

MODIFICACIÓN ENZIMÁTICA DE ALMIDÓN DE YUCA (*Manihot esculenta Crantz*) PARA EL DESARROLLO DE PELÍCULAS FLEXIBLES

ENZYMATIC MODIFICATION OF CASSAVA (*Manihot esculenta Crantz*) STARCH FOR FLEXIBLE FILM DEVELOPMENT

MODIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO AMIDO DE MANDIOCA (*Manihot esculenta Crantz*) PARA DESENVOLVIMENTO DE FILMES FLEXÍVEL

JEIMMY ROCIO BONILLA M.¹, JOSÉ LUÍS HOYOC C.², HÉCTOR SAMUEL VILLADA C.³

RESUMEN

Este estudio evaluó el proceso de modificación enzimática de almidón de yuca para su aplicación en el desarrollo de películas flexibles biodegradables. Para ello se determinaron las condiciones óptimas de temperatura, concentración de enzima y tiempo de reacción para obtener equivalentes de dextrosa (ED) entre 10 y 25%. Se evaluó el efecto del grado de modificación sobre las propiedades mecánicas de películas flexibles de almidón a diferentes ED (0, 7, 10, 13, 17, 21%). A valores de ED inferiores a 13%, las películas exhibieron un incremento en el esfuerzo, con respecto a las películas de almidón nativo, mientras la elongación disminuyó para estos mismos niveles. De otro lado, las películas de almidón hidrolizado a valores de ED superiores a 13%, presentaron propiedades de esfuerzo y elongación semejantes a las presentadas por películas de almidón nativo, por lo que estas podrían ser las más apropiadas entre las películas evaluadas, teniendo en cuenta los posibles cambios que podrían llevar a superar las limitaciones que implica el uso de almidón nativo.

Recibido para evaluación: 12 de noviembre de 2013. **Aprobado para publicación:** 30 de abril de 2014

- 1 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo CYTBIA. Ingeniero Agroindustrial. Popayán, Colombia.
- 2 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Agroindustria. Grupo CYTBIA. Docente, Ingeniero agroindustrial, MSc. Popayán, Colombia.
- 3 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Agroindustria. Grupo CYTBIA. Docente, Ingeniero Agroindustrial, PhD. Popayán, Colombia

Correspondencia: jrbonilla@unicauca.edu.co

ABSTRACT

This study evaluated the process of enzymatic modification of cassava starch for its application in the development of biodegradable flexible films. For this purpose, the temperature, enzymatic concentration and reaction time were evaluated to get dextrose equivalent (DE) between 10 and 25%. It evaluated the effect of modification degree over mechanical properties of flexible films of starch with different DE (7, 10, 13, 17, 21%). At DE values lower than 13%, the films exhibited increased stress compared to the native starch films, while the strain decreased for these same levels. On the other hand, to DE upper than 13%, the films exhibited similar stress and strain properties to the ones for native starch films, so these could be the most suitable among other films evaluated, taking into account the possible changes that could lead to overcome the limitations of the use of native starch

RESUMO

O amido de mandioca tem propriedades interessantes para vários processos, no entanto, o amido natural tem limitações que reduzem a sua funcionalidade. Este estudo procurou avaliar o processo de modificação enzimática do amido de mandioca para uso no desenvolvimento de filmes biodegradáveis flexíveis. Para isso a temperatura, concentração de enzima e tempo de reação ótima foi determinada para obter ED entre 10 e 25%. O efeito do grau de modificação das propriedades mecânicas de películas flexíveis de amido foi avaliada em diferentes ED (0, 7, 10, 13, 17, 21%). A valores de ED inferior a 13%, a película exibiu um maior esforço, em comparação com películas de amido nativo, enquanto o alongamento diminuiu para os mesmos níveis. Por outro lado, os filmes de amido hidrolisado valores ED acima de 13%, mostrou esforço e alongamento propriedades semelhantes às apresentadas por filmes amido nativo, por isso, estas poderiam ser a mais adequada entre os filmes avaliados, tendo em conta as possíveis mudanças que podem superar as limitações implícitas a utilização de amido nativo.

INTRODUCCIÓN

El almidón es la reserva de almacenamiento de carbohidratos más importante en las plantas y se encuentra en diferentes órganos de estas como semillas, frutos, tubérculos y raíces, muchos de los cuales son comestibles básicos en la dieta humana [1]. El almidón de yuca posee una viscosidad inusual, que le permite formar geles suaves, transparentes, sin olor y relativamente estables a la retrogradación, esto lo hace interesante a nivel industrial. La incorporación de almidón de yuca al proceso de obtención de polímeros plásticos constituye una importante aplicación de este polisacárido [2, 3].

Sin embargo, el almidón nativo posee ciertas limitaciones que disminuyen su funcionalidad en el área de empaques, relacionadas con el alto nivel de retrogradación y sinéresis, descomposición térmica y baja resistencia a efectos de corte. La modificación química, física o biológica, se ha mostrado como una alternativa no sólo para este tipo de inconvenientes sino para mejorar la claridad y brillo de pasta, textura de gel y formación y adhesión de películas [4, 5]. Algunos

PALABRAS CLAVE:

Hidrólisis, Temperatura, Esfuerzo, Elongación.

KEYWORDS:

Hydrolysis, Temperature, Stress, Strain.

PALAVRAS-CHAVE:

Hidrólise, Temperatura, Modelo, Esforço, Alongamento.

estudios han sido realizados en cuanto a hidrólisis enzimática de almidón de diferentes fuentes para obtención de azúcares fermentables [6, 7, 8, 9, 10, 11], mientras que en otros estudios se ha evaluado la modificación de almidón, incluso en combinación con otros métodos físicos y químicos, para mejorar su funcionalidad en aplicaciones comunes en la industria, como son, el uso como espesante, estabilizador, agente gelificante, aumentador de volumen y retenedor de agua, así como para incrementar su digestibilidad en el tracto intestinal humano cuando es consumido en diferentes derivados [2, 5, 12, 13, 14, 15].

En el caso de la industria de empaques biodegradables, son pocos los estudios que se han enfocado en la modificación de almidón por vía enzimática, sin embargo, se ha reconocido que mediante la hidrólisis de almidón es posible disminuir el peso molecular promedio de este, disminuyendo el tamaño de las moléculas de almidón y la viscosidad de las dispersiones preparadas, lo que favorece la obtención de películas de mayor calidad dado que, el almidón modificado presenta alta estabilidad a cambios de pH y temperatura, aumentando la consistencia y el poder aglutinante, dando transparencia a la pasta, disminuyendo la retrogradación y aumentando la estabilidad ante el congelamiento y descongelamiento [16, 17].

El objetivo del presente estudio fue obtener un modelo estadístico para el proceso de modificación enzimática de almidón de yuca para su aplicación en elaboración de películas, así como evaluar el efecto de diferentes grados de modificación sobre las propiedades mecánicas de películas biodegradables obtenidas a partir de este.

MÉTODO

Materiales

Almidón de yuca. Se empleó almidón de la variedad SM 1498-4, proveniente del municipio de Morales (Cauca), con un tamaño de partícula menor a $300 \mu\text{m}$ y una humedad entre 13 y 15%.

Enzima. Se empleó α -amilasa bacteriana de *Bacillus amyloliquefaciens* (BAN 240L) de SIGMA Aldrich.

Reactivos. Para el proceso de modificación enzimática se emplearon cloruro de calcio, hidróxido de sodio y ácido clorhídrico grado analítico. Para la determinación del grado de modificación se empleó el reactivo Ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS).

Métodos

Modificación enzimática. Se evaluó el efecto de la concentración de enzima ($0,66 \mu\text{L/g}$ almidón y $0,73 \mu\text{L/g}$ almidón), temperatura (48°C y 52°C) y tiempo de reacción (30 y 60 minutos), sobre el ED, mediante la aplicación de un diseño factorial 2^k . Cada tratamiento fue realizado por triplicado. Se prepararon 200 mL de suspensión de almidón nativo de yuca al 25% p/v en base seca [16], la cual fue calentada en plancha de calentamiento con agitación constante de 400 rpm y manteniendo un valor de pH estable durante el proceso, ajustándolo mediante NaOH 2N o HCl 18,5% a un valor de 6,0. La cantidad de enzima se adicionó cuando la suspensión alcanzó la temperatura de trabajo y posterior a la adición de cloruro de calcio al 30%, el cual se adicionó de acuerdo a las necesidades de la enzima según el proveedor ($70 \text{ mg CaCl}_2/\text{Kg}$ almidón) [18]. El tiempo fue contabilizado a partir de que la suspensión alcanzó la temperatura del tratamiento en estudio y finalizado este, la enzima fue inactivada con HCl 18,5% hasta pH inferior a 4,0.

Se realizó el análisis estadístico empleando el programa SPSS 15.0 y la optimización por el método de superficie de respuesta mediante el programa MATLAB® Versión 7.6.0324 (R2008a) de MathWorks, Inc. Para la optimización fue necesario obtener información de puntos adicionales, en el intervalo de interés, de acuerdo a la tendencia de los resultados conseguidos en cada tratamiento. Teniendo en consideración la potencial aplicación del producto obtenido en el desarrollo de películas flexibles, el grado de modificación deseado se fijó en un intervalo de 10 a 25% de ED, basado en estudios realizados por otros autores [16]. De acuerdo con ello, los niveles de temperatura evaluados fueron fijados con el fin de tener mayor control sobre el proceso y evitar grados de hidrólisis excesivos.

Determinación del grado de modificación. Se aplicó la metodología del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) adaptada por Bonilla y Hoyos (2012) [19], para determinación del ED, empleando un espectrofotómetro SHIMADZU UV 1800 adaptado a software para procesamiento de datos UV PROBE®. Para obtener la muestra a analizar, 40 mL de la suspensión procesada fueron centrifugados a 6000 rpm por 10 minutos, el sobrenadante obtenido fue filtrado y recuperado para su análisis.

Preparación de las películas. La preparación de las películas se realizó mediante el método de casting. Se elaboraron películas de almidón nativo y almidón modificado con cinco niveles de ED (7, 10, 13, 17, 21%),

mediante la mezcla de agua destilada y almidón de yuca en una relación de 15:1 respectivamente. Se empleó glicerol como plastificante en una proporción de 20% con respecto a la cantidad de almidón empleada. La mezcla fue sometida a calentamiento en baño de agua hasta gelatinización, después de lo cual, la mezcla se vertió en moldes de acetato que fueron llevados a estufa de secado a 60°C por 10 horas.

Propiedades mecánicas. Se aplicó una prueba de tensión, para lo cual las películas fueron cortadas en forma de probetas con las dimensiones especificadas en la norma ASTM D882, y se acondicionaron a una temperatura de 23°C y una humedad relativa de 60%, de acuerdo a la misma norma, hasta lograr peso constante, en una cámara climática BINDER. Pasado el periodo de acondicionamiento, se evaluaron las propiedades mecánicas de esfuerzo de tensión y elongación, en una máquina universal SHIMADZU EZ-L con una velocidad de cabezal de 20 mm/min y una velocidad de recolección de datos de 500 ms. Se utilizó una celda con carga de 500 N y una distancia entre mordazas de 100 mm. Se aplicó un diseño completamente al azar con el cual se evaluó el grado de modificación enzimática. El análisis estadístico fue realizado empleando el programa SPSS 15.0, con un nivel de significancia de 5%.

RESULTADOS

Modificación enzimática de almidón de yuca

En el cuadro 1 se muestran los porcentajes de ED obtenidos para cada tratamiento aplicado. El análisis de varianza indicó que todos los factores presentan efecto sobre el valor del ED, observando que la temperatura

es el factor de mayor influencia entre los tres, seguido del tiempo de reacción y la concentración de enzima.

Además mostró que existe influencia de las interacciones entre los factores evaluados, siendo el de mayor efecto la interacción temperatura y tiempo, seguido de la interacción temperatura y concentración de enzima. Esto confirma la importante influencia de la temperatura en el proceso incluso en la interacción con las demás variables, lo cual está relacionado con el incremento de la tasa de reacción, cuando se aumenta la temperatura en los procesos catalizados por enzimas. Un aumento de 1°C en la temperatura de proceso puede llevar a incrementos de alrededor del 10% o más en la tasa de reacción dependiendo del tipo de enzima [20].

La prueba de promedios de Tukey para los ocho tratamientos en estudio (cuadro 1), arrojó siete subconjuntos homogéneos, mostrando diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre los tratamientos evaluados, excepto entre los tratamientos 1 y 2. Dado que todas las enzimas presentan un rango de temperatura en el cual la actividad catalítica es máxima [20], el aumento en la concentración de enzima parece generar poco efecto sobre el grado de modificación, teniendo en cuenta que las condiciones de temperatura y tiempo empleadas en estos dos tratamientos corresponden a los niveles más bajos y que la actividad enzimática se ve favorecida al acercarse más al rango de temperatura óptimo entre 70 y 90°C [6, 18].

Optimización del proceso por el método de superficie de respuesta

Los resultados obtenidos en las corridas adicionales son presentados en el Cuadro 2. El modelo estadístico obtenido se muestra en la ecuación 1.

Cuadro 1. Valores de ED obtenidos para el modelo SM 1498-4.

Tratamiento	Concentración de enzima (A) ($\mu\text{L/g}$ almidón)	Temperatura (B) ($^{\circ}\text{C}$)	Tiempo de reacción (C) (min)	%ED
1	0,66	48	30	9,194 \pm 0,010 ^a
A	0,73	48	30	9,459 \pm 0,052 ^a
B	0,66	52	30	25,898 \pm 0,017 ^b
AB	0,73	52	30	29,307 \pm 0,103 ^c
C	0,66	48	60	14,096 \pm 0,042 ^d
AC	0,73	48	60	14,518 \pm 0,037 ^e
CB	0,66	52	60	34,135 \pm 0,150 ^f
ABC	0,73	52	60	36,495 \pm 0,049 ^g

a-g: Agrupación prueba de promedios de tukey

$$y = 14,6681 + 0,1963x_1 + 3,6275x_2 + 2,2365x_3 - 0,1081x_1^2 - 0,1956x_2^2 + 1,0806x_3^2 + 0,1719x_1x_2 - 0,0692x_1x_3 + 0,2083x_2x_3 \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde y representa el ED, x_1 concentración enzimática, x_2 temperatura y x_3 tiempo.

En este mismo sentido se calculó el coeficiente de determinación de la regresión definido como la relación entre la suma de cuadrados del modelo y la suma de cuadrados total, obteniendo un valor de 99,94%. Este valor puede considerarse apropiado teniendo en consideración que representa la proporción de variabilidad total en la respuesta arrojada por el modelo [21].

La figura 1 muestra las gráficas de superficie de respuesta a las temperaturas de 48 y 52°C, correspondientes a los niveles bajo y alto de esta variable. Al compararlas, se observan notorias diferencias en la tendencia de los gráficos entre un nivel y otro, confirmando la influencia de la temperatura no sólo sobre la variable de respuesta sino sobre la actividad de la enzima, en donde a 48°C, el incremento en la dosis enzimática no causa un aumento importante en el grado de modificación, mientras a 52°C la concentración enzimática presenta un mayor efecto, que gráficamente se manifiesta por una mayor inclinación en la superficie de respuesta.

Mediante estas gráficas es posible determinar las condiciones de tiempo y concentración de enzima necesarias para obtener un ED deseado, bien sea a una temperatura de 48°C o de 52°C.

Cuadro 2. Puntos adicionales modelo estadístico.

Corrida	Concentración de enzima ($\mu\text{L/g}$ almidón)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Tiempo de reacción (min)	%ED
A1	0,66	49	30	17,065 \pm 0,031
A2	0,73	49	30	17,405 \pm 0,035
A3	0,66	49	60	20,720 \pm 0,056
A4	0,73	49	60	21,090 \pm 0,053
A5	0,79	49	60	21,550 \pm 0,072
A6	0,69	50	45	23,808 \pm 0,044

Evaluación del comportamiento mecánico de almidón hidrolizado en la elaboración de películas flexibles

En cuanto al esfuerzo de tensión generado por las películas evaluadas, los resultados mostraron un aumento del valor de esta propiedad con la modificación del almidón a un ED de 7, 10 y 13%, mientras disminuyó a un ED 17 y 21% con respecto a las películas de almidón nativo. Así mismo, se observó que al aumentar el grado de modificación del almidón, el esfuerzo generado por el material disminuyó. La prueba de promedios de Tukey arrojó dos subconjuntos homogéneos a y b (figura 2) para el esfuerzo de las películas, mostran-

Figura 1. Comportamiento del ED en la interacción del tiempo y la concentración de enzima a temperatura de reacción de (a) 48°C, (b) 52°C para el modelo SM 1498-4.

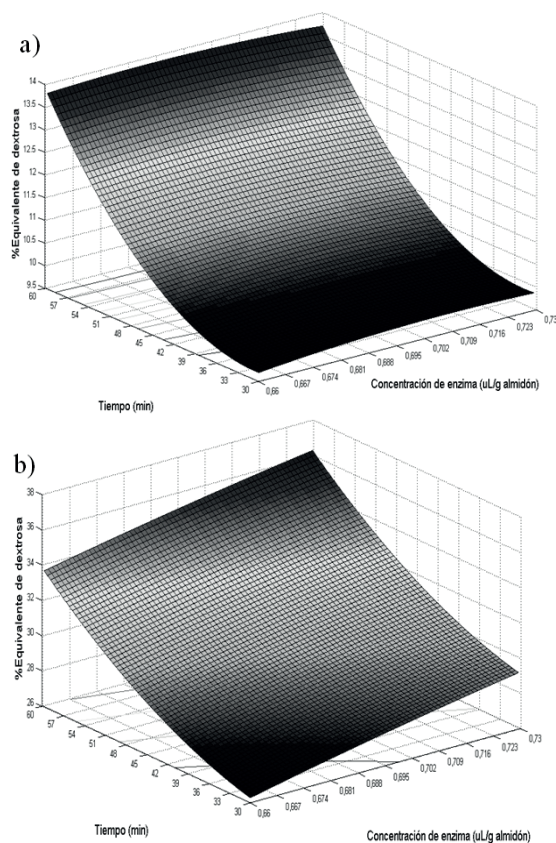
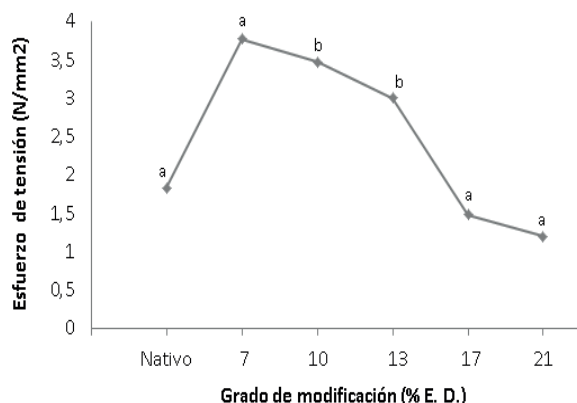


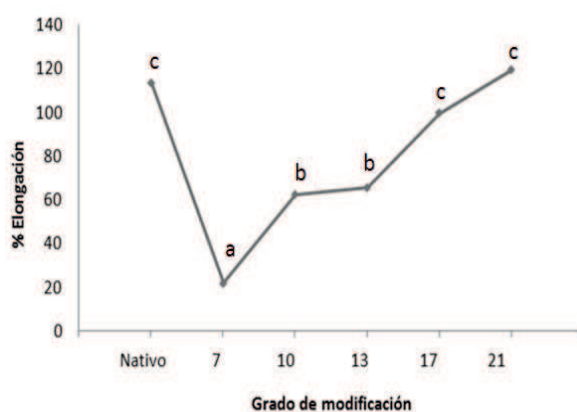
Figura 2. Esfuerzo de tensión de películas de almidón de yuca a diferentes grados de modificación.



do que no existen diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre las películas de almidón nativo y las de almidón modificado a un ED de 17 y 21%, así como entre las de almidón modificado a un ED de 7, 10 y 13%.

Contrario a lo observado para el esfuerzo, el porcentaje de elongación presentado por las películas evaluadas, disminuyó con la modificación del almidón a un ED de 7, 10 y 13%, mientras se mantuvo para un ED de 17 y 21% con respecto a las películas de almidón nativo. La prueba de promedios de Tukey arrojó tres subconjuntos homogéneos a, b y c para el porcentaje de elongación de las películas (figura 3). Según la prueba no existen diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre las películas de almidón nativo y las de almidón modificado a un ED de 17 y 21%, e igualmente entre las películas a 10 y 13%, mientras las películas de al-

Figura 3. Porcentaje de elongación de películas de almidón de yuca a diferentes grados de modificación.



midón a un ED de 7% difieren significativamente de todas las demás con menor elongación.

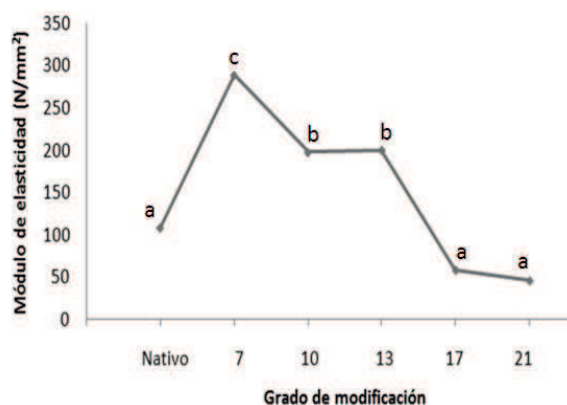
En cuanto al módulo de elasticidad, este presentó un comportamiento similar al exhibido por el esfuerzo (figura 4), dado que esta propiedad representa la relación entre esfuerzo y porcentaje de elongación.

De acuerdo a la prueba de promedios de Tukey (figura 4), entre las películas de almidón nativo y modificado a un ED de 21 y 17% no existen diferencias significativas en cuanto al módulo de elasticidad, así como entre las películas de almidón modificado a un ED de 10 y 13%, mientras las películas de almidón a un ED de 7% difieren significativamente de las películas a otros grados de modificación.

El comportamiento presentado en cada una de las propiedades evaluadas podría ser explicado por la forma de acción enzimática sobre los gránulos de almidón. Es reportado que la α -amilasa hidroliza preferencialmente las regiones amorfas previo a las cristalinas [14, 12], debido probablemente a los canales radiales en los gránulos de almidón que hacen más accesible a la región amorfa para las enzimas [14, 22].

De otro lado, se ha estudiado el efecto del contenido de amilosa sobre las propiedades de los materiales de almidón, mostrando que un incremento en esta característica, causa un incremento en el esfuerzo y el módulo de elasticidad, disminuyendo simultáneamente el porcentaje de elongación [23, 24, 25], mientras que la estructura ramificada de la amilopectina lleva generalmente a un menor esfuerzo de los materiales [23].

Figura 4. Módulo de elasticidad de películas de almidón de yuca a diferentes grados de modificación.



[24] y [26] observaron este comportamiento al evaluar las propiedades mecánicas de películas de almidón de yuca con diferentes contenidos de amilosa. En este sentido, al observar la tendencia seguida por las propiedades mecánicas evaluadas a diferentes grados de modificación, podría inferirse que el ataque enzimático ocurrió inicialmente en la fracción de amilopectina de la región amorfa, ocasionando una concentración de la amilosa, causando el incremento del esfuerzo y la pérdida de elongación en las películas obtenidas con almidón hidrolizado a un ED de 7, 10 y 13%, con respecto a las películas de almidón nativo. Aunque se ha reportado que las fracciones de amilopectina y amilosa son hidrolizadas igualmente, la accesibilidad inicial a esta última podría no ser tan directa como en el caso de la amilopectina, debido a la localización de la amilosa dentro del gránulo. El modelo actualmente aceptado de localización de la amilosa, sugiere que las moléculas de este polisacárido se encuentran dentro del gránulo como cadenas individuales radialmente orientadas, las cuales se intercalan aleatoriamente entre las cadenas radiales de amilopectina [27], por lo que la enzima podría acceder a la fracción de amilosa una vez actúa sobre la fracción de amilopectina, esto podría explicar la disminución del esfuerzo y el aumento en el porcentaje de elongación a medida que el grado de modificación aumenta, puesto que la amilosa se hace cada vez más accesible para la degradación enzimática.

Sin embargo, durante la hidrólisis de almidón se produce el rompimiento de enlaces glucosídicos, lo cual conlleva a la generación de cadenas más cortas y más susceptibles a reubicación y reorganización para la producción de estructuras altamente ramificadas, debido a la recombinación de fragmentos entre los grupos hidroxilo más cercanos a la molécula fraccionada [17]. Este rearrreglo sufrido a nivel molecular, evidentemente ocasiona cambios en las propiedades tanto del almidón como de los materiales obtenidos a partir de este, que para este caso se traducen en un aumento inicial de esfuerzo y menor elongación en el material, debido a las nuevas interacciones entre cadenas tanto de amilopectina como de amilosa, y así mismo, una disminución del esfuerzo e incremento de la elongación, conforme aumenta el grado de modificación, debido a la desintegración progresiva de las moléculas causada por el ataque enzimático.

En el cuadro 3 se presentan las propiedades térmicas obtenidas por [28], mediante calorimetría de barrido diferencial (DSC) para el almidón evaluado en este estudio en estado nativo e hidrolizado. Se observa un

Cuadro 3. Transiciones de fase de almidón nativo e hidrolizado de yuca.

Propiedad	Almidón nativo	Almidón hidrolizado
Tg (°C)	109,27	131,39
To (°C)	130,32	140,25
Tp (°C)	239,22	139,59
Tf (°C)	239,22	233,69
ΔH (J/g)	185,9	269,6
Tf-To(°C)	128,54	93,44

Fuente: Proyecto películas flexibles, MADR, 2011

aumento en el valor de las propiedades térmicas tras el proceso de hidrólisis, similar a lo obtenido por [22] en almidón de arroz y por [1] en almidón de yuca. Estos resultados podrían posiblemente reafirmar la teoría de que la enzima actúa con mayor facilidad sobre la región amorfa del gránulo de almidón, dando como resultado un aumento en la temperatura de transición vítrea (Tg) [29].

Al igual que la Tg, la entalpía de fusión (ΔH) también se incrementó, lo que también podría manifestar una mayor acción enzimática sobre las regiones amorfas, dado que esta propiedad está asociada con la fusión de las zonas cristalinas [6], mientras más cristalina la muestra mayor cantidad de energía será requerida para fundir estos cristales, sin embargo algunos autores afirman que la entalpía de fusión refleja la cantidad de dobles hélices y enlaces en la muestra, más que el orden cristalino [10, 13, 30], por lo que un aumento en esta propiedad podría sugerir un mayor número de dobles hélices. La presencia de dobles hélices está relacionada con la reubicación y reorganización que sufren las moléculas a causa de la fragmentación en los enlaces glucosídicos. En cuanto al rango de fusión (Tf-To), este presentó una disminución, lo cual podría indicar una mayor uniformidad de tamaños y pesos moleculares [31].

Por otra parte, datos de difracción de rayos X (DRX) [32] (cuadro 4) mostraron un leve aumento en la zona amorfa así como una ligera disminución de la zona cristalina, contrario a lo obtenido en otros estudios en los cuales fue observado un incremento en este parámetro [15, 22]. De acuerdo a esto, el valor de la CR disminuyó para almidón hidrolizado, lo cual podría sugerir que la enzima atacó preferencialmente la zona cristalina de los gránulos, sin embargo, se ha planteado la hipótesis de que las enzimas actúan

Cuadro 4. Área de las fases amorfa y cristalina de almidón nativo e hidrolizado de las siete variedades de yuca.

Área de la fase ^a			
Amorfa		Cristalina	
Almidón nativo	Almidón hidrolizado	Almidón nativo	Almidón hidrolizado
4420,40	5174,03	2996,16	2597,83

a. Área según unidades del Origin versión 8.0.

Fuente: Proyecto películas flexibles, MADR, 2011

inicialmente en las regiones amorfas de mayor accesibilidad mientras la fracción cristalina va disminuyendo simultáneamente su orden, por lo que la conversión de las zonas amorfas resulta en la producción de más zonas amorfas y la consecuente reducción de la cristalinidad [14]. Por tanto, el comportamiento observado, podría indicar no precisamente un mayor ataque sobre las zonas cristalinas, sino una pérdida de orden molecular que afecta la organización de dichas zonas, teniendo en cuenta que el proceso de hidrólisis implica el fraccionamiento de las moléculas y la consecuente reubicación de estas. Adicionalmente, esta pérdida de orden a nivel granular podría además de llevar al incremento observado de la zona amorfa, a cambios como los observados en las propiedades térmicas y mecánicas del almidón [3].

De acuerdo a lo discutido, se puede inferir que la modificación enzimática de almidón de yuca no sólo implicará cambios en las propiedades mecánicas de los materiales obtenidos, sino que también generará cambios en términos de estabilidad, envejecimiento e higroscopicidad de estos, que se espera sean cambios positivos debido a las modificaciones que se presume ocurren a nivel granular.

CONCLUSIONES

La optimización por superficie de respuesta mostró ser una herramienta adecuada en la modelación del proceso de modificación enzimática de almidón de yuca, entregando un modelo útil en la predicción de las condiciones de proceso o bien del ED a obtener bajo parámetros determinados.

La temperatura mostró ser un factor determinante dentro del proceso de hidrólisis de almidón, por lo que requiere especial control, dado que variaciones im-

portantes (mayores a 1°C) pueden llevar a hidrólisis deficientes, grados de modificación excesivos, o bien a la gelatinización de la suspensión.

Las películas de almidón hidrolizado de yuca exhibieron diferentes propiedades mecánicas de acuerdo al grado de modificación, lo cual está probablemente relacionado con el ataque enzimático sobre las zonas amorfas de los gránulos de almidón, que resultó en cambios importantes en la cristalinidad y las propiedades térmicas del almidón, asociados posiblemente a la reorganización de las moléculas, generada por los rompimientos que se llevan a cabo durante el proceso hidrolítico.

La modificación enzimática de almidón de yuca implicará cambios en las propiedades mecánicas de los materiales obtenidos, así como cambios en términos de estabilidad, envejecimiento e higroscopicidad de estos, que se espera sean cambios positivos debido a las modificaciones que se presume ocurren a nivel granular.

AGRADECIMIENTOS

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

REFERENCIAS

- [1] LACERDA, L.G, MENEGASSI, J.A., DA SILVA, M.A., MOTTIN, I., SCHNITZLER, E., PORTO DE SOUZA, L. and SOCCOL, C.R. Thermal characterization of Partially Hydrolyzed Cassava (Manihot esculenta) Starch Granules. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51(6), 2008, p. 1209-1216.
- [2] AI, Y., HASJIM, J. and JANE, J. Effects of lipids on enzymatic hydrolysis and physical properties of starch. *Carbohydrate Polymers*, 92, 2013, p. 120– 127.
- [3] MUSCAT, D., ADHIKARI, B., ADHIKARI, R. and CHAUDHARY, D.S. Comparative study of film forming behaviour of low and high amylose starches using glycerol and xylitol as plasticizers. *Journal of Food Engineering*, 109, 2012, p. 189–201.
- [4] KAUR, B., ARIFFIN, F., BHAT, R. and KARIM, A. Progress in starch modification in the last decade. *Food Hydrocolloids*, 26, 2012, p. 398-404.
- [5] GAO, F., LI, D., BI, C., MAO, Z. and ADHIKARI, B. Preparation and characterization of starch

- crosslinked with sodium trimetaphosphate and hydrolyzed by enzymes. *Carbohydrate Polymers*, 103, 2014, p. 310–318.
- [6] UTHUMPORN, U., KARIM, A. and FAZILAH, A. Defatting improves the hydrolysis of granular starch using a mixture of fungal amylolytic enzymes. *Industrial Crops and Products*, 43, 2013, p. 441–449.
- [7] AYODEJI, A., OPEYEMI, A., VINCENT, C. and ADEOLA, D. Optimum hydrolysis conditions of cassava starch for glucose production. *International Journal of Advanced Research in IT and Engineering*, 2(1), 2013, p. 93-101.
- [8] LEAES, E., ZIMERMANN, E., SOUZA, M., RAMON, A., MEZADRI, E., DAL PRA, V., TERRA, L., and MAZZUTI, M. Ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis of cassava waste to obtain fermentable sugars. *Byosystems engineering*, 115, 2013, p. 1-6.
- [9] COLLARES, R., MIKLASEVICIUS, L., BASSACO, M., SALAU, N., MAZUTTI, M., BISOGNIN, D and TERRA, L. Optimization of enzymatic hydrolysis of cassava to obtain fermentable sugars. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 13, (7), 2012, p. 579-586.
- [10] NAGULESWARAN, S., LI, J., VASANATHAN, T., BRESSLER, D. and RATNAJOTHI, H. Amylolytic of large and small granules of native triticale, wheat and corn starches using a mixture of alfa-amylase and glucoamylase. *Carbohydrate Polymers*, 88, 2012, p. 864–874.
- [11] SHANAVAS, S., PADMAJA, G., MOORTHY, S., SAJEEV, M. and SHERIFF, J. Process optimization for bioethanol production from cassava starch using novel eco-friendly enzymes. *Biomass and Bioenergy*, 35, 2011, p. 901-909.
- [12] XU, R., XU, D and XU, H. Effect of enzymatic hydrolysis on the resistant starch yield. *Italian Journal of Food Science*, 24, 2012, p. 367-375.
- [13] DURA, A., BLASZCACK, W. and ROSELL, C. Functionality of porous starch obtained by amylase or amyloglucosidase treatments. *Carbohydrate Polymers*, 101, 2014, p. 837–845.
- [14] FORESTI, M.L., WILLIAMS, M.P., MARTÍNEZ, R. and VÁZQUEZ, A. Analysis of a preferential action of -amylase from *B. licheniformis* towards amorphous regions of waxy maize starch. *Carbohydrate Polymers*, 102, 2014, p. 80–87.
- [15] JIANG, Q., GAO, W., LI, X. and ZHANG, J. Characteristics of native and enzymatically hydrolyzed *Zea mays* L., *Fritillaria ussuriensis* Maxim. and *Dioscorea opposita* Thunb. starches. *Food Hydrocolloids*, 25, 2011, p. 521-528.
- [16] SHAMEKH, S., PÄIVI, M., KAISA, P. and FORSSE, P. Film Formation Properties of Potato Starch Hydrolysates. *Starch/Stärke*, 54(1), 2002, p. 20-24.
- [17] ARITIZÁBAL, J., MORENO, F. y BASTO, G. Estudio de una nueva técnica e implementación de una línea piloto de proceso para la obtención de dextrinas a partir de almidón de yuca. *Revista de Ingeniería e Investigación*, 27 (2), 2007, p. 26-33.
- [18] NOVOZYMES LATIN AMERICA LTDA. Almidón: ficha de aplicación. Licuefacción eficiente del almidón. No. 2008-18541-01. Araucaria (Brasil): 2008, 10 p.
- [19] BONILLA, R. y HOYOS, J.L. Determinación del equivalente de dextrosa por el método de DNS. Norma instructiva CYTBIA, Universidad del Cauca. Popayán (Colombia): 2012, 3 p.
- [20] CHAPLIN, M. and BUCKE, C. Enzyme Technology [Online]. 2012. Disponible: <http://www1.lsbu.ac.uk/water/enztech/>. [Citado el 12 de Agosto de 2013].
- [21] MONTGOMERY, D. and RUNGER, G. En: *Applied statistics and probability for engineers. Adequacy of the regression model*. 5 ed. Estados Unidos: Jhon Wiley and sons, Inc, 2011, p. 428-426-431.
- [22] KIM, J., PARK, D. and LIM S. Fragmentation of Waxy Rice Starch Granules by Enzymatic Hydrolysis. Fragmentation of waxy rice starch granules by enzymatic hydrolysis. *Cereal Chemistry*, 85, 2008, p. 182–187.
- [23] WITTAYA, T. En: *Structure and Function on Food Engineering. Rice Starch-Based Biodegradable Films: Properties Enhancement* [online]. 2012. Disponible: <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/38357.pdf>. [Citado el 25 de Mayo de 2013].
- [24] LI, M., LIU, P., ZOU, W., YU, L., XIE, F., PU, H., LIU, H. and CHEN, L. Extrusion processing and characterization of edible starch films with different amylose contents. *Journal of Food Engineering*, 106, 2011, p. 95–101.
- [25] TALJA, R.A. Preparation and characterization of potato starch films plasticized with polyols [Ph. D. Thesis]. Helsinki (Finland): University of Helsinki, Department of Food Technology, 2007, 57 p.
- [26] DIAS, V., MALI, S., BELÉIA, A. and GROSSMANN, M. Va. Effect of glicerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. *Journal of Food Engineering*, 78 (3), 2007, p. 941-946.
- [27] Be MILLER, J.N. and WHISTLER, R. L. Starch: chemistry and technology [online]. 2009. Disponible: <http://books.google.com.co/books>

- ?id=Anbz _whRM2YC&dq=The+currently+accepted+model+of+amylose+location+in+starch+granules+is,+therefore,+as+individual,+radiallyorientated+chains+randomly+distributed+among+the+...&source=gbs_navlinks_s. [Citado el 17 de Marzo de 2011].
- [28] COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL (MADR)–UNIVERSIDAD DEL CAUCA–CENTRO REGIONAL DE PRODUCTIVIDAD E INNOVACIÓN DEL CAUCA (CREPIC). Análisis térmico de almidones hidrolizados y caracterización del grado de cristalinidad de almidones nativos e hidrolizados. Producción y caracterización de películas flexibles biodegradables por extrusión de tornillo simple a partir de almidón de yuca, plastificante y PLA [Proyecto aprobado dentro del programa “Uso de productos y subproductos de yuca (Manihot esculenta Crantz) en el desarrollo de empaques biodegradables” con código 2008Z3816]. Popayán (Colombia): 2011.
- [29] PÉREZ, A., SANDOVAL, A., COVA, A. and MÜLLER, A. Glass transitions and physical aging of cassava starch – Corn oil blends. *Carbohydrate Polymers*, 105, 2014, p. 244–252.
- [30] CHEN, Y., HUANG, S., TANG, Z., CHEN, X. and ZHANG, Z. Structural changes of cassava starch granules hydrolyzed by a mixture of alfa-amylase and glucoamylase. *Carbohydrate Polymers*, 85, 2011, p. 272–275.
- [31] TENÍA, R., ROJAS DE GÁSCUE, B., PRIN, J.L., HERNÁNDEZ, G., YAÑEZ, J. y MÜLLER, A.J. Microscopía electrónica y SSA de polietilenos de ultra baja densidad [online]. 2009. Disponible: <http://www.ciasem2009.com.ar/upload_extended/ea32523_userid-288.pdf> [Citado el 7 de Agosto de 2011].
- [32] MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL (MADR)–UNIVERSIDAD DEL CAUCA – CENTRO REGIONAL DE PRODUCTIVIDAD E INNOVACIÓN DEL CAUCA (CREPIC). Análisis por microscopía de escaneo electrónico (SEM) de almidón de yuca nativo e hidrolizado. Producción y caracterización de películas flexibles biodegradables por extrusión de tornillo simple a partir de almidón de yuca, plastificante y PLA [Proyecto aprobado y cofinanciado por el MADR dentro del programa “Uso de productos y subproductos de yuca (Manihot esculenta Crantz) en el desarrollo de empaques biodegradables” con código 2008Z3816]. Popayán (Colombia): 2011.