

OBTENCIÓN DE JARABES DEXTRINIZADOS MEDIANTE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL ALMIDÓN DE SORGO

DEXTRINIZED SYRUPS OBTAINING THROUGH THE ENZYMATIC HYDROLYSIS OF SORGHUM STARCH

Leyanis Rodríguez Rodríguez^{1}, Irenia Gallardo Aguilar¹, Claudia Nieblas Morfa¹,
Javier Medina Macola² y Willian Ortiz Fernández²*

¹Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química y Farmacia, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní, Km 5 ½ Santa Clara, Villa Clara, Cuba

² Empresa Glucosa, Zona industrial #2, Reparto Pueblo Griffó, Cienfuegos. Cuba

Recibido: Julio 15, 2015; Revisado: Agosto 20, 2015; Aceptado: Agosto 30, 2015

RESUMEN

En el presente trabajo se presenta el estudio realizado sobre la producción de jarabes dextrinizados mediante hidrólisis enzimática, de almidón de sorgo rojo CIAPR-132 aplicando la enzima α -amilasa sobre soluciones a diferentes concentraciones, con diferentes concentraciones de enzima y tiempo de la hidrólisis. La variable respuesta fue el equivalente de dextrosa en cada jarabe obtenido (ED) utilizando el método de Eynon-Lane modificado. En una parte de los experimentos se utilizó un diseño factorial completo 2^3 y en otra parte se trabajó con concentración intermedia y tiempo superior de hidrólisis con diferentes niveles de enzima. Los productos obtenidos fueron jarabes dextrinizados ED entre 10,25 y 33,97% (valores que se encuentran dentro de los establecidos para estos tipos de jarabes), los que pueden ser utilizados por sus propiedades funcionales como jarabes intermedios o como materia prima para diferentes procesos de la industria agroalimentaria. Lo anterior permite establecer una pauta para el aprovechamiento del sorgo como materia prima no convencional en la obtención de productos a partir de su almidón.

Palabras Clave: almidón, sorgo, enzimas, jarabes

ABSTRACT

The main objective of this work was the production of syrups dextrinized by enzymatic hydrolysis of starch red sorghum CIAPR-132 using α -amylase on solutions at different concentrations, with different concentrations of enzyme and enzyme hydrolysis time. The response variable was the dextrose equivalent in each obtained syrup (ED) using the modified Lane-Eynon method. In some of the experiments, we used a full factorial design 2^3 and in others we worked with intermediate concentration and higher hydrolysis time with different levels of enzyme. The obtained products were syrups dextrinized ED between 10,25 and 33,97% (values we can find within the established ones for these types of syrups), which can be used for their functional properties as intermediates syrups or as raw material for different processes of the food industry. This allows you to set a pattern for the use of sorghum feedstock in unconventional obtaining products from its starch.

Keywords: starch, sorghum, enzymes, syrups

1. INTRODUCCIÓN

La industria de alimentos representa un sector económico importante a nivel mundial. Dentro de los insumos relacionados con dicha industria se encuentran los jarabes que son utilizados como aditivos para la preparación de formulaciones alimenticias. En el proceso de obtención de los mismos, en primer lugar se acondiciona el almidón, que mediante la hidrólisis ácida, enzimática o una combinación de ésta puede reducirse total o parcialmente a su monómero, la glucosa.

En el ámbito industrial se pueden obtener dos tipos distintos de productos: los cristalizables y los no cristalizables. En el primer grupo se encuentran los productos con muy alto grado de hidrólisis del almidón, es decir, glucosa, oligosacáridos con bajo peso molecular, dextrosas cristalizadas, productos de alto grado de división de la amilosa y la amilopectina. En el segundo grupo están los productos de la hidrólisis intermedia del almidón, como son los jarabes y maltodextrinas, estos productos no son cristalizables generalmente contienen dextrosa, maltosa y oligosacáridos (Hull, P, 2010). (Wiley-Blackwell, 2011).

La dextrina tiene la misma fórmula empírica del almidón original $(C_6H_{10}O_5)_n$ donde en el almidón el valor de n es completamente largo pero en las dextrinas decrece progresivamente con la degradación del almidón. La dextrina es considerada químicamente un polímero intermedio entre el almidón y la dextrosa, se presenta como un sólido amorfo color crema hasta marrón, soluble en agua fría e insoluble en alcohol (Aristizábal y col., 2011).

El almidón es el principal carbohidrato y componente de los cereales la mayoría de ellos lo contiene en proporción de 55-70%. El sorgo lo contiene en un 69,3% y está compuesto de 70-80 % de amilopectina y 20-30 % de amilosa, siendo influenciada esta relación por factores ambientales y genéticos. Esta relación afecta las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón (Rooney y Serna, 2000); (Sang et al., 2009).

La conversión de las sustancias amiláceas comprende tres etapas sucesivas: gelatinización, licuefacción y sacarificación.

La primera consiste en un calentamiento progresivo de la suspensión de almidón para romper puentes de hidrógeno de las regiones cristalinas y conseguir un hinchamiento de los gránulos de almidón por absorción de agua, estado en el que se tornan susceptibles al ataque mecánico, químico y biológico. En la licuefacción se efectúa una hidrólisis parcial para disminuir el grado de polimerización y obtener equivalentes de dextrosa entre 10 y 12 unidades. Finalmente, en la sacarificación se completa la hidrólisis en aras de obtener un jarabe de glucosa (González y Molina, 2006).

Las enzimas son catalizadores ideales para la industria alimentaria debido a su eficiencia, acción específica y su alta purificación y estandarización. En los últimos años, se ha realizado la hidrólisis enzimática de almidón para la obtención de maltodextrinas y jarabes a nivel industrial, ya que se producen jarabes de mayor calidad, tal como lo apuntó Aguilar (2008).

Existen básicamente cuatro grupos de enzimas convertidoras de almidón: endoamilasas, exoamilasas, enzimas desramificantes y transferasas. Dentro de ellas la α -amilasa que es una endoamilasa, capaz de romper enlaces α , 1-4 glicosídicos y la amiloglucosidasa, que rompe ambos enlaces α , 1-4 y α , 1-6 glicosídicos son las más usadas en la producción de jarabes (Montes y Magaña, 2002).

Teniendo en cuenta estos aspectos se plantea como objetivo del trabajo; producir a escala de laboratorio jarabes dextrinizados, mediante hidrólisis enzimática, de almidón de sorgo rojo CIAPR-132, utilizando enzima α -amilasa termoresistente.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio exploratorio descriptivo para evaluar la factibilidad del uso del almidón de sorgo en la obtención de jarabes dextrinizados mediante hidrólisis enzimática. Este fue desarrollado en la UEB Glucosa Cienfuegos perteneciente a la empresa LABIOFAM Cienfuegos, es única de su tipo en el país y se encuentra localizada en la Zona Industrial # 2 del Reparto Pueblo Griffó, en la provincia de Cienfuegos.

2.1 Materiales, equipos y reactivos.

La suspensión de almidón es preparada de acuerdo a las proporciones de los experimentos, pesando en una balanza digital, Vaceo, Alemana. Se le añade el hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) al 0,1%; con el fin de aumentar la actividad de la enzima α -Amilasa (BIALFA-T (FOOD GRADE THERMOSTABLE ALPHA AMYLASE). BIOCON, Española.SA) y contribuir a la clarificación del jarabe. Se procede a ajustar el pH a un valor de 6-6,5 utilizando HCl 0,1N en un pH-metro (MARCA HANNA 213). Luego se coloca el beaker en las hornillas de calentamiento (MARCA IKA RET) y se sumerge en el líquido el agitador mecánico (MARCA IKA RW-16), lográndose un mezclado perfecto y homogenización de la suspensión. Se eleva la temperatura hasta los 85°C, y cuando comienza la gelatinización se añade la enzima; se eleva la temperatura hasta los 90°C y se mantiene por un espacio de tiempo de 2 horas; obteniéndose finalmente el almidón licuificado o dextrinizado.

2.2 Características del almidón utilizado.

El almidón empleado es el obtenido a partir de la molienda húmeda del sorgo CIAPR-132, realizado como prueba a escala industrial, en la UEB Glucosa Cienfuegos. Mediante análisis bromatológico, se cuantificó la composición del almidón como se puede apreciar en la tabla 1:

Tabla 1. Análisis Bromatológico almidón de sorgo

<i>Análisis</i>	<i>Resultado (%)</i>
Almidón	71,3
Fibra	28,7
Proteína	0,34
Cenizas	1,98
Humedad	11,0
Grasa	3,61

Se determinó el contenido de cenizas totales, obteniéndose un valor de 2,0 % que se encuentra dentro de los límites establecidos por (Kusumoto et al., 1960).

Por lo general, las cenizas totales se componen de carbonatos, fosfatos, sulfatos, silicatos y sílice. El contenido de cenizas totales es importante e indica, en cierta medida, el cuidado que se ha tenido en la preparación de la muestra.

En el caso en estudio se tuvo especial cuidado en la selección y tratamiento del cereal, lavando con agua Sulfurosa con un contenido del 0,1 - 0,2 % de SO₂ según lo reportado por Yordi (2007) y eliminando toda la materia extraña.

Tabla 2. Análisis de cenizas

<i>Análisis</i>	<i>Resultado (%)</i>
Cenizas totales	1,98
Cenizas solubles en H ₂ O	0,198
Cenizas insolubles en HCl	0,224

A partir de este almidón obtenido se prepararon las muestras para el proceso de obtención de los jarabes dextrinizados a nivel de laboratorio. En esta parte del trabajo se realizan dos grupos de experimentos:

2.3 Descripción experimental.

Primeros experimentos: se aplica un diseño factorial completo 2^k con réplica, con vistas a minimizar el tiempo de experimentación y los recursos en el laboratorio, teniendo en cuenta las variables independientes: densidad de suspensión, dosis de enzima y tiempo de reacción, para un total de 8 experimentos con réplica dando un total de 16 experimentos y como variable respuesta la concentración de glucosa expresada como equivalentes de dextrosa (ED), los que son determinados por el método de Eynon-Lane, modificado, empleando soluciones de Fehling I (Solución de sulfato de cobre), Fehling II (Solución alcalina de tartrato de potasio y sodio) y empleando como indicador Azul de Metileno.

En la tabla 3 se muestran los niveles de las variables, tomados en los rangos de trabajos reportados en la literatura, (Bettín y Quintero, 2010); Serna (2011), para cada uno.

Tabla 3. Niveles de las variables independientes

<i>Variables</i>	<i>Niveles</i>	
	<i>Alto (1)</i>	<i>Bajo (-1)</i>
Densidad (d) % p/p (X ₁)	40	30
Dosis de enzima (e) ml/L (X ₂)	1	0,4
Tiempo de reacción (t) min (X ₃)	60	30

Segundos experimentos: teniendo en cuenta los resultados de los primeros experimentos y el rango de densidades de la solución, se realizan los experimentos a una densidad intermedia de 35 % p/p, aquí solo se varía la concentración de enzima siendo el nivel superior mayor que en los experimentos anteriores y en un tiempo de reacción mayor. Se realizan 8 experimentos. Los niveles de las variables aparecen en la tabla 4.

Tabla 4. Niveles de las variables independientes

<i>Variables</i>	<i>Niveles</i>	
	<i>Alto (1)</i>	<i>Bajo (-1)</i>
Densidad (d) (% p/p) (X ₁)	35	35
Dosis de enzima (e) (ml/L) (X ₂)	1,4	0,4
Tiempo de reacción (t) (min) (X ₃)	120	120

2.3. Ajuste de parámetros para llevar a cabo la experimentación.

Los valores de pH para todas las muestras fueron ajustados en el rango 5,5-7, que es el reportado para la actividad de la enzima -amilasa.

2.4 Determinaciones realizadas.

2.4.1 Determinación de pH

Siguiendo las indicaciones de la NC90-13-13:80. Aseguramiento Metrológico de pH. Reglas generales para efectuar mediciones de pH, se mide el pH de la solución, asegurándose antes de hacer la lectura que el valor indicado sea constante.

2.4.2 Determinación del Brix. (Método refractométrico).

Este método se utiliza como método fundamental para la determinación de los sólidos disueltos contenidos en el sirope de glucosa, utilizando un refractómetro con escala Brix.

2.4.3 Determinación del equivalente de dextrosa (ED)

Fundamento del método: Los azúcares del tipo aldosa tienen acción reductora frente a ciertos grupos metálicos, por lo que puede determinarse mediante una modificación del método de Eynon y Lane. El resultado se expresa como dextrosa y se calcula como por ciento de la materia seca. Para obtener resultados precisos, es absolutamente indispensable seguir detalladamente las indicaciones del procedimiento.

El contenido de azúcares reductores de la muestra expresada como dextrosa se calcula por la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Azúcares reductores} = \frac{25 \cdot f}{m \cdot a} \quad (1)$$

Donde:

f - factor de dextrosa para 25ml de solución de Fehling (Tabla 5)

m - masa de la muestra inicial pesada, en g.

a - volumen de muestra diluida consumido en la valoración, en ml.

El equivalente de dextrosa se calcula por la fórmula siguiente:

$$ED = \frac{250 \cdot f \cdot 10}{m \cdot a \cdot s} \quad (2)$$

Donde:

s - contenido de sustancia seca de la muestra inicial, en por ciento.

Tabla 5. Factor de dextrosa para 25 ml de solución de Fehling

<i>ml de azúcar en solución</i>	<i>Para 25 ml de solución de Fehling Factor de dextrosa</i>
16	120,2
18	120,2
20	120,3
22	120,4
24	120,5
26	120,6
28	120,7
30	120,8
32	120,8
34	120,9
36	121
38	121,2
40	121,2
42	121,4
44	121,5
46	121,6
48	121,7
50	121,8

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La hidrólisis del almidón es la principal etapa del proceso ya que en ella se obtienen las características deseadas del jarabe dextrinizado. De acuerdo al diseño experimental se llevaron a cabo 8 corridas con una réplica cada uno dando como resultado 16 experimentos de los cuales se obtuvieron como resultado valores de Brix que estuvieron entre 21 y 30 °Bx y los azúcares reductores expresados como ED que estuvieron en el

rango de 13,97 - 29,61%, valores adecuados si se comparan con los jarabes obtenidos de almidón de maíz que se encuentran en rango de 15-30 % de ED, Serna (2011).

El modelo obtenido al procesar los resultados por Statgraphics responde a la ecuación 3:

$$ED = 19,6375 - 3,4675 \cdot d + 1,80375 \cdot e + 1,8725 \cdot t - 0,68875 \cdot d \cdot e - 1,05 \cdot d \cdot t$$

(3)

Para un $R^2 = 97,15\%$

Para graficar los estimados en orden decreciente de importancia se muestra en el Diagrama de Pareto y en el de efectos principales figura 1, que la mayor influencia la ejerce la densidad de la suspensión, pero de forma negativa, es decir los mejores valores de ED se obtienen para el menor % p/p; el tiempo de reacción y la dosis de enzima son la variables que más influyen de forma positiva y tienen un comportamiento similar estadísticamente sobre los azúcares reductores, lo que explica que una combinación de estos dos factores no sea significativa en el proceso.

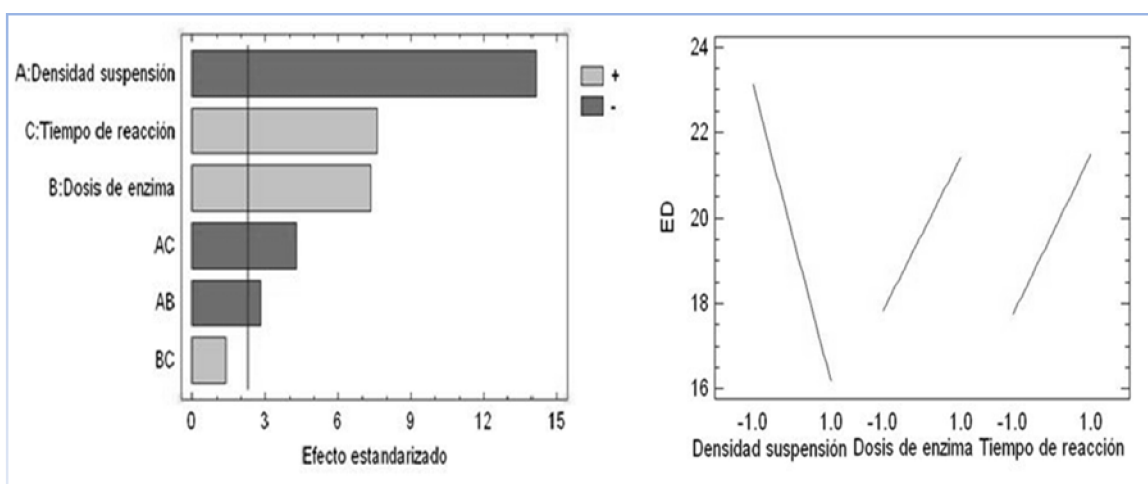


Figura 1. Diagrama de Pareto y de efectos principales

En los segundos experimentos los valores de Brix medidos estuvieron entre 27 y 30°Bx, superiores a los encontrados en los experimentos anteriores y los azúcares ED en rangos de 10-33%, mostrando valores inferiores al mínimo obtenido en los primeros experimentos y ligeramente superiores al máximo.

En la figura 2 aparece la relación entre el Brix y los ART en el tiempo de reacción, donde se aprecian diferentes pendientes entre los experimentos realizados con la mayor concentración de enzima (Exp.1, 5, 6 y 8), que con la menor (Exp. 2, 3, 4 y 7), siendo estas mayores para la de mayor cantidad de enzima en el Brix. De igual forma para los ED se observa que las pendientes son mayores para las mayores concentraciones de enzimas y los valores de ED aumentan a medida que transcurre el tiempo, para la mayor concentración de enzima, sin embargo después de una hora de reacción no hay cambios apreciables para la menor cantidad de enzima adicionada, por lo que puede inferirse que cuando se trabaja a bajas concentraciones de enzima, el tiempo de reacción puede ser hasta una hora.

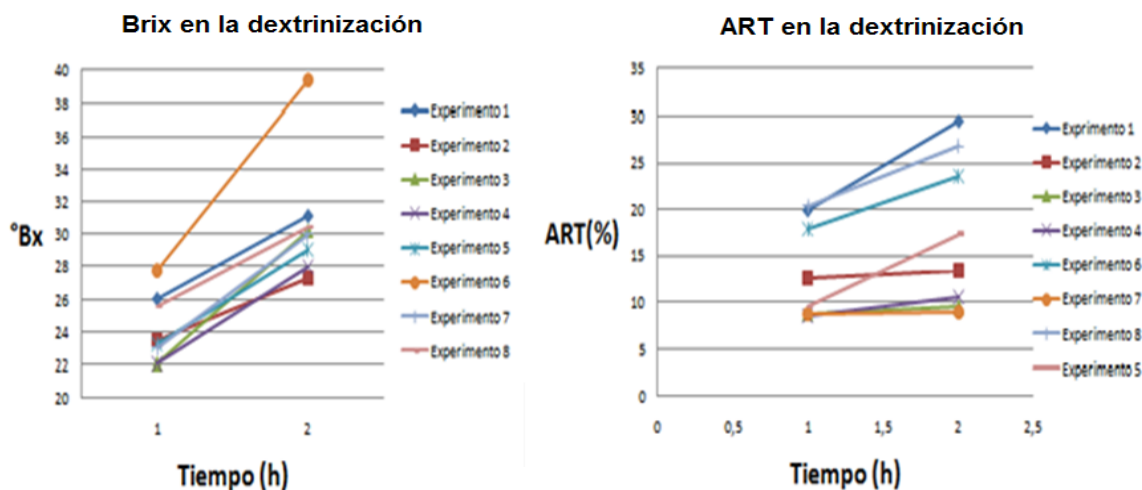


Figura 2. Variación del Brix y ART en el tiempo de reacción con la enzima

En la tabla 6 se realiza una comparación entre los primeros y segundos experimentos sobre los ART.

Tabla 6. Comparación de experimentos

<i>Experimentos</i>	<i>Densidad</i>	<i>Cant Enzima</i>	<i>Tiempo</i>	<i>ED %</i>
Primeros	40	1	60	17,71
	40	1	60	18,51
	30	1	60	29,6
	30	1	60	28,8
	40	0,4	60	15,5
	40	0,4	60	16,24
	30	0,4	60	22,19
	30	0,4	60	23,49
Segundos	35	1,4	120	33,97
	35	1,4	120	19,93
	35	1,4	120	27,94
	35	1,4	120	30,76
	35	0,4	120	14,55
	35	0,4	120	10,83
	35	0,4	120	11,99
	35	0,4	120	10,25

Como se aprecia se sigue manteniendo que la menor densidad de la solución sigue siendo la variable más significativa, pues no hay un cambio tan significativo en los ED cuando se trabaja a 35 % de densidad de la suspensión de almidón y se aumenta la cantidad de enzima amilasa por encima de 1 ml/L, al igual que el tiempo de reacción no favorece mucho los resultados al variar de una a dos horas, ahorrando recursos en el proceso, por lo que se puede plantear, que para la obtención de jarabes dextrinizados a partir de almidón de sorgo se puede trabajar con densidades adecuadas de la suspensión

de la solución de 30% p/p, adición de enzima en cantidad de 1 mL/L y tiempo de 60 minutos.

4. CONCLUSIONES

1. La variable de mayor influencia en los resultados de los jarabes dextrinizados es la densidad de la suspensión de forma negativa, seguida de la cantidad de enzima y por último el tiempo de reacción, estos de forma positiva.
2. Los mejores parámetros de las variables estudiadas son: densidad de la suspensión de 30%p/p, una dosis de enzima de 1 ml/L de solución y un tiempo de reacción de 60 min.
3. Se comprobó que la región de estudio analizada para cada una de las variables estudiadas es adecuada, tomando como patrón los jarabes obtenidos a partir del almidón de maíz.
4. Los resultados obtenidos para los jarabes de almidón de sorgo, similares en cuanto a calidad (ED) a los obtenidos a partir de maíz, demuestran que el sorgo es una opción en la producción de jarabes dextrinizados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo obtenido a partir del desarrollo de la cooperación bilateral mediante programa CAPES/MES CUBA, con el proyecto 197/2013: Tecnología para a producción de bebidas, etanol y co-productos químicos, usando sorgo malteado y a la UEB Glucosa de Cienfuegos, por las facilidades brindadas para el desarrollo del trabajo.

REFERENCIAS

- Aguilar, A., Tratamiento enzimático de la pulpa de plátano (*Musa paradisiaca* L) para la obtención de jarabe de glucosa y fibra dietética., Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Tesis en opción al grado de maestría en Ciencias en Desarrollo de productos Probióticos, Yauatepec Morelos, Instituto Politécnico Nacional, 2008, pp. 99. <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/7636/24.pdf?sequence=1>.
- Aristizábal, 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., Ing. Investig.. Vol.27. No.2 Bogotá. May/Aug., pp. 26-33, 2011.
- Bettín, S. L.A. y Quintero, D. J.C., VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica., Vol. 17, No. 2, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, pp. 165-172, 2010.
- González, G. y Molina, M., Estudio de los factores que afectan la hidrólisis enzimática y el proceso fermentativo para la producción de alcohol a partir de papa (*solanum tuberosum*), Rev. Ingeniería Química, Vol. 16, No 1, Costa Rica, 2006, pp. 27-37.
- Hull, P., Glucose Syrups: Technology and Applications., Wiley-Blackwell, ISBN: 978-1-4051-7556-2, pp. 388, April 2010.
- Kusumoto, I.T., Nakabayashi, T., Kida H., Miyashiro, H., Hattori, M., Namba, T and Shimotohno, K., Screening of various plant extracts used in ayurvedic medicine for inhibitory effects on human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) protease.,

- Phytotherapy Res. Vol. 9, No. 3, 1995, pp. 180-184.
<http://libra.msra.cn/Publication/34198167/screening-of-various-plant-extracts-used-in-ayurvedic-medicine-for-inhibitory-effects-on-human>
- Montes-Horcasitas, M. C., y Magaña-Plaza, I., Enzimas con aplicación industrial. Avance y perspectiva., Vol. 21, 2002, pp. 279-282.
- Rooney, L. W., and Serna Saldívar, S. O., Sorghum. Handbook of Cereal Science And Techonology., K.Kulp and J. Ponte, New York, pp. 149-175, 2000.
- Sang, Y., S. Bean, Seib, P.A., Pedersen, J., and Shi, Y., Structure and functional propiedades of sorghum starches differing in amylose content., J.Agric.Food Chem., Vol. 56, 2009, pp. 6680-6685.
- Serna, S. O., Bioconversión de almidones en jarabes dextrinizados, maltosados, glucosados y fructosados., Quinto Simposio Internacional de Innovación y Desarrollo de Alimentos, Montevideo, Uruguay, pp. 29, 2011.
- Yordí, G. E. Almidón de los cereales nativos y modificados: Propiedades en la alimentación., 2007, pp. 2.