

**MODIFICACIÓN FÍSICA DEL ALMIDÓN DE YUCA Y EVALUACIÓN
DE LA SUSCEPTIBILIDAD A LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA
POR UNA ALFA AMILASA**

**PHYSICAL MODIFICATION OF CASSAVA STARCH AND EVALUATION
OF SUSCEPTIBILITY TO ENZYME HYDROLYSIS BY ALPHA AMYLASE**

**MODIFICAÇÃO FÍSICA DO AMIDO DE MANDIOCA Y AVALIAÇÃO
DO SUSCEPTIBILIDADE À HIDRÓLISE ENZIMÁTICA
COM UMA ALFA AMILASE**

Jenny C. Martín¹, Elizabeth López^{1, 2}

Recibido: 13/11/09 – Aceptado: 15/12/09

RESUMEN

Almidón de yuca comercial (variedad MTAI 8) se sometió a modificación física por sinéresis, extrusión, gelatinización y secado por rodillos. Al almidón nativo y a los almidones modificados se les determinó su morfología, cristalinidad, distribución molecular y susceptibilidad a la hidrólisis enzimática con una alfa amilasa porcina pancreática.

En los almidones modificados físicamente se incrementó el grado de hidrólisis, en comparación con el almidón nativo. Sin embargo no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el grado de hidrólisis entre los almidones modificados.

El patrón de difracción de rayos X tipo A, presentado por el almidón de

yuca nativo y su propiedad birrefringente se alteraron por los pretratamientos, presentándose difractogramas de estructuras amorfas y pérdida de la cruz de malta en los almidones modificados. La microscopía electrónica de barrido (MEB) demostró alteración en la apariencia y estructura del gránulo nativo, dando lugar a partículas de formas irregulares con superficies fragmentadas y rugosas como resultado del proceso de modificación.

La cromatografía de exclusión sobre sepharosa 6B confirmó la desaparición de la fracción de alto peso molecular presente en el almidón nativo, con el consecuente incremento de las fracciones de bajo peso molecular en los almidones modificados.

¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Bogotá, Colombia.

² mlopezr@unal.edu.co

Palabras clave: almidón de yuca, sinéresis, gelatinización, secado por rodillos, extrusión, hidrólisis enzimática, α -amilasa.

ABSTRACT

Cassava starch (MTAI 8 variety) was subjected to syneresis, gelatinization, extrusion and processing by drum dryers. The morphology, crystallinity, molecular weight distribution and susceptibility to enzyme hydrolysis by porcine pancreatic α -amylase were determined before and after the physical treatments.

The physically modified starches increased the extent of α -amylolysis, compared to the native one. However, there were not significant differences in the degree of amylolysis between the treatments during the procedure. Both the X-ray pattern type-A, presented in the cassava starch, and its birefringent property, observed in polarized light, were altered by the treatments causing amorphous structures and the loss of the Maltese cross. When the modified starches were observed in scanning electron micrographs (SEM), an alteration in the appearance and structure of the native granule was shown, where particles with irregular shape and fragmented and wrinkled surfaces could be seen as a result of the modification process.

The profile of the size exclusion chromatography on sepharose 6B showed two characteristic fractions of high and low molecular weight in the native starch, while in modified starches only one peak was obtained showing low molecular weight.

The data showed that the treatments modified the physical structure of the

starch granule, allowing more accessibility for the enzyme to the amorphous and crystalline regions of starch.

Key words: Cassava starch, syneresis, gelatinization, extrusion, drum dryers, enzyme hydrolysis, α -amylase.

RESUMO

Amido de mandioca comercial (variedade MTAI 8) foi submetido a modificação física por sinérese, extrusão, gelatinização e secado por tambor. Foram determinados para o amido nativo e os amidos modificados a sua morfologia, cristalinidade, distribuição molecular y susceptibilidade à hidrólise enzimática com uma alfa amilase porcina pancreática.

Nos amidos modificados fisicamente foi verificado um aumento do nível de hidrólise, em comparação com o amido nativo. Porém, não se observaram diferenças estatisticamente significativas no nível de hidrólise entre os almidões modificados.

O padrão de difracção de raios-X tipo A apresentado pelo amido de mandioca nativo e a sua propriedade birrefringente, foram alterados pelos prétratamentos, apresentando-se difractogramas de estruturas amorfas y perda da cruz de malta nos almidões modificados. A microscopia electrónica de barrido (MEB) demonstrou alteração na aparência e estrutura do grânulo nativo, dando lugar a partículas de formas irregulares com superfícies fragmentadas e rugosas como resultado do processo de modificação.

A cromatografia de exclusão sobre sepharosa 6B corroborou a desapareição da fracção de alto peso molecular presen-

te no amido nativo, com o consequente aumento das frações de baixo peso molecular nos almidões modificados.

Palavras-chave: amido de mandioca, sinérese, gelatinização, secado por tambor, extrusão, hidrólise enzimática, α -amilase.

INTRODUCCIÓN

Los gránulos de almidón están formados por dos polímeros de glucosa: amilosa, que es lineal, y amilopectina, que es ramificada. Estos polímeros forman una estructura en capas alternadas de regiones amorfas y cristalinas de baja y alta densidad (1, 2). Los polisacáridos del almidón están densamente empaquetados por medio de enlaces de hidrógeno intra e inter moleculares, formando un estado policristalino que los hace insolubles en agua fría y frecuentemente resistentes a tratamientos químicos y enzimáticos (3). La cristalinidad es el resultado de la formación de hélices dobles entre las cadenas exteriores de amilopectina y las cadenas de amilosa (4, 5).

Para un almidón determinado, la velocidad de hidrólisis es dependiente del tipo de enzima, de las condiciones de hidrólisis y de las modificaciones físicas y químicas previas a la hidrólisis.

El calentamiento del almidón en suspensión acuosa mejora tanto la hidrólisis ácida como la susceptibilidad a la acción de las enzimas amilolíticas, ya que cambia la estructura granular (6).

Se ha observado que la sinéresis y la pregelatinización inducen cambios en el poder de hinchamiento, solubilidad y estabilidad durante el almacenamiento en al-

midones de banano, yuca, papa y maíz (4, 7). Kimura y Robyt trataron con glucoamilasa almidones gelatinizados variando el tiempo del tratamiento y encontraron un incremento en la susceptibilidad enzimática dependiendo del tipo de almidón (8).

En almidones sometidos a extrusión, Hagenimana y cols. demostraron que la susceptibilidad a la α -amilasa y glucosidasa se debe a la gelatinización que sufren durante el tratamiento, probablemente como una consecuencia de la degradación molecular en conjunto con un incremento en la solubilidad en agua (9). Otros investigadores han encontrado que durante la extrusión de almidones de yuca a diferentes pH hay una pérdida de la estructura cristalina (10) y además la formación de complejos con proteínas y lípidos (11). Así mismo en trabajos de extrusión con almidones de cereales se ha encontrado fragmentación molecular de los polímeros y desnaturalización de proteínas (12).

Los productos de hidrólisis del almidón de yuca tienen un amplio campo de aplicaciones, como por ejemplo la producción de maltosa, dextrinas y, en general, azúcares fácilmente fermentables, que se utilizan en diversas industrias, destacándose en la actualidad el interés en la producción de alcohol combustible como alternativa energética.

El propósito de este estudio fue investigar el efecto de los pretratamientos de sinéresis, gelatinización, extrusión y secado por rodillos sobre la susceptibilidad del almidón de yuca comercial variedad MTAI 8 a la degradación por α -amilasa porcina pancreática y analizar las posibles ventajas del almidón tratado respecto al almidón nativo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El almidón de yuca, obtenido por vía húmeda a partir de raíces de yuca (variedad MTAI 8), se compró en la distribuidora de insumos Ciacomeq (Bogotá, Colombia). La enzima α -amilasa (Tipo 6A-6886, porcina pancreática) se obtuvo de Sigma-Aldrich. Los demás reactivos empleados fueron de grado analítico.

Métodos

Sinéresis iterada

De acuerdo con el método de Lewandowicz y cols. (6), una suspensión acuosa al 3% de almidón nativo se sometió a ebullición durante 4 horas, seguida de reposo a temperatura ambiente (24 h). Posteriormente se congeló a -4 °C para inducir la sinéresis. El líquido exudado se separó por filtración al vacío, y el sólido remanente se sometió a 6 ciclos repetidos de congelación (12 h), descongelación (2 h) y filtración hasta obtener peso constante. El sólido final se llevó a la estufa a 30 °C por 6 horas, se molió y se tamizó (malla 100); de igual forma se hizo para todos los almidones pretratados.

Gelatinización

Una suspensión de almidón nativo al 10% fue calentado a 63 °C durante 1 h, según el procedimiento seguido por Kimura y cols. (8). Esta es la temperatura mínima a la cual ocurre la gelatinización del almidón de yuca (13). Después del tratamiento térmico, el almidón fue esparcido sobre una lámina de vidrio y puesto a 30 °C durante 6 horas.

Secado por rodillos

Se suspendieron en agua 150 g de almidón en proporción 1:4. Posteriormente se pasó la muestra a través de un deshidratador por rodillos Reeves Motodrive (Reliance-Electric Company) a temperatura de 100 °C y 3 rpm.

Extrusión

La extrusión del almidón de yuca se hizo utilizando un equipo Ratiotrot Brostor Gear Division (DEMACO 1255.74). El proceso se realizó en las siguientes condiciones: 20% de humedad, temperatura de 100-107 °C, velocidad del tornillo a 38 rpm, presión de 40 libras y boquilla de salida de 3mm de diámetro.

Hidrólisis enzimática con α -amilasa

La actividad de la α -amilasa se ensayó por el método de Somogyi-Nelson, midiendo la cantidad de azúcares reductores producidos (14). Se utilizó glucosa como estándar.

Una unidad de actividad enzimática (U) se definió como la cantidad de enzima que libera 1 μ g de azúcares reductores por minuto a 37 °C a pH 7,0.

La hidrólisis enzimática de las muestras de almidón nativo y de los almidones modificados se hizo utilizando una suspensión de α -amilasa porcina pancreática que contenía 2,9 mM de cloruro de sodio y 3 mM de cloruro de calcio. La concentración de la enzima fue 1 mg/ml con una actividad de 4 U.

Una solución de 50 ml que contenía 15 mg/ml de almidón nativo o modificado, 25 ml de agua, 24,9 ml de buffer de fosfatos 0,5 M pH 7,0 y 100 μ l de enzima, se incu-

bó a 37 °C con agitación constante. Se tomaron alícuotas de 2,0 ml cada 10 min hasta completar 3 h. Todas las muestras de almidón se trabajaron por triplicado.

El porcentaje de hidrólisis se calculó tomando como referencia la hidrólisis ácida, ya que ésta causa hidrólisis completa del almidón.

$$\frac{\text{Azúcares reductores producidos por hidrólisis enzimática}}{\text{Azúcares reductores producidos por hidrólisis ácida}} \times 100$$

Difracción de rayos X

Los patrones de difracción de rayos X del almidón nativo y de los almidones modificados físicamente se obtuvieron con un difractómetro de rayos X (Philips, X'pert, PANalytical) operado a 45 kV y 40 mA, con ángulo de reflexión (2θ) entre 4° y 45°, usando una velocidad de barrido de 0,05° por segundo.

Microscopía electrónica de barrido (MEB)

La superficie del almidón nativo y de los almidones modificados, antes y después de la hidrólisis enzimática, se estudió por microscopía electrónica de barrido (MEB). Las muestras de almidón fueron recubiertas con una capa de aproximadamente 10 nm de oro-paladio en proporción 20:80, examinadas y fotografiadas en un microscopio electrónico de barrido FEI QUANTA 200 a un potencial de aceleración de 30 kV en alto vacío.

Microscopía de luz normal y polarizada

El almidón de yuca nativo y los almidones modificados se observaron sobre luz normal y polarizada (aumento 200X), utilizando un microscopio Olympus BX51 acoplado a un equipo de polarización.

La hidrólisis ácida se realizó tratando una suspensión de almidón al 1% con 2,5 M de HCl en un baño de agua a ebullición durante 1 h. La concentración de azúcares reductores se determinó por el método de Somogyi-Nelson (14).

El porcentaje de hidrólisis se definió como:

Cromatografía de permeación en gel

La cromatografía se realizó de acuerdo con el método de Siljeström y cols. (15), usando Sepharosa CL 6B (Pharmacia Ltd) como gel de filtración, con un rango de fraccionamiento de $10 \times 10^3 - 4 \times 10^6$. En este procedimiento una muestra de 0,025 g de almidón fue solubilizada en 5 ml de DMSO al 90% y 80 °C. Se aplicaron 2,5 ml en una columna de $2,5 \times 27$ cm y se eluyó con KOH 0,1 M. Se recolectaron fracciones de 3 ml cada 5 min y se determinó el contenido de carbohidratos totales por el método de fenol-ácido sulfúrico (16).

Análisis estadístico

Todas las determinaciones son el promedio de tres medidas. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA), y para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos se aplicó la prueba LSD ($p < 0,05$), usando el programa Stat Graphics Plus 5.1. Las diferencias significativas son reportadas con un intervalo de confianza del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hidrólisis enzimática del almidón

Los resultados de la hidrólisis enzimática para algunos tiempos de reacción de los

almidones se muestran en la Tabla 1 y la totalidad de los datos se incluyen en la Figura 1.

El porcentaje de hidrólisis del almidón nativo presenta un aumento gradual con el tiempo (Figura 1), hasta llegar a un valor de 55,8% a los 170 minutos. Los almidones modificados muestran un rápido incremento hasta los 50-60 minutos, después de lo cual disminuye la pendiente y se llega a un valor límite de conversión que está en el rango de 79,1 a 90,5% según el pretratamiento.

Comportamientos similares han sido encontrados en la hidrólisis enzimática de almidones de maíz y papa modificados por ciclos de calentamiento/enfriamiento (17).

Aunque en el gránulo de almidón nativo se encuentran poros y algunas fisuras en la superficie que permiten el paso de agua y moléculas grandes hacia el interior, como se ha demostrado por estudios realizados por MFA (Microscopía de Fuerza Atómica) y MEB (18), el acceso de la enzima es restringido y, por tanto, los pasos de adsorción y catálisis durante la reacción enzimática son lentos.

En los primeros minutos, la hidrólisis del almidón nativo corresponde principalmente a la degradación de las regiones amorfas seguido por regiones cristalinas. Esto se ha confirmado mediante estudios comparativos entre hidrólisis ácida y enzimática en almidones de tubérculos (13). Además, las interacciones entre los polímeros constituyentes del almidón tanto en la región cristalina como amorfa reducen el acceso de la α -amilasa a los enlaces glicosídicos.

Para discutir el efecto de los pretratamientos sobre el almidón hay que tener en cuenta que al someter los gránulos a calentamiento en presencia de agua en un rango característico de temperatura, sufren una transición de orden-desorden llamado gelatinización (2, 4, 17, 19). A medida que la temperatura aumenta, la difusión de agua dentro del gránulo es mayor, se produce una hidratación progresiva o hinchamiento, y la amilosa, comportándose como un disolvente de la amilopectina, empieza a lixiviar. El proceso de gelatinización conlleva a la pérdida de la birrefringencia y de la cristalinidad, debido a la disociación de las hélices dobles formadas por la amilopectina y la

Tabla 1. Grado de hidrólisis (%) por α -amilasa del almidón de yuca nativo y de los almidones modificados*

Tipo de almidón	Tiempo de hidrólisis (min)						
	10	30	60	90	120	150	170
Nativo	11,9 ^a ± 3,3	20,8 ^a ± 2,6	27,7 ^a ± 2,0	35,6 ^a ± 1,1	39,1 ^a ± 2,9	47,7 ^a ± 2,8	55,8 ^a ± 3,2
Sinéresis	15,1 ^b ± 6,6	56,0 ^b ± 4,8	65,0 ^b ± 4,6	73,5 ^b ± 4,7	77,7 ^b ± 6,6	82,2 ^b ± 6,6	90,5 ^b ± 7,3
Gelatinizado	22,2 ^b ± 5,6	48,1 ^b ± 5,3	61,9 ^b ± 4,2	71,0 ^b ± 3,8	72,7 ^b ± 2,0	77,7 ^b ± 2,8	84,2 ^b ± 5,4
Extruido	36,6 ^b ± 6,0	60,2 ^b ± 1,1	65,2 ^b ± 2,2	71,6 ^b ± 3,3	74,6 ^b ± 3,8	78,0 ^b ± 5,2	79,1 ^b ± 3,0
Secado en rodillos	22,5 ^b ± 3,9	53,5 ^b ± 4,7	67,9 ^b ± 4,4	71,3 ^b ± 3,5	74,4 ^b ± 3,9	79,8 ^b ± 2,9	84,0 ^b ± 1,3

* Promedios de tres medidas seguidos por una letra común en la misma columna no son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

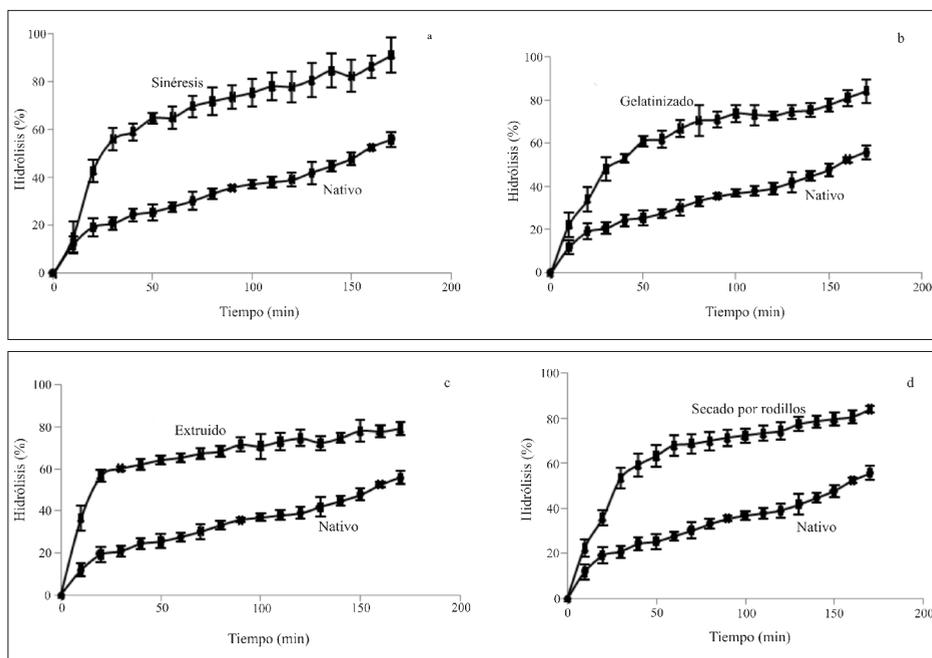


Figura 1. Porcentaje de hidrólisis enzimática de los almidones modificados comparado con el porcentaje de hidrólisis del almidón nativo: (a) sometido a sinéresis, (b) gelatinizado, (c) extruido, (d) secado por rodillos.

amilosa. La mayor susceptibilidad al ataque enzimático en los almidones modificados en comparación con el almidón nativo se explica por la ruptura de los gránulos causada por los diversos pretratamientos.

Se ha encontrado que los almidones de ñame, papa y yuca modificados físicamente por calor húmedo son más fácilmente hidrolizados por α -amilasa que los almidones nativos, y además que la gelatinización del almidón de papa y arroz incrementa la susceptibilidad a las enzimas amilolíticas (8, 13, 20, 21).

Durante el curso de la reacción enzimática se observan diferencias significativas en el porcentaje de conversión en azúcares reductores entre los almidones pretratados y el almidón nativo (Tabla 1).

Ya que los resultados de los diferentes pretratamientos son similares, al no haber diferencias significativas, la aplicación de alguno de ellos a nivel industrial dependerá de la facilidad operativa e instrumental para realizarlo. En tal sentido, la gelatinización sería el más apropiado.

Difracción de rayos X

La difracción de rayos X se ha utilizado para revelar la presencia y las características de la estructura cristalina de los gránulos de almidón, los cuales muestran patrones de difracción A, B y C dependiendo del origen botánico (19). Las dobles hélices que conforman las entidades cristalinas son esencialmente idénticas; sin embargo, el empaquetamiento en el patrón tipo A es más compacto y con bajo contenido de agua, mientras que el tipo B tiene

una estructura más abierta con mayor hidratación. Además de estas características, la longitud de cadena es más corta en el patrón tipo A que en el tipo B. El patrón de difracción tipo C representa una combinación de A y B (13, 22, 23).

En la Figura 2a se muestra que el almidón de yuca tiene un patrón de difracción de rayos X tipo A, ya que las señales en 15° , 23° , 17° y 18° (2θ) en el difractograma, concuerdan con el modelo de este tipo de patrón. Los difractogramas de los almidones modificados, Figura 2b, c, d y e, confirman la pérdida de la cristalinidad y la transición a un estado amorfo (13, 19).

A diferencia de los patrones presentados por la Figura 2 (c, d y e), el difractograma 2b, que corresponde al almidón sometido a sinéresis, mostró una intensidad de difracción en 17° y una suave elevación entre 22 - 25° (recuadro ampliado Fi-

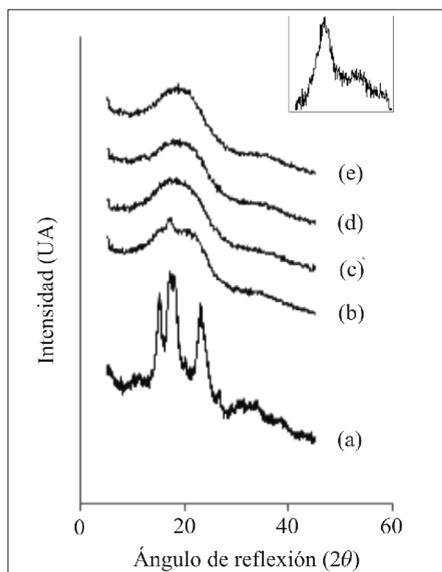


Figura 2. Patrones de difracción de rayos X de los almidones (a) nativo, (b) sinéresis, (c) gelatinizado, (d) extruido, (e) secado por rodillos.

gura 2), las cuales son típicas de patrones de difracción tipo B, indicando un estado de cristalinidad mayor después de la sinéresis en comparación con los otros almidones pretratados. De acuerdo con la literatura, en la sinéresis se genera almidón resistente en el cual las cadenas de amilosa se unen mediante puentes de hidrógeno (22). Dicho almidón resistente sería el responsable del patrón de difracción tipo B. Este mismo patrón de difracción se ha observado en almidones de papa, yuca, maíz y trigo tratados por sinéresis (6).

Las bajas temperaturas a las que se sometió el gel en las etapas de congelación-descongelación durante la sinéresis aumentaron la retrogradación, ya que estas condiciones de almacenamiento incrementan la velocidad de nucleación. Posteriormente el aumento de temperatura a 30°C favoreció la velocidad de propagación de los cristales que se habían comenzado a formar anteriormente (7).

Los anteriores argumentos permiten interpretar que en los demás pretratamientos (gelatinización, extrusión y secado), el grado de retrogradación fue menor, y por tanto los polímeros constituyentes del almidón adoptaron una estructura diferente al estado inicial, originando un material amorfo.

Se han observado patrones amorfos en muestras de almidón de banano y yuca extruidas (10, 24).

Las morfologías del almidón nativo, de los almidones modificados y sus hidrolizados se presentan en las Figuras 3-7. El gránulo de almidón de yuca nativo muestra forma esférica con un diámetro que se encuentra en un rango de 15 - $25\ \mu\text{m}$. En la

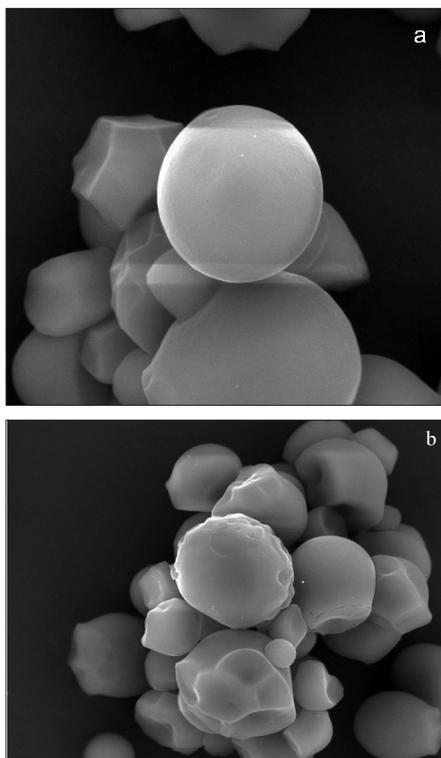


Figura 3. MEB de los gránulos de almidón nativo de yuca (a) e hidrolizado (b), amplificados 6000x.

Figura 3a aparecen gránulos simples y aglomerados.

Los cuatro pretratamientos realizados al almidón de yuca alteraron la apariencia y estructura del gránulo nativo (Figuras 4a, 5a, 6a y 7a); se presentan partículas de formas irregulares con superficies fragmentadas y rugosas.

En los almidones pretratados hubo incremento en el área superficial y, por tanto, mayor disponibilidad a la acción de la α -amilasa. Lo anterior concuerda con los datos cuantitativos obtenidos en el porcentaje de hidrólisis, que indican un mayor ataque de la α -amilasa en comparación con el almidón nativo.

Microscopía de luz polarizada

En la microscopía de luz polarizada del almidón nativo se observa la cruz de malta, que es una característica debida a la birrefringencia del almidón (Figura 8). Para los almidones pretratados la cruz desaparece (imágenes no mostradas), y por consiguiente se confirma que hubo pérdida de birrefringencia causada por la gelatinización. Generalmente, en almidones sometidos a tratamientos térmicos, se presentan resultados similares (5, 25). Adicionalmente la desaparición del patrón de rayos X tipo A (Figura 2) o el descenso en la entalpía de gelatinización (26) se consideran criterios que, en conjunto o

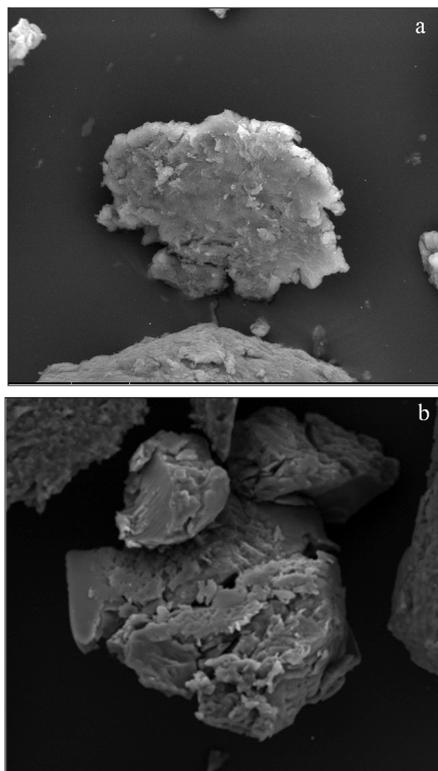


Figura 4. MEB del almidón modificado por sínéresis (a) amplificado 1000x y su residuo hidrolizado (b) amplificado 500x.

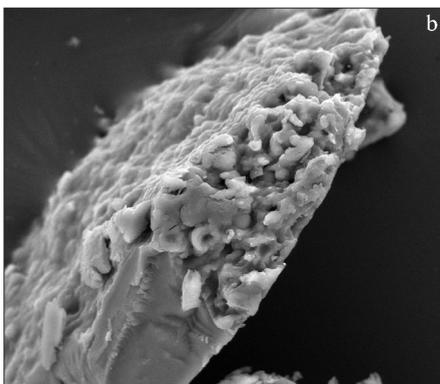
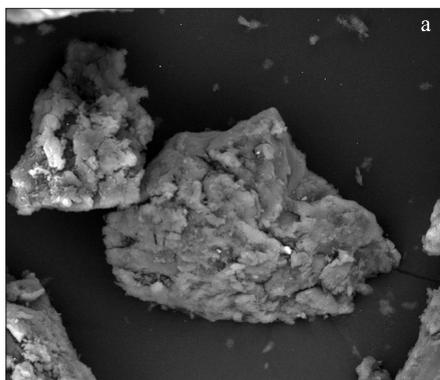


Figura 5. MEB del almidón modificado por gelatinización (a) amplificado 1000x y su residuo hidrolizado (b) amplificado 1000x.

individualmente, corroboran la pérdida de la estructura cristalina.

Cromatografía de permeación en gel

La cromatografía de exclusión o permeación en gel es un método que se utiliza para estudiar la distribución por tamaño de los polímeros, amilosa y amilopectina, constituyentes del almidón.

Los perfiles de elusión de la Figura 9 reflejan diferencias producidas por la acción de los tratamientos térmicos.

En el almidón de yuca nativo se observan dos picos marcados como I y II, que

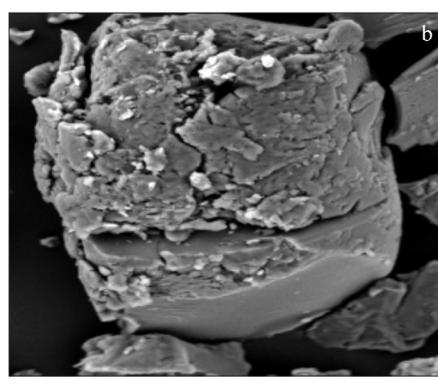
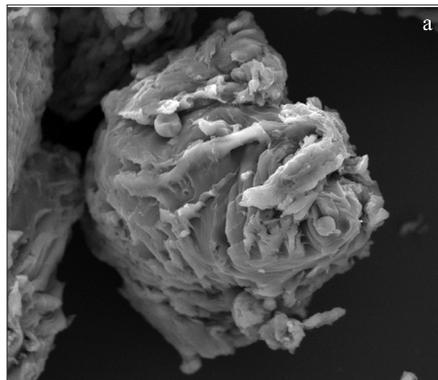


Figura 6. MEB del almidón modificado por extrusión (a) amplificado 1000x y su residuo hidrolizado (b) amplificado 500x.

corresponden a fracciones de almidón de diferente tamaño. Este perfil de elusión es similar a otros reportados utilizando sepharosa 2B para almidones de fríjol, alverja, garbanzo y trigo (15, 27). Teniendo en cuenta que tanto el tamaño de la amilopectina como su contenido dentro del gránulo de almidón de yuca es significativamente mayor, en comparación con la amilosa, se puede sugerir que la primera región del cromatograma del almidón nativo corresponde a la amilopectina (pico I) seguido por la amilosa (pico II).

Los perfiles de elusión de los almidones sometidos a los pretratamientos corrobo-

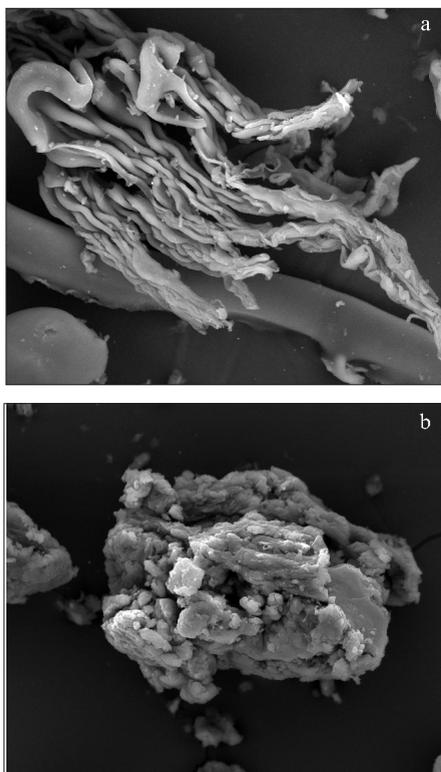


Figura 7. MEB del almidón modificado por secado por rodillos (a) amplificado 1000x y su residuo hidrolizado (b) amplificado 1000x.

ran que hubo un efecto sobre el gránulo de almidón y en el tamaño de los polímeros que lo constituyen. Se observa un aumento en la fracción de menor tamaño (pico II) y la consecuente disminución de la fracción de mayor dimensión (pico I), que es la que más contribuye a la cristalinidad en el gránulo de almidón de yuca nativo.

CONCLUSIONES

Los pretratamientos realizados al almidón de yuca (variedad MTAI 8) afectaron la estructura del gránulo debido a la gelatinización, como se corrobora en la difracción de rayos X y en la microscopía

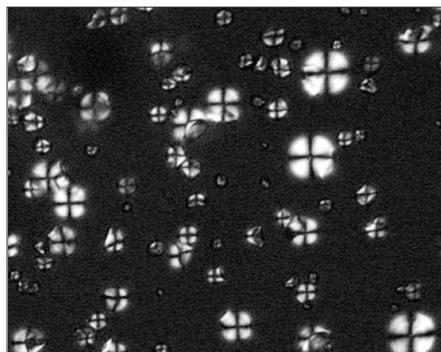


Figura 8. Microscopía de luz polarizada de almidón de yuca nativo amplificada 200x.

de luz polarizada. Además, como resultado de los pretratamientos hubo formación de fragmentos de bajo peso molecular y formación de partículas irregulares con alta porosidad lo que permitió mayor acceso a la enzima.

Los almidones modificados mostraron mayor susceptibilidad al ataque enzimático por α -amilasa en comparación con el almidón nativo, pero no se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al grado de hidrólisis de los almidones pretratados por gelatinización, sinéresis, extrusión y secado por rodillos.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen al señor Arturo Romero por su colaboración durante el trabajo realizado en las instalaciones del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) de la Universidad Nacional de Colombia. Se agradece igualmente al Laboratorio de rayos X del departamento de Física y al Laboratorio de microscopía electrónica de barrido que pertenece al Centro de Equipos Interfacultades (CEIF) de la Universidad Nacional de Colombia.

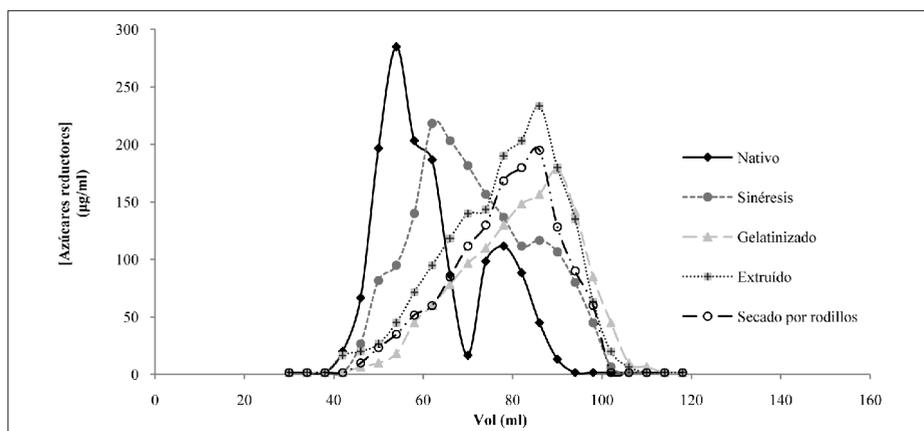


Figura 9. Perfiles de elución del almidón nativo y almidones pretratados utilizando sepharosa 6B.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Jacobs, H.; Mischenko, N.; Koch, M.; Eerlingen, R.; Delcour, J.; Reynaers, H. Evaluation of impact of annealing on gelatinization at intermediate water content of wheat and potato starches: A differential scanning calorimetry and small angle X-ray scattering study. *Carbohydrate Res.* 1998. **306**: 1-10.
- Jacobs, H.; Delcour, J. Hydrothermal modification of granular starch with retention of the granular structure: A Review. *J. Agric. Food Chem.* 1998. **46**: 2895-2905.
- Mitsuiki, S.; Mukae, K.; Sakai, M.; Goto, M.; Hayashida, S.; Furukawa, K. Comparative characterization of raw starch hydrolyzing α -amylases from various *Bacillus* strains. *Enzyme Microb. Technol.* 2005. **37**: 410-416.
- Vermeulen, R.; Goderis, B.; Delcour, J. An X-ray study of hydrothermally treated potato starch. *Carbohydr. Polym.* 2006. **64**: 364-375.
- Tester, R.; Kakalas, J.; Qi, X. Starch-composition, fine structure and architecture. *J. Cereal Sci.* 2004. **39**: 151-165.
- Lewandowicz, G.; Soral-Smietana, M. Starch modification by iterated syneresis. *Carbohydr. Polym.* 2004. **65**: 403-413.
- Waliszewski, K.; Aparicio, M.; Bello, L.; Monroy, J. Changes of banana starch by chemical and physical modification. *Carbohydr. Polym.* 2003. **52**: 237-242.
- Kimura, A.; Robyt, J. Reaction of enzymes with starch granules: enhanced reaction of glucoamylase with gelatinized starch granules. *Carbohydr. Polym.* 1996. **288**: 233-240.
- Hagenimana, A.; Ding, X.; Fang, T. Evaluation of rice flour modified by

- extrusion cooking. *J. Cereal Sci.* 2006. **43**: 38-46.
10. Sriburi, P.; Hill, S. Extrusion of cassava starch with either variations in ascorbic acid concentration or pH. *Int. J. Food Sci Technol.* 2000. **35**: 141-154.
 11. Merciere, C.; Chrabonniere, R.; Grebaut, J.; De la Gueniviere, J. Formation of amylose lipids complexes by twin-screw extrusion cooking of manioc starch. *Cereal Chem.* 1980. **57**: 4-9.
 12. Mercier, C.; Feillet, P. Modification of carbohydrate components by extrusion-cooking of cereal products. *Cereal Chem.* 1975. **52**: 283-297.
 13. Gunaratne, A.; Hoover, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydr. Polym.* 2002. **49**: 425-437.
 14. Nelson, N. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 1944. **153**: 375-380.
 15. Siljeström, M.; Börck, I. Transglycosidation reactions following heat treatment of starch— effects on enzyme digestibility. *Starch/Stärke.* 1989. **41**: 95-100.
 16. Dubois, M.; Gilles, K.; Hamilton, J.; Rebers, P.; Smith, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 1956. **28**: 350-356.
 17. O'Brien, S.; Wang, Y. Susceptibility of annealed starches to hydrolysis by α -amylase and glucoamylase. *Carbohydr. Polym.* 2008. **72**: 597-607.
 18. Gallant, D.; Bouchet, B.; Baldwin, P. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. *Carbohydr. Polym.* 1997. **32**:177-191.
 19. Hoover, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydr. Polym.* 2001. **45**: 253-267.
 20. Svihus, B.; Uhlen, A.; Harstad O. Effect of starch granule structure, associated value of cereal starch: A review. *Animal Feed Sci. Technol.* 2005. **122**: 303-320.
 21. Konsula, Z.; Liakopoulou, M. Hydrolysis of starches by the action of an α -amylase from *Bacillus subtilis*. *Process Biochem.* 2004. **39**: 1745-1749.
 22. Oates, C. Towards an understanding of starch granules structure and hydrolysis. *Trends in Food Sci. Technol.* 1997. **8**: 375-382.
 23. Buleon, A.; Colonna, P.; Planchot, V.; Ball, S. Starch granules: structure and biosynthesis. Mini review. *Int. J. Biol. Macromol.* 1998. **23**: 85-112.
 24. Bello-Pérez, I.; Ottenhof, M.; Agama-Acevedo, E.; Farhat, A. Effect of storage time on retrogradation of banana starch extrudate. *J. Agric. Food Chem.* 2005. **53**: 1081-1086.
 25. Sagol, S.; Turhan, M.; Sayar, S. A potential method for determining in

- situ gelatinization temperature of starch using initial water transfer rate in whole cereals. *J. Food Eng.* 2006. **76**: 427-432.
26. González, R.; Carrara, C.; Tosi, E.; Añon, M.; Pilosof, A. Amaranth Starch-rich fraction properties modified by extrusion and fluidized heating. *LWT.* 2005. **5**: 1-8.
27. Biliaderis, G.; Grant, D.; Vose, J. Molecular weight distributions of legume starches by gel chromatography. *Cereal Chem.* 1979. **56**: 475-480.