# Estudio de la modificación vía enzimática de almidón de yuca para la obtención de maltodextrinas

# Study of cassava starch enzymatic modification for maltodextrins obtention

Miguel Angel Díaz\*, María Isabel Filella\*, Mario E. Velásquez\*\*

#### **RESUMEN**

Se investigó el efecto de las variables más relevantes en el proceso de hidrólisis enzimática del almidón de yuca, a escala laboratorio, con el fin de determinar las condiciones industriales apropiadas para obtener maltodextrinas de diferentes grados de conversión. Se empleó una α-amilasa proveniente de una cepa genéticamente modificada de Bacillus licheniformis. Previa selección de las variables, se parte de un diseño experimental basado en el diseño estadístico factorial fraccionado, donde se trabajó cada variable a dos niveles, teniendo como variable respuesta el equivalente de dextrosa (DE). Las variables estudiadas fueron: temperatura (80-90°C), pH (5,5-6,5), concentración de almidón (30-40% w/w), adición de enzima (0,583-0,833 μl/g almidón) y adición de cofactor (50-70 mg/L de CaCl<sub>2</sub>). Se seleccionaron algunos ensayos con el fin de establecer el comportamiento reológico, así como para determinar las variables relevantes sobre las propiedades funcionales de la maltodextrina en solución. Las variables con mayor incidencia fueron la temperatura y la dosis enzimática, tanto en el análisis de la velocidad inicial de hidrólisis con respecto al tiempo de reacción, como en el análisis respecto al grado de conversión obtenido en los hidrolizados. Se obtuvo un equivalente de dextrosa hasta de 30 para el tiempo de reacción estudiado, así como la más alta velocidad inicial de reacción (21,7 DE/hora) para el ensayo con pH y dosis de enzima en sus niveles altos. Las propiedades funcionales de la maltodextrina en solución se ven afectadas, solamente, por la temperatura y la concentración de almidón.

**Palabras clave:**  $\alpha$ -amilasa, *Bacillus licheniformis*, hidrólisis enzimática, propiedades funcionales, equivalente de dextrosa.

#### ABSTRACT

It was pretended to investigate the effect of the most relevant variables in cassava starch enzymatic hydrolysis process, on laboratory scale, to determine appropiate industrial conditions for the obtention of different kinds of maltodextrins. An  $\alpha$ -amylase enzyme, from genetically modified strain of *Bacillus licheniformis*, was used to hydrolize the starch. Once the variables were chosen, an experimental fractioned factorial design was established with two levels. The Dextrose Equivalent (DE) was taken as the response variable. The variables studied were: temperature (80-90°C), pH (5.5-6.5), dry-weight starch concentration (30-40% w/w), enzyme dosage (0.583-0.833  $\mu$ l/g starch) and calcium concentration (50-70 mg/L of CaCl<sub>2</sub>). Some assays were settle in order to define the rheologic behavior and to determine the most relevant variables that affect the functional properties of the maltodextrin suspensions. Both, temperature and enzyme concentration were the variables that affect the most the initial convertion rate and the characteristics of the product convertion. For the interval of time considered, the highest DE obtained was 30 and the highest initial rate was 21.7 DE/hour. The functional properties of the maltodextrin solutions were affected by temperature and dry-weight starch concentration.

**Key words:** α-amylase, *Bacillus licheniformis*, enzymatic hydrolysis, functional propierties, dextrose equivalent.

<sup>\*</sup>Ingenieros químicos. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Ingeniería Química. e-mail: michito79@yahoo.com, excelsa78@yahoo.com,

<sup>\*\*</sup>Ingeniero químico MSc. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Ingeniería Química. e-mail: mvelasq@ing.unal.edu.co

# INTRODUCCIÓN

Por desconocimiento del potencial y del mercado de sus productos derivados, se han subvalorado muchos cultivos tales como la yuca, y se han perdido inmensas oportunidades de desarrollo en diversos sectores de la industria.

El almidón en su forma nativa, o mediante algún tipo de modificación, es el producto industrial más importante elaborado con base en la yuca, y su uso en las industrias alimenticias (bebidas, confitería, postres, y demás), papel, textiles, adhesivos, es en muchos casos prioritario. Además, también tiene un potencial creciente en la producción de dextrosa y sus múltiples derivados (edulcorantes e hidrolizados de alta producción), sin desconocer su uso en la producción de alcohol carburante (Corporación Colombia Internacional, 1999).

La demanda de hidrolizados de almidón con propiedades funcionales específicas ha permitido el desarrollo de una amplia variedad de productos, disponibles en el comercio a bajos precios. Un ejemplo es la aplicación de las maltodextrinas como aditivo en la industria alimenticia, dada la alta versatilidad que tiene este tipo de productos (Marchal, 1997).

La hidrólisis del almidón catalizada por α-amilasas, para obtener productos de bajo peso molecular, es uno de los procesos enzimáticos más importantes en la actualidad. A escala de laboratorio se puede estudiar el efecto de las variables en el proceso de hidrólisis parcial del almidón para obtener maltodextrinas con distintos grados de conversión. Dicho grado de conversión se expresa mediante el equivalente de dextrosa (DE), y corresponde al porcentaje de azúcares reductores presentes calculado como porcentaje de dextrosa en base seca.

Los hidrolizados de almidón de DE inferior a 20 se denominan maltodextrinas, y se componen de una mezcla de sacáridos, oligosacáridos y polisacáridos con amplia distribución en pesos moleculares. Ya como productos terminados, se encuentran disponibles en polvo o soluciones concentradas. Productos con DE mayores, se conocen como jarabes.

En contraste con el almidón nativo, las maltodextrinas son solubles en agua. Poseen también, como el almidón, la capacidad de formar geles y retener agua, y se usan en la industria alimenticia como modificadores de textura, bien sea en gelificación, retención de agua, o en sustitución de grasa. Presentan funciones importantes en sistemas alimenticios, incluyéndose aplicaciones como agente de volumen, mejoramiento de la textura y el cuerpo, en la facilidad para formar películas, en la retención de aroma, sabor y grasas, como barrera de oxígeno, en el aumento del brillo, en la dispersabilidad y solubilidad, en el control del punto de congelamiento y en la prevención del punto de cristalización (Chronakis, 1998; Autio, 1999; Marchal, 1998).

En su aplicación se hace necesario el conocimiento de la composición de oligosacáridos, ya que una maltodextrina con un mismo valor de DE puede poseer diferentes propiedades inherentes a la composición molecular, tales como la higroscopicidad, fermentabilidad, viscosidad, poder edulcorante, capacidad de gelificación, osmolabilidad y absorción en el tracto gastrointestinal (Marchal *et al.*, 1999).

Los estudios acerca de hidrólisis enzimática de almidones se han enfocado en la producción de jarabes de glucosa, alta fructosa y alta maltosa (Pontoh y Low, 1995), mas no en la obtención específica de maltodextrinas (Henderson y Teague, 1988; Madsen et al., 1973). Las investigaciones de la mayoría de los autores se han realizado con almidón de maíz (Lowell, 1984), siendo escasa la información publicada de hidrólisis con almidón de yuca (Gorinstein, 1993).

Pardo y Rivera (2001), al igual que Chica (1996) y Marchal (1998) estudiaron la hidrólisis parcial de almidón de papa con  $\alpha$ -amilasa de *Bacillus licheniformis* para condiciones similares de operación, aunque solamente el trabajo de Marchal se enfoca a la producción de maltodextrinas. De este último trabajo se concluyó que las variables que más influencia tienen en el proceso son la temperatura, la dosis de enzima y el pH. Además, se encontró que la agitación no tiene influencia en la velocidad con la que se lleva a cabo la hidrólisis.

Lowell (1984) estudió un proceso de obtención de maltodextrinas con bajo grado de conversión. Se destaca la dificultad presentada en la purificación debida al tamaño de molécula de la partícula y a la presencia de gránulos de almidón sin hidrolizar.

Debido a la ausencia de estudios en Colombia en la producción de maltodextrinas, se pretende

<b>Tabla 1.</b> Estudios realizados referentes a hidrólisis parcial de a	almidones con $\alpha$ -amilasas.
--	-----------------------------------

			Condiciones de operación									
Autor	Almidón	Temperatura (°C)	рН	Sustrato (% w/w)	Dosis calcio	Dosis enzima	Tiempo					
Caro (1986)	Yuca	80	6,5	25	50 ppm	1,2 kg/ton	2 horas					
Chica (1996)	Papa	100	5,5-7,0	25-40		0,7 kg/ton						
Pontoh y Low <sup>(a)</sup> (1995)	Yuca	80°C; 3 min 106°C; 5 min 95°C; 30 min	5-7	30		0,7 kg/ton	30 min					
Marchal <i>et al</i> . (1998)	Papa	140°C; 30 min 63-97°C	5,6-7,6	3-37	0-120 μg/g	27,6-372.4 ml/kg						
Ahumada y Hoyos (1977)	Yuca	80-90	5,0-5,7	30-40		0,15% w/w	1,0-1,5 horas					
Lowell (1984)	Maíz	104°C; 5 min 95-98°C	7,0	24		0,5-1 kg/ton						
Pardo y Rivera (2001)	Papa	95	6,25	35	45 mg/kg	0,6 kg/ton	8 horas					

(a)  $\alpha$ -amilasa de *B. Stearothermophilus* y el resto de *B. licheniformis* 

investigar, a escala laboratorio, el efecto de las variables más relevantes en el proceso de hidrólisis enzimática de almidón de yuca, y así definir las condiciones industriales más apropiadas para obtener maltodextrinas de diferente grado de conversión, con el fin de plantear una línea preliminar de proceso, que permita desarrollar una gama de productos aplicables en diferentes tipos de productos alimenticios.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### Materias primas

Se empleó almidón de yuca proveniente de Brasil (Corn Products Andina-Industrias del Maíz S.A). La enzima utilizada fue una α-amilasa termorresistente proveniente de una cepa genéticamente modificada de *Bacillus licheniformis*. (Termamyl ® 120 L de Novo Nordisk distribuida por Coldaenzimas Ltda. Bogotá) con una actividad de 120 KNU/g (donde 1 KNU es la cantidad de enzima que hidroliza 5,26 g de almidón soluble por hora a una temperatura de 37°C y pH de 5,6) y la fuente de iones calcio empleada como cofactor para la enzima fue CaCl<sub>2</sub>\*2H<sub>2</sub>O grado técnico (solución 0,1 M). Se emplearon soluciones buffer preparadas con Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>\*2H<sub>2</sub>O 0,2 M y ácido cítrico 0,1 M para ajustar el pH de la suspensión en el intervalo requerido.

# **Equipos**

El equipo contaba con un sistema de agitación de jarras con velocidad variable (0-100 r.p.m.), un baño termostatado (ISOTEMP, Fischer Instruments), tres reactores en paralelo de acero inoxidable SS316, con una relación altura/diámetro (H/D) de 1,25, diámetro interno de 10,2 cm, una capacidad total de 800 ml y con un agitador de cuatro paletas inclinadas, con una longitud de 7,5 cm. Los tres reactores poseen tapa con sello que se encuentra acondicionada para permitir el control de temperatura mediante el empleo de una termocupla, y con una boca por donde se adiciona la suspensión y se toman las muestras mediante succión.

# **Ensayos preliminares**

Se verificó la reproducibilidad de resultados en cada uno de los reactores para un ensayo específico (realizado por duplicado para cada reactor a temperatura de 90°C, pH 6,6, concentración de almidón de 40% w/w, 70 mg/L de CaCl<sub>2</sub> y adición de enzima de 0,583 ml/g) teniendo en cuenta los cambios de temperatura entre reactores, así como la cantidad de agua evaporada durante el tiempo de reacción que incide en la concentración de azúcares reductores.

Teniendo presente los problemas de homogeneización de la suspensión de almidón a tempera-

turas mayores a 65ºC debido a la alta viscosidad desarrollada gracias al fenómeno de retrogradación de los almidones (Glicksman, 1969; Hebeda, 1993; Pardo y Rivera, 2001) se evaluaron dos alternativas para llevar la suspensión a la temperatura de hidrólisis. La primera alternativa fue adicionar la suspensión al reactor cuando la temperatura del baño de calentamiento estuviera en 65ºC, e incrementar gradualmente la temperatura de éste hasta llegar a la del ensavo. La segunda consistió en adicionar la suspensión cuando la temperatura del baño estuviera por lo menos 15 ºC por encima de la temperatura del ensayo, y luego ajustar hasta que se llegase a ésta.

Para evaluar ambas alternativas se realizó un ensayo (a las mismas condiciones que el descrito al inicio de esta sección), haciendo mediciones de DE cada veinte minutos.

# **Procedimiento experimental**

A partir de los resultados de los ensayos preliminares se dispuso el siguiente procedimiento para los experimentos: inicialmente, el almidón de yuca se gelatinizó y licuó bajo la acción de la enzima dextrinizante, dispersándolo en agua destilada y formando una solución de 30-40% w/w en una suspensión de 600 a 700 ml, aproximadamente. Se estabilizó la suspensión de almidón mediante la adición de solución de CaCl<sub>2</sub> 0,1 M, se ajustó el pH, mediante adición de solución de NaOH 1N o de solución buffer de fosfato ácido de sodio / ácido cítrico. Una vez adicionada la enzima dextrinizante, se adicionó la suspensión a la temperatura del ensayo, y con agitación constante (80 r.p.m.) se tomaron muestras cada 20 minutos con el propósito de hacer el seguimiento de la reacción, tomando como variable respuesta el equivalente de dextrosa, cuantificado a partir de los azúcares reductores formados. El tiempo total de los ensayos fue de 300 min. La inactivación de la enzima se llevó a cabo por aumento de pH, a partir de la adición de reactivo de Somogi.

# Diseño experimental

Se trabajó con un diseño experimental factorial fraccionado ( $2^{n-2}$ , siendo n el número de variables

**Tabla 2.** Niveles trabajados para cada variable estudiada en la hidrólisis parcial

Factor	Nivel máximo	Nivel mínimo
Temperatura	90°C	80°C
pН	6,5	5,5
Concentración de almidón	40% w/w	30% w/w
Adición de calcio	70 mg/L	50 mg/L
Dosis enzimática	0,833 ml/g	0,583 ml/g

Tabla 3. Ensayos realizados en este estudio

No tratamiento	Temperatura (A)	рН (В)	Sustrato (C)	Calcio (D)	Enzima (E)	Nombre ensayo
1	+1	-1	-1	-1	-1	Α
2	-1	+1	+1	-1	-1	BC
3	-1	-1	+1	+1	-1	CD
4	-1	+1	-1	-1	+1	BE
5	-1	-1	-1	+1	+1	DE
6	+1	+1	-1	+1	-1	ABD
7	+1	+1	+1	+1	+1	ABCDE
8	+1	-1	+1	-1	+1	ACE

involucradas) el que permitió investigar simultáneamente los efectos de cada variable a dos niveles, máximo y mínimo, valores dentro de los cuales, según los estudios acerca del proceso, se puede llevar a cabo la hidrólisis parcial del almidón.

El estudio se ajustó a un diseño factorial 2<sup>n-2</sup>, con cinco variables, de manera que se tienen ocho ensayos. Se presenta el nivel máximo con +1 y el mínimo con -1; además, en el nombre de cada ensayo, la letra mayúscula indica el nivel máximo.

Aparte de los ensayos propuestos se realizaron dos pruebas adicionales con el fin de obtener conclusiones acerca de la importancia, a nivel individual, de la adición de enzima y la concentración de sustrato. Los ensayos extras fueron ABCD/ABCDE (de acuerdo con la nomenclatura de la tabla 3) y las condiciones del ensayo CD con concentración de sustrato de 35% y 40%.

# Equivalente de dextrosa

El equivalente de dextrosa se estimó mediante la ecuación:

DE = (AR/M)\*100 (Benavides, 1983)

donde *AR* es la cantidad de azúcares reductores presentes en la muestra, expresados como gramos de glucosa y *M* es el peso de la muestra seca en gramos. Para la detección de azúcares reductores se empleó el método analítico de Somogi-Nelson, previamente estandarizado.

#### Viscosidad

Para la determinación de viscosidad de los hidrolizados, se utilizaron dos tipos de viscosímetros; uno rotacional de tipo cilindros concéntricos (Marca Haake, modelo RV20) y uno de tipo sincro-eléctrico (Marca Brookfield). De los ocho ensayos originales se eligieron tres para evaluar su comportamiento reológico. Los criterios de selección de estos ensayos fueron la velocidad inicial de reacción, la concentración de sustrato y, finalmente, la temperatura de hidrólisis. Las muestras se tomaron a los 20, 40, 120, 180 y 300 minutos de reacción; la inactivación de la enzima se realizó por disminución de pH (adición de HCl 9N hasta pH 3-3,5) y aumento de temperatura (110°C durante media hora). Posteriormente se dejaron desecar las muestras y se llevaron a refrigeración a 4°C durante una noche.

### Análisis estadístico

Se determinó la incidencia de cada una de las cinco variables y de la combinación de dos de ellas (pH-sustrato y sustrato-calcio) con un nivel de significancia de 95% (p = 0.05), mediante análisis de varianza. Cada uno de los ensayos se llevó a cabo por duplicado, y los datos experimentales se ajustaron por métodos de regresión no lineal simple al modelo:

tura era menor a 1ºC entre el primer y el tercer reactor, demostrando así la eficiencia tanto del aislamiento de los equipos como de la tubería del fluido calefactor.

Igualmente se realizaron pruebas de contenido de sólidos totales (por triplicado) a muestras de hidrolizado a diferentes tiempos con el fin de establecer la cantidad de agua evaporada durante el proceso. Las variación del contenido de sólidos de las muestras analizadas durante el tiempo de reacción (300 minutos) fue menor a 1%, resultado que confirma que la concentración de azúcares no se ve afectada por la cantidad de agua evaporada a las condiciones del ensayo propuesto.

De las alternativas evaluadas para llevar la suspensión a la temperatura de hidrólisis se eligió la segunda, ya que el calentamiento de la mezcla fue más rápido (20 minutos contra 45 minutos de la primera) y las diferencias en la determinación del equivalente de dextrosa durante la primera hora de reacción en los tres reactores fueron menores (diferencias de DE entre reactores de 1% a 2% comparadas con diferencias de 9% a 10% de la primera alternativa) hecho que permitió iniciar los ensayos definitivos y obtener datos reproducibles.

### **Ensayos definitivos**

Se determinó la velocidad inicial de reacción expresada como el incremento inicial de DE por hora en cada uno de los ensayos, así como el incremento promedio de dicha velocidad para un intervalo específico de producto (*véase* tabla 4).

$$DE(t) = a + be^{ct}$$

donde *a*, *b* y *c* son parámetros determinados de forma experimental por el método de la regla falsa (Perry, 1992); *DE* es el equivalente de dextrosa, y *t* es el tiempo de reacción.

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

# **Ensayos preliminares**

Luego de las pruebas iniciales se encontró que la diferencia de tempera-

**Tabla 4.** Velocidades iniciales de reacción obtenidas para cada uno de los ensayos

Ensayo	Velocidad	Incremento promedio DE/hora para el interv				
	inicial (DE/hora)	DE (5-10)	DE (10-20)	DE (>20)		
Α	11,9	7,8	4,8	2,8		
ВС	13,8	9,6	4,3	1,5		
CD	12,4	8,7	3,5	1,1		
DE	21,7	14,1	7,1	1,7		
BE	17,7	13,6	8,2	2,8		
ABD	11,6	8,7	6,0	3,9		
ABCDE	15,2	8,4	2,7	0,8		
ACE	11,8	7,2	2,9	1,1		

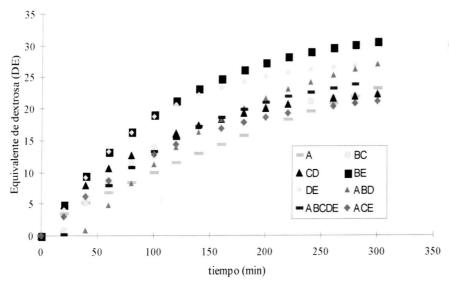


Gráfico 1. Equivalente de dextrosa en relación con el tiempo para cada uno de los ensayos.

Se observa la tendencia característica de la reacción de hidrólisis enzimática, donde inicialmente se presenta una zona de velocidad de reacción máxima, seguida de una zona de formación de producto

Tabla 5. Efecto de cada variable sobre el DE. El nivel de significancia viene dado por (+)

Variable		Equivalente de Dextrosa (DE)							
	5	10	12	15	18	20	22	25	30
Temperatura	+	+	+	+	+	+	+	+	+
рН	+					+	+	+	+
Almidón			+	+	+	+	+	+	+ 1
Calcio	+					+	+	+	+
Enzima	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Almidón-pH					+	+	+	+	+
Calcio-pH								+	+

de tipo exponencial (donde se reduce la velocidad de reacción entre 1,6 y 2,4 veces la velocidad inicial), y finalmente una zona de saturación donde la velocidad de reacción es casi siete veces menor a la inicial. Los ensayos con mayor velocidad de reacción y mayor equivalente de dextrosa alcanzado son BE y DE (gráfico 1).

Los resultados obtenidos a partir del análisis estadístico realizado indican la significancia de cada una de las variables estudiadas con respecto al equivalente de dextrosa y con respecto al tiempo de reacción (véanse tablas 5 y 6).

De los resultados se observa que las variables más influyentes en la velocidad inicial de reacción son la temperatura, la dosis de enzima y el pH, siendo éste no muy significativo en la obtención de productos dentro del intervalo de 10 a 20 de DE. Es importante tener en cuenta que todas las variables tienen igual nivel de significancia sobre el DE al inicio de la reacción (hasta un DE máximo de 5). A partir de este momento, sólo la temperatura y la dosis de enzima mantienen su incidencia durante el resto de tiempo.

Temperatura: Independientemente de las demás variables estudiadas, en todos los ensayos se observó que a 90°C la producción de azúcares reductores no fue tan alta como a 80°C, hecho atri-

buible a que la temperatura óptima de reacción para la enzima se halla más cercana a los 80°C.

pH: Contrario a lo reportado para almidón de papa (Marchall et al., 1998) el pH incide sobre el producto final, sólo luego de un DE de 20 o inferior a 5. Este hecho hace pensar en la acción del pH como estabilizante de la enzima al inicio y al final de la reac-

Tabla 6. Efecto de cada variable sobre el tiempo de reacción. El nivel de significancia viene dado por (+)

Variable						Tiem	po (mi	inutos	)			
	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200	240	280
Temperatura	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	,
рН	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+
Almidón			+		+	+		+	+	+	+	+
Calcio	+		+	+	+		+		+	+		+
Enzima		+	+	+	+	+	+	+		+	+	+
Almidón-pH	+	+			+		+		+	+		
Calcio-pH		+						+		+	+	

ción. Al subir el pH, se incrementa de forma notoria la velocidad de reacción, lo que indica influencia sobre la actividad enzimática, independiente de la dosis.

Adicionalmente la relación temperatura-pH y la producción de azúcares muestran dependencia, obteniéndose mayor DE a una temperatura de 80°C y pH de 6,5.

Concentración de almidón: Durante la primera hora de reacción, la influencia de este factor no es significativa (tabla 6). Sin embargo, a partir de este momento, para una concentración de 40% w/w disminuye el número de unidades de DE/hora. Es posible que este hecho sea consecuencia principalmente de la relación entre la cantidad de sustrato y la viscosidad, que permite que, a una menor concentración del almidón, la enzima actúe con una mayor facilidad y por tanto la velocidad de reacción sea mayor. También se observó la importancia de la concentración de sustrato tanto a 30 como a 40% w/w. en la obtención de una maltodextrina con un DE mayor a 12, lo que indicaría que si se pretende obtener un hidrolizado con un grado de conversión menor a éste, es posible trabajar tanto en el nivel alto como en el nivel bajo; no obstante, se recomienda trabajar a una concentración alta de almidón en todos los casos para facilitar el proceso de purificación.

Concentración de iones calcio: La concentración de cofactor es fundamental para que la enzima active su centro catalítico y comience a hidrolizar el sustrato. Es por ello que se observa su efecto significativo en productos de bajo grado de conversión (DE menores a 5), aunque para mayores niveles de conversión (hasta DE 20) no sea un factor tan relevante como sucede con el pH.

Dosis enzimática: De acuerdo con el gráfico 1 y los ensayos extra (resultados no mostrados) no se observó un aumento notorio en la velocidad inicial de reacción (menos de una unidad de DE por hora) en ninguno de los dos niveles trabajados, aunque trabajar a dosis menores de 0,583  $\mu$ l/g podría aumentar el tiempo para llegar a un DE específico.

El efecto de la interacción sustrato-pH y sustratocalcio no es evidente en hidrolizados de DE menor a 5; la primera combinación de factores tiene importancia a partir de un DE de 18, mientras que la otra pareja influye para un DE mayor a 25.

# Comportamiento reológico de los hidrolizados

Se seleccionaron tres ensayos (BE, CD y ACE) para realizar las pruebas, de acuerdo con los criterios mencionados con anterioridad. El ensayo BE, por tener una velocidad inicial de reacción alta; el CD, media y el ensayo ACE, velocidad inicial de reacción baja (tabla 4). También se tuvieron en cuenta estos ensayos con el fin de poder observar, comparando por parejas, la incidencia de la temperatura, la concentración de sustrato y la adición de enzima.

En primera instancia se evaluó el tipo de flujo presentado por los hidrolizados para diferentes tiempos de reacción a partir de la medición del esfuerzo cortante para diferentes velocidades de corte. Luego se estimó la viscosidad aparente de los hidrolizados, y se correlacionaron con el tiempo de reacción y el equivalente de dextrosa.

Es pertinente anotar que no fue posible realizar mediciones de viscosidad a las muestras para 20 minutos de reacción (en el caso de los ensayos ACE y BE) y 40 minutos (ensayo CD) a la temperatura a la que se realizaron las lecturas debido al bajo grado de conversión de las muestras a estos tiempos de reacción.

**Tabla 7.** Viscosidad aparente en relación con el tiempo y el equivalente de dextrosa.

Ensayo		BE		ACE	CD		
Tiempo (min)	DE	m <sub>ap</sub> (cP) (25°C)	DE	m <sub>ap</sub> (cP) (20°C)	DE	m <sub>ap</sub> (cP) (25°C)	
40	9	1.450	6	13.100	-	-	
60	13	310	9	1.220	10	3.710	
120	21	24	14	280	16	566	
180	26	19	18	127	19	100	
300	31	16	21	118	22	16	

# Relación variables estudiadas con la viscosidad de los hidrolizados

Los diferentes productos de la hidrólisis presentan curvas con concavidad hacia abajo en los gráficos de esfuerzo cortante contra velocidad de corte, típica de los fluidos con comportamiento pseudoplástico (gráfi-

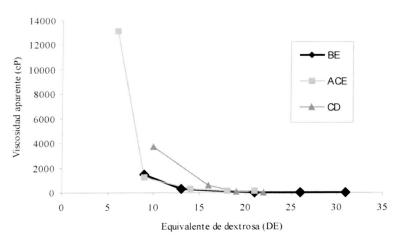


Gráfico 2. Viscosidad aparente con relación al equivalente de dextrosa.

co 2). A medida que la reacción avanza, el hidrolizado tiende a presentar un comportamiento newtoniano (notoriamente luego de dos horas de hidrólisis).

La tendencia en la relación viscosidad-equivalente de dextrosa es de tipo hiperbólico como reporta Benavides (1983) con hidrolizados de almidón de arroz. Este tipo de curva es explicable considerando que la viscosidad de una suspensión de polisacáridos, como el almidón, es función del peso molecular: a menor peso molecular, menor viscosidad. Es pertinente tener en cuenta que el DE es una medida aproximada del grado de modificación, ya que pueden tenerse varios productos con un mismo equivalente pero con una composición diferente en polisacáridos, lo que se hace evidente en los cambios de viscosidad. La temperatura de hidrólisis y la concentración de sustrato son las variables incidentes sobre los cambios de viscosidad en hidrolizados de mismo DE.

Independiente de la concentración, cuando se tienen productos con igual DE, las mayores viscosidades se presentan a

90°C, mostrando así que, de alguna manera, el trabajar a alta temperatura favorece la formación de polisacáridos de peso molecular menor. Comparando los ensayos BE y CD, el nivel de 40% w/w de sustrato hace que se obtengan productos más viscosos que a 30% w/w para un mismo DE (en el intervalo de 5 a 10) aunque a medida que avanza la reacción, los valores de viscosidad son muy similares a los dos niveles (*véase* tabla 7).

Tabla 8. Relación del equivalente de dextrosa, el tiempo de reacción y las propiedades del hidrolizado del ensayo ACE.

Tiempo de reacción (minutos)	Equivalente de Dextrosa (DE)	Análisis organoléptico	Observaciones
20	< 3	Color blancuzco, olor característico, sin sabor definido	Consistencia sólida a temperatura ambiente, alta adherencia, formación de agregados, capacidad de formar película al calentar y luego dejar enfriar
40	6	Color blancuzco, olor característico	Consistencia cremosa alta, tendencia a formar gel, untuosa, homogénea, sensación grasa al tacto, alta adherencia, alta capacidad de formación de película
60	9	Color blanco-crema, olor característico	Consistencia cremosa media y adherencia media, homogénea, viscosidad media y menor sensación grasa, formación de película
120	14	Color grisáceo, olor caracte- rístico, sabor algo dulce	Adherencia baja, ligera turbidez, no hay sensación grasa, viscosidad baja.
180	18	Color pardo, olor característico, sabor algo dulce	Pardeamiento, turbidez, viscosidad baja
300	21	Color pardo-naranja, sabor dulce	Ligera formación de flóculos

El pH como tal no afecta las propiedades funcionales, pero el emplear soluciones buffer en gran cantidad genera cambios en el color y olor del producto. Las demás variables (dosis de enzima, calcio) influyen únicamente en la formación de polisacáridos y oligosacáridos, mas no en las propiedades funcionales.

# **Propiedades funcionales**

Además de la medición de la viscosidad, se realizó un análisis organoléptico a la muestra del ensayo ACE, así como una apreciación de tipo cualitativo de ciertas propiedades funcionales.

Las muestras de hidrolizado con DE<3 presentan cierto grado de retrogradación ocasionado por la alta concentración de sustrato (40% w/w) y para el tiempo de reacción (20 minutos) no se ha podido lograr una estabilización de la enzima. En estos hidrolizados hay un cambio de gel a pasta que disminuye la solubilidad en agua, tal como lo reporta Lowell (1984). También por la retrogradación se generan los agregados de almidón. La textura cremosa y la sensación grasa de los hidrolizados de bajo DE se han dado probablemente por el reordenamiento molecular de la maltodextrina, que les permite retener agua.

La formación de flóculos para los hidrolizados con DE mayor puede presentarse por las interacciones amilosa-proteína generadas por la destrucción del gránulo de almidón durante la gelatinización (Hebeda, 1993). Dichas interacciones no deberían presentarse en los almidones de yuca por su bajo nivel de proteína comparado con otras fuentes (Biliaderis, 1992).

#### CONCLUSIONES

De acuerdo con el análisis de la velocidad de hidrólisis con respecto al tiempo, las variables más relevantes para la modificación vía enzimática del almidón de yuca son la temperatura y la dosis enzimática. La importancia de la concentración de almidón y el pH se presenta al inicio y al final de la reacción. La dosis de iones calcio es significativa, ejerciendo una acción estabilizante para la enzima.

En cuanto a la obtención de un producto con un grado de conversión específico, nuevamente la temperatura y la dosis de enzima son las variables con un grado de influencia mayor. A medida que la reacción avanza, la concentración de sustrato, el pH y la dosis de calcio (en ese orden) participan de manera más activa.

Las propiedades funcionales de las maltodextrinas obtenidas se ven afectadas solamente por la temperatura de hidrólisis y la concentración de almidón. Las máximas viscosidades obtenidas se presentan cuando se trabaja al nivel inferior de temperatura y al nivel superior de concentración de sustrato. Sin embargo, a partir de los resultados obtenidos, no es posible establecer la relación de estos dos factores con el tipo y la cantidad de oligosacáridos presentes en la mezcla.

Fue evidente la relación del equivalente de dextrosa con las propiedades físicas y funcionales de la maltodextrina. Así, cuando el DE fue menor, se obtuvo un hidrolizado más viscoso, de textura cremosa, de sensación grasa al tacto, más adherente, con mayor tendencia a formar geles y películas, menor grado de turbidez, pardeamiento y tendencia a flocular.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen a Ana Lucía Cortés (Coldaenzimas Ltda.) y Nelson Zúñiga (Industrias del Maíz S.A.) por el suministro de materias primas. También a Gloria Helena González y a Leon Marchal (AVEBE, Holanda) por sus revisiones y valiosos aportes, así como a Sandra Barreto por su colaboración en el diseño experimental y en el análisis estadístico.



### **BIBLIOGRAFÍA**

- Autio, K, Vesterinen, E. 1999. Structure of Starchy foods in relation to digestibility of foods by structure engineering. Finland: VTT *Biotechnology*. 35-90.
- Ahumada Corredor, P, Hoyos, L., Martínez, J. 1977. Obtención de glucosa por hidrólisis ácida de almidón de yuca. Bogotá, Colombi, Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Ingeniería Química, 55-70.
- Benavides, M, Cabrera, J. A. 1983. Bases técnicas para el desarrollo de alimentos de baja viscosidad usando harina de arroz modificada con enzimas. *Tecnología. Instituto de Investigaciones Tecnológicas.* 146 (24): 5-22.
- Biliaderis, C. Structures and phase transitions of starch in food systems. *Food Technology*. 46(6):98-108.
- Caro, A. J. 1986. Hidrólisis enzimática de almidón de yuca. Bogotá, Colombia, Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Química, 50.
- Chronakis, I. 1998. On the molecular characteristics, compositional properties and structural-functional mechanisms of maltodextrins: A review. *Critical Reviews in Food Science*. 38 (7): 599-637.
- Chica, N. 1996. Sacarificación de almidón de papa. Manizales, Colombia, Universidad Nacional de Colombia. Especialización en Ciencia y tecnología de Alimentos, 35-70.
- Corporación Colombia Internacional, CCI. 1999. *Inteligencia de mercados: yuca. Perfil de producto.* Bogotá, Colombia, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 1-12.
- Glicksman, M. 1969. Gum Technology in the Food Industry. Food Science and Technology. A serie of monographs. New York: Academic Press. 215-275.
- Gorinstein, S. 1993. Kinetic Studies during hydrolysis of potato and cassava starches. *Starch*. 45:91-95.

- Hebeda, R. 1993. Starches, sugar and Syrups. Enzymes in Food Processing. New York: Academic Press. Third Edition, 321-346.
- Henderson W. E., Teague, W. M. 1988. A kinetic model of Bacillus stearothermophilus a-amylase under process conditions. *Starch*. 40:412-418.
- Lowell, M. 1984. *Process for the manufacture of low D.E. maltodextrins.* US 4.447.532.
- Madsen, G. B., Norman, B. E., Slott, S. 1973. A new heat termostable bacterial amylase and its use in high temperature liquefaction. *Starch*. 25:304-308.
- Marchal, L., Beeflink, R. 1999. Towards a Rational Design of Commercial Maltodextrins: A mechanistic Approach. *Trends in Food Science and Technology*. 10:345-355.
- Marchal, L., Jonkers, J., Francke, G. T., Gooijer C.
  D, Tramper, J. 1999. The effect of process conditions on the a-amylolytic hydrolysis of Amylopectin potato starch: an experimental design approach. *Biotechnology and Bioengineering*. 62: 348-357.
- Pardo, M., Rivera, A. 2001. Diseño de un biorreactor para hidrólisis enzimática de almidones. Bogotá, Colombia, Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Ingeniería Química, 25-50.
- Perry, R. 1992. *Manual del ingeniero químico.* 6ª. ed., México, Editorial McGraw-Hill. 35.
- Pontoh, J, Low, N. 1995. Glucose syrup production from Indonesian Palm and Cassava Starch. *Food Research International.* 28 (24): 379-385.