

**OBTENCIÓN DE UN PRODUCTO LÍQUIDO MEDIANTE HIDRÓLISIS
ENZIMÁTICA DEL ALMIDÓN DE SULÚ (*Maranta arundinaceae* L.)**

**GETTING OF A LIQUID PRODUCT BY ENZYMATIC HYDROLYSIS OF SULÚ STARCH
(*Maranta arundinaceae* L.)**

Piñero, J., Montaña, G. y Cubas, L.

Universidad Nacional Experimental "Simón Rodríguez". Ingeniería de Alimentos.
Núcleo Canoabo. Laboratorio de Bioprocesos. Canoabo Edo. Carabobo, Venezuela.
Telefax: 0249-7934795, Cel. 0416-2411006, e-mail: unesrcanoabo@gmail.com

Recibido: 15-12-2006 / Aceptado: 07-06-2007

RESUMEN

Se obtuvo un producto líquido parcialmente hidrolizado mediante procesos enzimáticos de licuefacción y sacarificación del almidón de sulú (*Maranta arundinacea* L.). La composición bromatológica de la harina dio un bajo contenido de grasa (0,20) 0,02%), proteínas (0,53) 0,02%) y fibra (0,11) 0,03%), lo cual favorece la hidrólisis enzimática del almidón. Se evaluaron cuatro variables enzimáticas, empleando las condiciones de pH y temperatura óptimas de las enzimas especificadas por la casa comercial: **1)** Efecto de la concentración de la enzima -amilasa (Termamyl 120L) (0,05, 0,10 y 0,20%) sobre la licuefacción de una suspensión de almidón al 30% (p/v). **2)** Efecto de la concentración de almidón (10, 20, 30 y 40% (p/v)) sobre la licuefacción con Termamyl al 0,2%. **3)** Efecto de la concentración de la mezcla enzimática comercial SAN Super 240L (0,024, 0,048, 0,12 y 0,24%) sobre la sacarificación de almidón al 40% licuado con Termamyl (0,2%). **4)** Efecto del tiempo de sacarificación con SAN Super en el cual se evaluaron dos tratamientos enzimáticos (0,12 y 0,24%) a 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos. Cada tratamiento se realizó por triplicado, los valores se sometieron a un análisis de varianza en caso de diferencias significativas se aplicó la prueba de Tuckey de comparación de medias. Con la concentración de 0,2% de Termamyl se obtuvo la mayor producción de azúcares reductores (6,09%) y sólidos solubles (16,4° Brix); se observó mayor conversión a azúcares reductores (9,85%) y sólidos solubles (27,7%) en la suspensión de almidón al 40%; el mayor grado de sacarificación se logró con 0,24% de SAN Super y 150 minutos (20,15% azúcares reductores y 28°Brix). El contenido de sólidos solubles no es directamente proporcional a la cantidad de azúcares reductores. El producto obtenido con 90 min. de sacarificación contenía 14% de almidón residual, 11,68% de glucosa, 16,45% de azúcares reductores y 28°Brix.

Palabras clave: *Maranta arundinacea*, sulú, almidón, liquefaction, saccharification

SUMMARY

It was obtained a liquid product by a partial hydrolysis with liquefaction and saccharification process from sulú starch (*Maranta arundinacea* L.). The bromatological composition showed a low content of the fat ((0.20) 0.02%), proteins (0.53) 0.02%) and fibre (0.11) 0.03%), which help the enzymatic starch-hydrolysis. It was evaluated four enzymatic variables at standard pH and temperature conditions: **1)** -amylase concentration effect (commercial enzyme Termamyl 120L, 0.05, 0.10 and 0.20 % (p/v)) at 30% (p/v) starch concentration. **2)** Starch concentration effect (10, 20, 30 and 40% (p/v)) over liquefaction with 0.2% Termamyl **3)** SAN Super 240L concentration effect over 40% liquefied starch-saccharification with four treatments (0.024, 0.048, 0.12 and 0.24%). **4)** Time saccharification effect with 0.12 and 0.24% SAN Super at 30, 60, 90, 120, 150 and 180 min. Each treatment was carried out three times, it was applied an analysis of variance and a test of Tuckey for comparison of means. 0.2% Termamyl gave the great reducing sugars production (6.0%) and soluble solids (16.4 °Brix); it was observed major conversion into reducing sugars (9.85%) and soluble solids (27.7%) on 40% starch; the major saccharification degree was reached with 0.24% SAN Super and 150 min. The content of soluble solids is not proportional to the amount of reducing sugars. The product obtained with 90 min. of saccharification had 14% residual starch, 11.68% glucose, 16.4% reducing sugars and 28 °Brix.

Key words: *Maranta arundinacea*, arrowroot, starch, liquefaction, saccharification

INTRODUCCIÓN

El almidón es uno de los polisacáridos naturales de origen vegetal, más abundante y disponible que existe en la naturaleza. Además, el almidón constituye la principal fuente alimenticia proveniente de rubros de alto consumo como los cereales, tubérculos y raíces, por lo que se justifica cualquier alternativa conducente a aumentar su valor agregado mejorando sus propiedades funcionales y nutricionales. Tiene variadas aplicaciones tanto en su estado nativo como en su forma modificada mediante tratamientos enzimáticos. El uso regular del almidón en su forma natural con aplicaciones en la industria alimentaria, está limitado por sus propiedades fisicoquímicas, requiriendo modificaciones previas a su utilización y entre los métodos más utilizados por sus ventajas en la calidad de los productos obtenidos está la hidrólisis enzimática (Wurzburg, 1995). Dependiendo, de las condiciones y del grado de hidrólisis, los productos derivados varían en composición y propiedades funcionales y de estas características dependerá también su aplicación. Generalmente, los hidrolizados de almidón son destinados a la producción de maltodextrinas, jarabes glucosados y fructosados, y macerados destinados a la fermentación alcohólica.

En Venezuela existen fuentes de almidón de producción y consumo local cuyo potencial también puede ser explotado, buscando alternativas que aumenten el valor agregado de sus rubros agrícolas. Este es el caso del rizoma de sulú (*Maranta arundinacea* L.), cultivado y utilizado en el oriente de Venezuela para la elaboración artesanal de alimentos para ancianos y niños debido a sus propiedades digestivas, nutricionales y funcionales, razón por la cual es considerada una planta medicinal. Esta planta recibe varios nombres según su origen, jamachipeque en Bolivia, sagú en Colombia, Ecuador y Panamá, arrurruz en Chile y las Antillas (Bernal y Correa, 1994). Se cultiva en los trópicos por sus rizomas del cual se extrae el almidón de buena calidad, sin embargo, la edad de la planta influye en la composición fisicoquímica de los rizomas y del almidón extraído de ellos, en la distribución de tamaños de los gránulos de almidón y en las propiedades de la pasta, siendo favorable la cosecha de los rizomas en plantas

que tienen entre 12 y 14 meses (Ferrari *et al.*, 2005). Debido a la composición química y propiedades funcionales y reológicas del almidón, representa una alternativa para el desarrollo de productos alimenticios (Pérez y Lares, 2005). Con la finalidad de evaluar el potencial del almidón de sulú, para la elaboración de nuevos productos alimenticios o su incorporación a otros alimentos, la harina fue sometida a procesos de hidrólisis enzimática bajo diferentes condiciones de licuefacción y sacarificación para la obtención de un producto líquido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis bromatológico. La harina de sulú procesada artesanalmente se adquirió en Güiria, Estado Sucre. Se le determinó el contenido de humedad, grasa, proteína cruda, fibra cruda y cenizas utilizando los métodos de las Normas COVENIN (1979, 1980). El contenido de almidón, calcio y fósforo se cuantificó mediante métodos de la AOAC (1984, 2000).

Evaluación reológica. Se determinó el perfil amilográfico de la harina de sulú en el Laboratorio del Departamento de Nuevos Productos de la Empresa REMAVENCA, ubicada en Turmero Estado Aragua, empleando un equipo "Rapid Visco Analyzer" (RVA), marca Newport Scientific, modelo 3D.

Análisis microbiológico. A la harina de sulú se le realizaron pruebas de aerobios mesófilos, hongos y levaduras; al producto terminado se le hicieron pruebas de recuento de esporas de termófilos tipo "flat sour", esporas de anaerobios termófilos productores de H₂S, esporas de anaerobios termófilos no productores de H₂S, hongos y levaduras (García, 1990).

Enzimas utilizadas. Para la licuefacción del almidón se empleó el producto comercial Termamyl 120L; la sacarificación se realizó con la mezcla comercial SAN Super 240L. Ambos productos son de la casa Novozymes (Bagsvaerd, Dinamarca).

Determinaciones analíticas. El grado de hidrólisis en cada tratamiento se evaluó determinando el porcentaje de azúcares reductores (Lees, 1982) y de sólidos solubles (°Brix) (COVENIN, 1983).

Efecto de la concentración de enzimas en la licuefacción. Se evaluaron tres tratamientos consistentes en tres concentraciones diferentes de Termamyl, 0.05, 0.1 y 0.2% (p/p), cada una por triplicado, utilizando una suspensión de almidón al 30% en agua destilada, a la cual se

ajustó el pH a 6,5. La suspensión de almidón se llevó a la temperatura de gelatinización (74,2 °C) a la cual se adicionó la enzima incubando durante 20 minutos. Posteriormente, la temperatura se aumentó hasta que la suspensión alcanzó 93 °C incubando durante 1 h.

Efecto de la concentración de almidón en la licuefacción. Se evaluaron cuatro tratamientos, cada uno por triplicado, preparando suspensiones de almidón al 10, 20, 30 y 40% con pH ajustado a 6,5. Estas suspensiones se incubaron a 60 °C con la concentración de Termamyl que produjo mayor cantidad de azúcares reductores, subiendo inmediatamente la temperatura al valor de gelatinización manteniéndola durante 20 min., al cabo de los cuales se aumentó nuevamente a 93 °C, incubando durante 1 h.

Efecto de la concentración de enzima en la sacarificación. Se evaluaron cuatro tratamientos cada uno por triplicado: 0.024, 0.048, 0.12 y 0.24% (v/v) de SAN Super, para sacarificar la suspensión de almidón licuado que dio mejores resultados en el ensayo anterior. A cada suspensión se le ajustó previamente el pH a 5,0 y se llevó a 55 °C, temperatura a la cual se le adicionó la enzima e incubó durante 1 h (Novozymes, 2002; Atkerberg et al., 2000).

Efecto del tiempo de sacarificación. Se tomó el producto licuado que dio mayor porcentaje de azúcares reductores para evaluar el efecto del tiempo de sacarificación con dos concentraciones de SAN Super (0,12 y 0,24%). Los tiempos empleados fueron 30, 60, 90, 120, 150 y 180 min., con tres réplicas cada uno. Se incubó bajo las condiciones de sacarificación señaladas anteriormente para luego determinar el contenido de azúcares reductores y sólidos solubles.

Análisis fisicoquímico del producto obtenido. Al producto terminado se le determinó la cantidad de almidón residual (McCready *et al.*, 1950), glucosa (Trinder, 1969), azúcares reductores (Lees, 1982) y sólidos solubles (COVENIN, 1983); la viscosidad se midió utilizando un viscosímetro Rheotest 2 y la densidad mediante picnometría.

Análisis estadístico. Cada tratamiento se evaluó por triplicado. Los resultados en cada uno basados en el contenido de azúcares reductores y sólidos solubles, se promediaron y se sometieron a un análisis de varianza con un 95% de confiabilidad para determinar su significancia; a los resultados con diferencias significativas se les aplicó una prueba de comparación de medias basada en la prueba de Tuckey, empleando el programa estadístico SPSS versión 10, para determinar cuál fue el mejor de los tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química de la materia prima. Se observa un bajo contenido de grasa, fibra y proteína, lo que favorece la hidrólisis enzimática al no ejercer efectos inhibitorios. Adicionalmente, el bajo contenido en grasas permite mantener la estabilidad de la harina en cuanto a enranciamiento, reacciones y/o interacción con otros componentes como el almidón que al formar complejos limita su cuantificación y disponibilidad (Flores y Romero, 1998). El calcio es un elemento estabilizador de la estructura de la -amilasa (Novo Nordisk, 1995) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición bromatológica en base húmeda de la harina de sulú

Componentes	Contenido (%)
Humedad	8,83 ± 0,08
Grasa	0,20 ± 0,02
Fibra cruda	0,11 ± 0,03
Proteína cruda	0,53 ± 0,02
Ceniza	0,06 ± 0,01
*Almidón	77,80
*Calcio	0,02
*Fósforo	0,04

Perfil amilográfico. En el Cuadro 2 y Fig. 1 se presentan las características reológicas y el perfil amilográfico, respectivamente, de la harina de sulú.

Cuadro 2. Características reológicas de la harina de sulú.

Parámetro	Resultados
Viscosidad a 60 °C	0
Temperatura inicial de gelatinización	74,2
Pico de viscosidad máxima (A)	666
Temperatura final de gelatinización	95
Calentamiento, viscosidad inicial 95 °C	501
Viscosidad final sostenida 95 °C (B)	298
Enfriamiento, viscosidad inicial 50 °C	334
Viscosidad final sostenida 48 °C (C)	308
Fragilidad de los almidones (A-B)	368
Retrogradación (A-C)	35

Viscosidad expresada en RUV (rapid visco unity) Temperatura expresada en °C

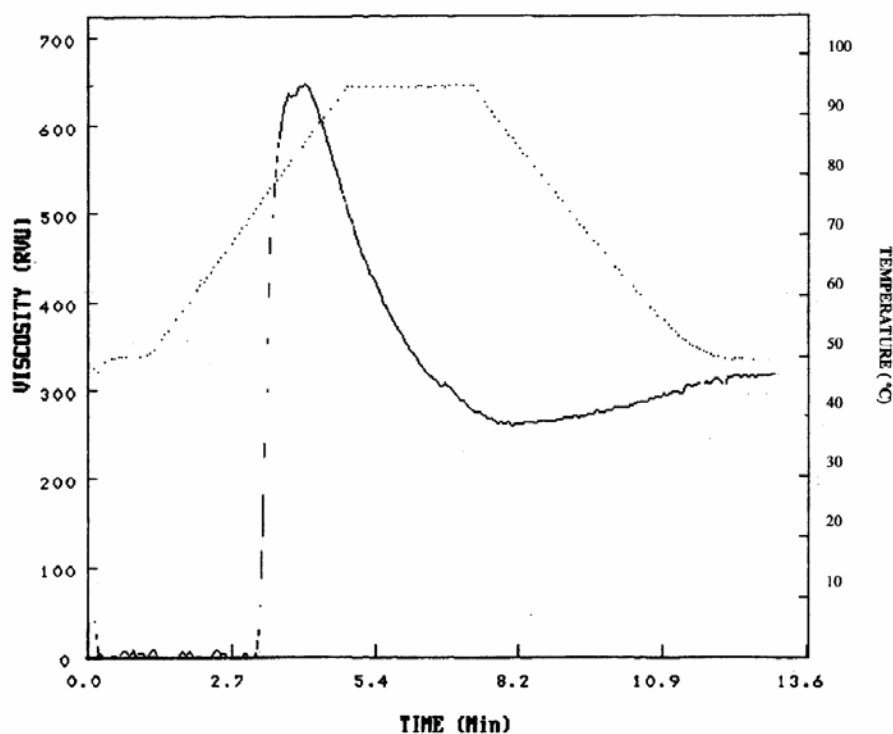


Figura 1. Perfil amilográfico de la harina de sulú

Efecto de la concentración de enzimas. A medida que aumenta la concentración enzimática se obtiene mayor grado de hidrólisis lo que se refleja en el aumento del contenido de azúcares reductores, encontrándose diferencias significativas en los resultados, siendo mejor la concentración al 0,2% de Termamyl y 0,24% de SAN Super (Fig. 2 y 3).

Efecto de la concentración de almidón. Fue más alta la conversión a azúcares reductores y sólidos solubles en la suspensión al 40% con diferencias significativas con respecto a las otras tres concentraciones (Fig.4). Aschengreen *et al.* (1979) señalan que las altas concentraciones de las materias amiláceas pueden producir un aumento en la estabilidad del Termamyl. Esto pudiera estar relacionado con un aumento en el contenido de calcio de la materia prima el cual influye en la estabilidad de la -amilasa (Novo Nordisk, 1995).

Efecto del tiempo de sacarificación. El incremento en el porcentaje de azúcares reductores fue mayor en la concentración de 0,24%, no existiendo diferencias significativas entre 150 y 180 min, ni entre 90 y 120 min (Fig.5).

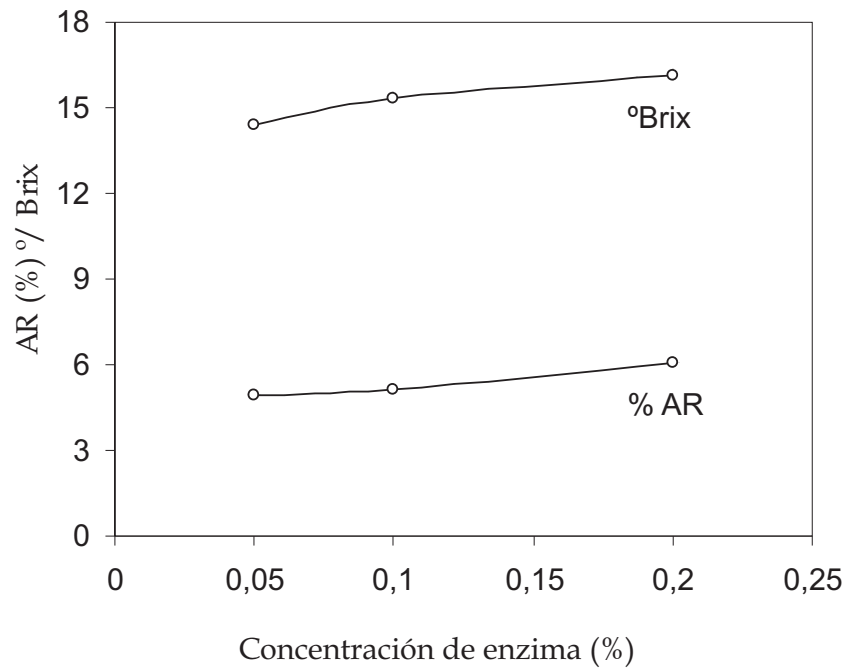


Figura 2. Efecto de la concentración de Termamyl sobre la licuefacción del almidón al 30 % (AR = azúcares reductores)

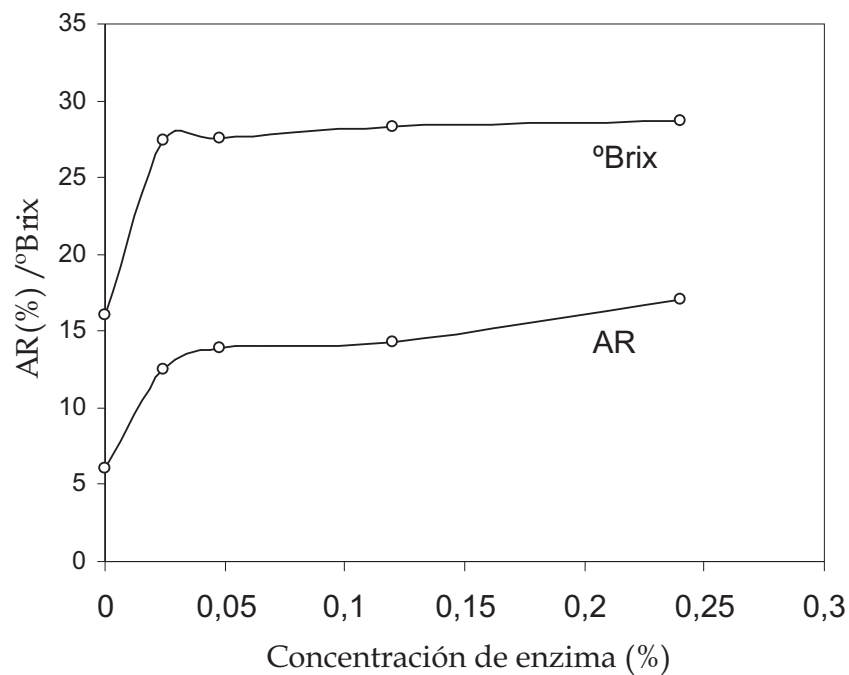


Figura 3. Efecto de la concentración de SAN Super sobre la sacarificación del almidón al 40 % licuado con Termamyl al 0,2%

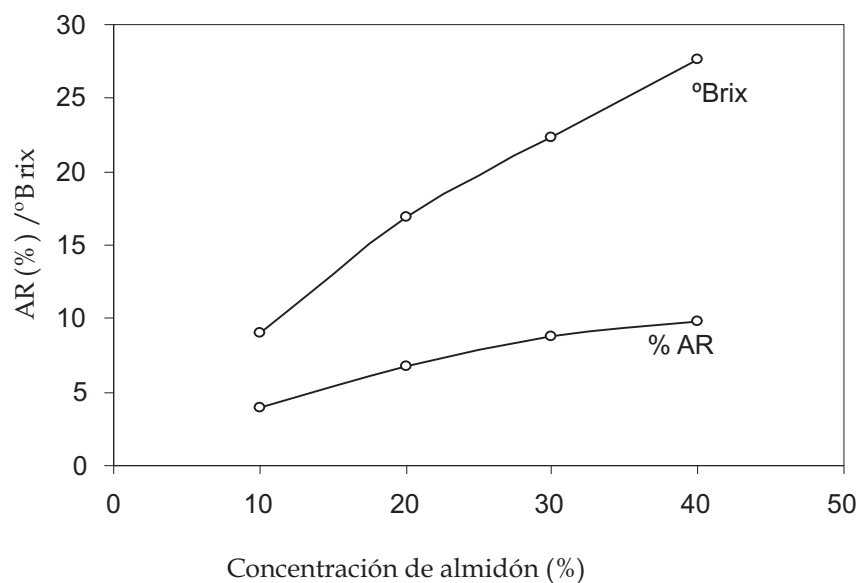


Figura 4. Efecto de la concentración de almidón sobre la licuefacción con una concentración de Termamyl al 0,2%

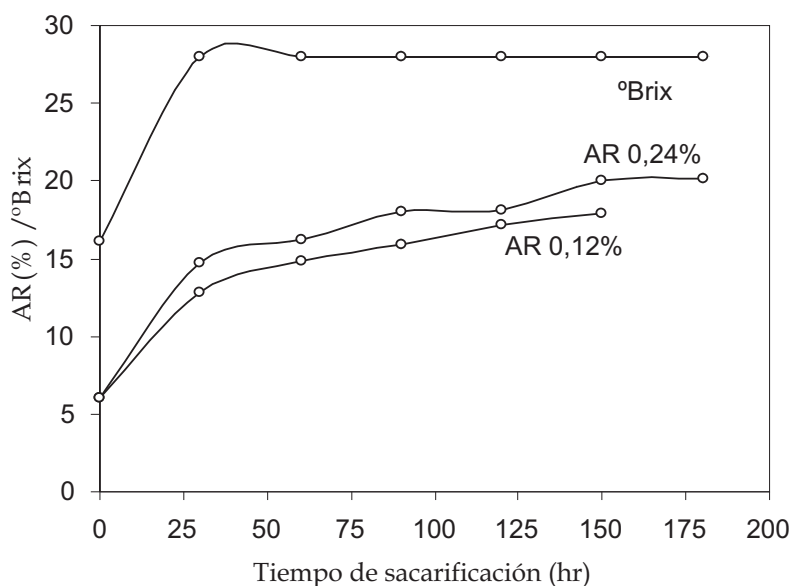


Figura 5. Efecto del tiempo de sacarificación del almidón al 40 % licuado con Termamyl al 0,2 %.

Tomando en consideración que los tratamientos de sacarificación intensos tales como altas temperaturas, durante tiempos prolongados, pueden favorecer la polimerización de la glucosa a otros tipos de azúcares no convenientes para las propiedades deseadas en este tipo de productos, se decidió elegir una concentración de San Super al 0,24% para la sacarificación durante 90 min.

Relación entre contenido de azúcares reductores y sólidos solubles. Con la finalidad de sustituir el análisis de azúcares reductores por el de los sólidos solubles, buscando una medida más rápida que involucre menor consumo en reactivos y pudiera servir como indicador del grado de hidrólisis enzimática del almidón de sulú, se realizaron varias determinaciones de la relación entre estas dos variables. Los resultados se muestran en la Fig. 6. Como se puede observar la relación es lineal hasta los 23 °Brix correspondiéndose principalmente con diferentes ensayos del proceso de licuefacción del almidón; el contenido de sólidos solubles tiende a mantenerse constante a partir de los 25 °Brix, es decir, se vuelve independiente de la cantidad de azúcares reductores cuando se sacarifica el almidón. Alvarado (2001) señala para el caso de jugos, mermeladas y otros derivados de frutas, que cuando la concentración de los azúcares en la solución es baja hasta un 25%, las ecuaciones lineales son satisfactorias para describir la relación entre el contenido de azúcares y el índice de refracción. Para soluciones de compuestos edulcorantes también se puede aplicar la relación lineal. De esta forma, el uso de medidas del índice de refracción proporciona un método práctico y simple para la determinación de la concentración de soluciones de esta naturaleza. Sin embargo, en este estudio no es aplicable para medir el grado hidrólisis del almidón de sulú, principalmente cuando se desea evaluar la sacarificación, requiriéndose la cuantificación de azúcares por otros métodos como el de Fehling utilizado en este caso.

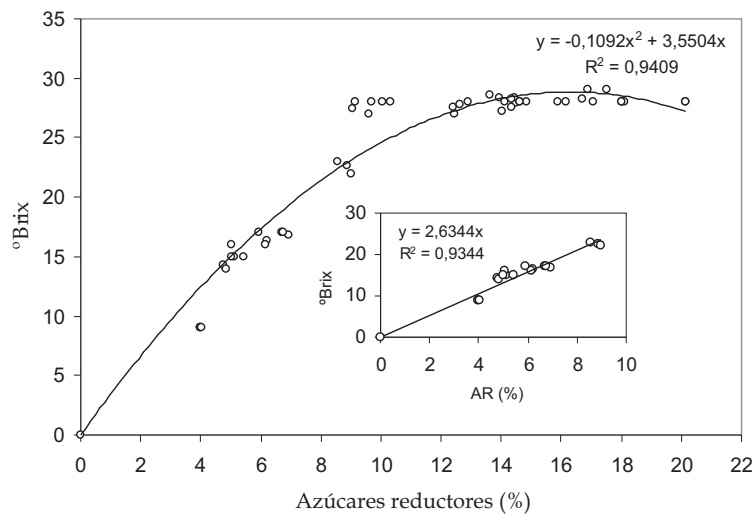


Figura 6. Variación del contenido de sólidos solubles en función de la cantidad de azúcares reductores producidos durante la hidrólisis enzimática de almidón de sulú.

Composición del producto terminado. La composición del producto obtenido de la harina de sulú (Cuadro 3), sugiere que puede ser utilizado como materia prima destinada a la fermentación alcohólica, por su contenido en azúcares fermentables y sólidos solubles que

mediante dilución puede alcanzar la cantidad requerida para especies tales como *Saccharomyces cerevisiae*. De hecho el producto SAN Super es utilizado con esta finalidad, durante la maceración de materias amiláceas licuadas destinadas a la fermentación alcohólica (Novozymes, 2002).

Cuadro 3. Características fisicoquímicas del producto obtenido

ANÁLISIS	RESULTADOS
Azúcares reductores	16,45 ± 0,18 %
Sólidos solubles	28 ± 0,0 °Brix
*Glucosa	11,68%
*Almidón	14%
*Viscosidad	2220 cp
*Densidad	1,12 g/ml

*Valores correspondientes a una sola determinación, el resto es el promedio de tres repeticiones

Calidad microbiológica del producto terminado. La carga microbiana en la materia prima es alta comparada con aquella encontrada en el producto obtenido, esto es debido a la manipulación artesanal durante la elaboración de la harina (Cuadro 4). El tratamiento térmico al cual fue sometida la harina durante los procesos enzimáticos redujo esta carga microbiana lo que afecta principalmente a los microorganismos mesófilos. Además, el alto contenido de azúcares hace más estable el producto, inhibiendo los organismos termófilos y no osmófilos. Microbiológicamente el producto es apto para el consumo.

Cuadro 4. Análisis microbiológico de la materia prima y el producto obtenido

Análisis	Recuento microbiano	
	Materia prima UFC/g	Producto obtenido UFC/ml
Hongos	1,3 x 10 ²	9,50
Levaduras	1,4 x 10 ³	< 10
Aerobios mesófilos	5,4 x 10 ²	
Esporas de termófilos (“flat sour”)		Ausentes
Esporas de anaerobios termófilos no productores de H ₂ S		Ausentes
Esporas de anaerobios termófilos productores de H ₂ S		Ausentes

CONCLUSIONES

Estos resultados representan estudios preliminares para conocer el potencial de la tecnología enzimática en la modificación de almidones de sulú para la obtención de productos alimenticios, incluidas las bebidas fermentadas. La composición química obtenida del producto sugiere una potencial aplicación en las fermentaciones alcohólicas, bajo las condiciones óptimas alcanzadas en este estudio: 0,2% (p/v) de Termamyl, 40% de almidón, 0,24% de SAN Super y 90 minutos de sacarificación. El porcentaje de azúcares reductores es una medida más confiable para determinar el grado de hidrólisis que el contenido de sólidos solubles, debido a que no existe entre ellos una relación lineal. Este estudio representa un aporte importante dentro de los programas de promoción de los cultivos regionales (recursos autóctonos) con propiedades nutricionales y/o medicinales.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue realizado con la colaboración del personal docente y técnico de los Laboratorios de Microbiología y Análisis Instrumental, y Planta Piloto de Ingeniería de Alimentos del Núcleo Canoabo de la Universidad Nacional Experimental "Simón Rodríguez", quienes permitieron el uso de algunos de sus equipos e insumos para el análisis fisicoquímico y microbiológico. En el Laboratorio del Departamento de Nuevos Productos de la Empresa REMAVENCA se realizaron los análisis para la determinación de las propiedades reológicas de la materia prima. La Empresa Behrens de Venezuela donó los productos enzimáticos empleados en esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarado, J. 2000. Índice de refracción. En Alvarado, J. y Aguilera, J. (Eds.). *Métodos para Medir Propiedades Físicas en Industrias de Alimentos*. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, España. Pp. 347-366.
- Aschengreen, N., Helwiig, B., Rosendal, P. Ostergaard, J. 1979. Liquefaction, Saccharification and isomerization of starches from sources other than maize. *Starch/Stärke*. 31:64-66.
- Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C). 1984. Análisis de azúcares. No.8019.
- Atkerberg, C., Zacchi, G., Torto, N., Gorton, L. 2000. A kinetic model for enzymatic wheat starch saccharification. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 75:306-314.
- Bernal M., H. Y., Correa Q., J. E. 1994. Especies vegetales promisorias de los países del Convenio Andrés Bello. Programa de Recursos Vegetales del Convenio Andrés Bello (PREVECAB). Cooperación del Ministerio de Educación y Ciencias (España) y Corporación Andina de Fomento (CAF), Santa Fe de Bogotá, D. C. Colombia. Tomo X.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1979. Análisis de Alimentos. no. 1155, 1156, 1162, 1194.

- Ministerio de Fomento. Caracas. Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1980. Determinación de nitrógeno. Método Kjeldahl. No. 1195. Ministerio de Fomento. Caracas. Venezuela
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1983. Determinación de sólidos solubles por refractometría (°Brix). No. 924. Ministerio de Fomento. Caracas. Venezuela.
- Ferrari, T. B., Leonel, M., Sarmiento, B. S. 2005. Características dos rizomas e do amido de araruta (*Maranta arundinacea*) em diferentes estádios de desenvolvimento da planta.. *Braz. J. Food Technol.* 8(2):93-98.
- Flores, V., Romero, A. 1998. Obtención de Maltodextrinas y Material Glucosado a Partir de Afrecho de Arroz (*Oryza sativa* L.). Trabajo Especial de Grado. Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez. Núcleo Canoabo. Valencia. Edo. Carabobo.
- García R., C. E. 1990. Análisis Microbiológico de Alimentos. 2º ed. Editorial Ciencia 3 Distribución, S.A. Madrid, España.
- Lees, R. 1982. Análisis de los Alimentos: Métodos Analíticos y de Control de Calidad. 2º ed. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- McCready, R., Guggols, J., Silveira, J., Owens, H. 1959. Determination of starch and amylose in vegetable. *Anal. Chem.* 22(9):1156-1158.
- Novo Nordisk. 1995. Termamyl. Ficha técnica. Bagsvaerd, Dinamarca.
- Novozymes. 2002. SAN Super 240L. Ficha técnica. Bagsvaerd, Dinamarca.
- Pérez, E., Lares, M. 2005. Chemical Composition, mineral profile, and functional properties of Canna (*Canna edulis*) and arrowroot (*Maranta spp.*) starches. *Plants Foods for Human Nutrition.* 60(3):113-116.
- Trinder, P. 1969. Methods of enzymatic analysis. *Ann. Clin. Biochem.* 6:24.
- Wurzburg, O. B. 1995. Modified starches. In: Alistair M. Stephen. *Food Polysaccharides and their Applications.* New York, Marcel Dekker, Inc. pp.67-97.

