la concentración del ácido, la temperatura, y el tiempo de hidrólisis. A medida que actúa el ácido, el peso molecular y la viscosidad de los productos decrecen y el poder reductor aumenta. Sin embargo los resultados obtenidos fueron considerablemente menores que en la recomendable utilizar otro método de hidrólisis ácida como lo indica Anaya Vega, F. J., (2004) que demostró que la hidrólisis ácida de almidón asistida por microondas se efectúa en menor tiempo y con mayor eficiencia que el calentamiento convencional de baño maría.

Los jarabes que obtuvieron de la hidrólisis enzimática de acuerdo a BeMiller J. and R. Whistle (2009) fueron del tipo I que consisten principalmente de segmentos de peso molecular alto y dextrinas lineales. Esta categoría obtenida se explica porque la hidrólisis enzimática fue limitante ya que no tubo valores altos de azúcares reductores y equivalentes de dextrosa como se esperaba, esto es por la poca proporción de amilosa del almidón de yuca (14 a 19 % según Hoover, 2002) y una menor proporción amilosa/amilopectina de 17/83 en la yuca comparada con una mayor proporción 26/74 en hidrólisis enzimática.

Por lo que sería el maíz (Harwood P. 1992), y la enzima α amilasa es clasificada como una endoenzima debido a que hidroliza enlaces α 1-4 glucosídicos al azar de la región central de las cadenas de amilosa y amilopectina excepto en las proximidades de los puntos de equivalentes de dextrosa como se esperaba, esto es por la poca proporción de amilosa del almidón de yuca (14 a 19 % según Hoover, 2002) y una menor proporción amilosa/amilopectina de 17/83 en la yuca comparada con una mayor proporción 26/74 en el maíz (Harwood P.

1992), y la enzima α amilasa es clasificada como una endoenzima debido a que hidroliza enlaces α 1-4 glucosídicos al azar de la región central de las cadenas de amilosa y amilopectina excepto en las proximidades de los puntos de ramificación (Van Der Maarel, Marc J.E.C. 2002).

Estos jarabes pueden utilizarse para impartición de viscosidad (agente engrosante), prevención de cristalización y humectante.

Por este motivo se sugiere también la posibilidad de utilizar otras enzimas como la pululanasa (enzima desramificadora) que se encarga de hidrolizar los enlaces α , 1-6 de la molécula de amilopectina, lo cual generaría un mayor contenido de glucosa, maximizando el contenido total de azúcares. Igualmente el uso de las enzimas amiloglucosidasa que es una exoenzima que hidroliza tanto a los enlaces α 1-4 y α 1-6 y las betaglucanasas, las cuales han sido utilizadas para disminuir la viscosidad y mejora el proceso de filtración en la producción de jarabes de maltosa (Gil Montilla L. D., 2008).

También sería recomendable utilizar mayor concentración de la α amilasa ya que probablemente se encuentren valores superiores en azúcares reductores y % de Equivalente de dextrosa por el aumento en la dosis de la enzima. Además poder comprobar si es posible efectuar una disminución de tiempos de acción de la enzima y de este modo el proceso productivo para la elaboración de jarabe se llevara a cabo en un menor tiempo y por lo tanto disminuirán los costos de producción.

CONCLUSIONES

Existe diferencia significativa entre el porcentaje de azúcares reductores y porcentaje de equivalente de dextrosa (ED)

medida para la hidrólisis ácida y enzimática del almidón de yuca, siendo la hidrólisis enzimática la que tuvo un mayor porcentaje de azúcares reductores y equivalentes de dextrosa.

Los jarabes obtenidos de la hidrólisis enzimática fueron menos viscosos reportando una mayor cristalinidad, comparados con los obtenidos de la hidrólisis ácida.

El método usado para realizar la parte experimental de la hidrólisis enzimática si fue eficiente, pero no lo fue para la hidrólisis ácida. El uso de la gelatinización como pre- tratamiento térmico, aumentó la accesibilidad al material amiláceo, viéndose esto reflejado en las productividades encontradas por las condiciones óptimas.

En la hidrólisis enzimática se produce un rompimiento parcial de los enlaces que mantienen unido a las unidades del almidón y se formará maltosa, glucosa y dextrina límite que es una cadena ramificada.

En la hidrólisis ácida, las cadenas alfa 1,4 son más fáciles de hidrolizar que las alfa 1,6. El lado no reductor del almidón es hidrolizado más rápido que los enlaces en el interior. La desventaja de este proceso es que produce furfural (HMF) y otros inhibidores que van en contra de la calidad del producto.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Le Cordon Bleu y a la Universidad Nacional del Callao por el apoyo y respaldo brindado durante la realización de la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anaya Vega, Fernando José. 2004. "Obtención de jarabes de glucosa a partir de

- almidón de yuca mediante hidrólisis acida asistida por microondas". Tesis Químico. Universidad Industrial de Santander. Colombia.
- Beltrán Mondragón Astrid Dayana y Lorena Aydeé Herreño Téllez. 2010. "Aplicación de la enzima α Amilasa comercial ban@ 480l a la harina de arroz de la variedad Fedearroz 50 para la elaboración de una bebida vegetal". Tesis. Título de Ingeniera de Alimentos. Universidad de La Salle. Colombia.
- BeMiller James and Roy Whistler. 2009. Starch Chemistry and Technology. Third Edition. Food Science and Technology, International Series.
- Gil Montilla, Lisbeth Daniela. 2008. "Obtención de jarabe de maltosa a partir del germen de maíz desgrasado". Informe de pasantía para optar al título de Ingeniero Químico Universidad Simón Bolívar. Venezuela.
- Harwood, Paul. 1992. Technology of Corn Wet Milling and Associated Processes. Elsevier. Science Publishers B. V., Amsterdam, Holanda.
- Hoover, R. 2002. "Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches". Carboh. Polym. Vol. 49(4): 425-437.
- Hongsheng Liu, Fengwei Xie, Long Yu, Ling Chen, Lin Li. 2009. "Thermal processing of starch-based polymers ". Progress in Polymer Science. Vol. 34: 1348-1368.
- Murgas Torres, José David & Vásquez Monterrosa, Miguel Ángel. 2012. "Evaluación de la obtención de Bioetanol a partir del almidón de Ñame (*Dioscorea rotundata*, *Dioscorea alata* y *Dioscorea trifida*) mediante la hidrólisis enzimática y posterior fermentación". Tesis Ingeniero Químico. Universidad de San Buenaventura. Colombia.
- NTP 203.002-1979. Determinación del contenido de azúcares reductores. Método de Eynon-Lane.
- NTP 208.102: 2014 CONFITERÍA. Determinación de azúcares reductores y sacarosa. 1ª Edición.
- Pingyi Zhang, Roy L. Whistler, James N. BeMiller, Bruce R. Hamaker. 2005. "Banana starch: production, physico chemical properties, and digestibility-a review". Carbohydrate Polymers. Vol. 59: 443-458.
- Van Der Maarel, Marc J.E.C. 2002. "Properties and applications of starch converting enzymes of the α -amylase family". Journal of Biotechnology. No 94: 137-155.

CORRESPONDENCIA

Blga. Ms.C. Alicia Cecilia Decheco Egúsqüiza
alicia.decheco@ulcb.edu.pe