# EVALUACIÓN DE LA MODIFICACIÓN VÍA ENZIMÁTICA DEL ALMIDÓN DE ÑAME (*Dioscorea trifida)* UTILIZANDO α-AMILASA (TERMAMYL® 120 L, TIPO L) PARA SUS POSIBLES APLICACIONES INDUSTRIALES

**JESÚS CARMONA CAMARGO**
**SERGIO PATERNINA URZOLA**

**UNIVERSIDAD DE SUCRE**
**FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS**
**PROGRAMA DE BIOLOGÍA CON ÉNFASIS EN BIOTECNOLOGÍA**
**SINCELEJO**
**2007**

# EVALUACIÓN DE LA MODIFICACIÓN VÍA ENZIMÁTICA DEL ALMIDÓN DE ÑAME (*Dioscorea trifida)* UTILIZANDO α-AMILASA (TERMAMYL® 120 L, TIPO L) PARA SUS POSIBLES APLICACIONES INDUSTRIALES

**JESÚS CARMONA CAMARGO**
**SERGIO PATERNINA URZOLA**

**Proyecto de trabajo de grado para optar al titulo de Biólogo con Énfasis en Biotecnología**

**Director**
**JAIRO SALCEDO MENDOZA**

**Codirector**
**OLGA PERNA MANRIQUE**

**UNIVERSIDAD DE SUCRE**
**FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS**
**PROGRAMA DE BIOLOGÍA CON ÉNFASIS EN BIOTECNOLOGÍA**
**SINCELEJO**
**2007**

**Nota de aceptación**

_____

_____

_____

_____

_____

_____

_____

**Firma del presidente del jurado**

_____

**Firma del jurado**

_____

**Firma del jurado**

**Sincelejo, mayo 2007**

## DEDICATORIA

*A DIOS por bendecirme y ayudarme a cumplir mis sueños*

*A mi niña Maria Belén, por ser mi motivo de inspiración*

*A mi madre Nuris, por su apoyo y amor incondicional*

*A mi padre Darío, por apoyarme y creer siempre en mí*

*A mis hermanos Eucario, Melvin, Leidet, Nuth Zeida,*

*Darío, Sandy y Catherine, por su confianza en todo momento*

*A mi abuelita Dormelina, por su comprensión y ternura*

*A Luz Celis Caro, por su amistad que fue, no es, pero será*

*A mi tía Sara, por colocar su espíritu de superación en mí*

*Jesús*

*A Dios Todopoderoso, por iluminar mi camino*

*A mi madre Carmen, por su amor incondicional*

*A mis hermanos Dalis y Luis Fernando*

*A mi abuela Blanca, mis tíos y primos*

*A Pedro Carranza, por su confianza en mí*

*Y a mis amigas y amigos*

*Sergio*

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:
Jairo Salcedo Mendoza, Ingeniero Químico
Olga Perna, Ingeniera Química
Facultad de Educación y Ciencias, Universidad de Sucre
Janer Polo y Libia Ochoa, Programa de Biotecnología Agrícola (PBA), Universidad de Córdoba.
Sandra La-Rotta, Coldanzimas Ltda.
Celmira Morales, Vidcol Ltda.
Teresa Sánchez, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira (Valle).
Centro de Laboratorios de la Universidad de Sucre
Arturo Doncel, Zootecnista y Auxiliar de laboratorio
Santiago Ruiz, Biólogo
Rita Márquez, Químico y Farmaceuta
Jesús Beltrán, Matemático
Adolfo Consuegra, Lic. Biología y Química
A todas las personas que de cualquier manera colaboraron para la realización del presente trabajo de investigación.

**“Únicamente los Autores son responsables de las Ideas**

**expuestas en el presente Trabajo”**

**(Art. 12 Res. 02 – 2003.)**

**CONTENIDO**


| | Pág. |
|---|---|
| INTRODUCCIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | |
| 2. ESTADO DEL ARTE | 20 |
| 2.1 EL ÑAME (*Dioscorea spp.*) | 20 |
| 2.1.1 Ñampín (*Dioscorea trifida* L.) | 21 |
| 2.1.2 Producción de Ñame a Nivel Mundial | 22 |
| 2.1.3 Producción de Ñame a Nivel Nacional | 23 |
| 2.2 GENERALIDADES DEL ALMIDÓN | 24 |
| 2.2.1 Fuentes del Almidón. | 24 |
| 2.2.2 Composición del Almidón | 25 |
| 2.2.3 Estructura del Gránulo de Almidón | 26 |
| 2.3 PROPIEDADES DEL ALMIDÓN | 27 |
| 2.3.1 Propiedades Funcionales de Los Almidones | 27 |
| 2.3.1.1 Capacidad de Retención de Agua (CRA) | 27 |
| 2.3.1.2 Solubilidad | 28 |
| 2.3.1.3 Conductividad Eléctrica y pH | 28 |
| 2.3.1.4 Resistencia al Congelamiento y Enfriamiento | 28 |
| 2.3.1.5 Medida de la Sinéresis | 29 |
| 2.3.1.6 Resistencia a la Esterilización | 29 |
| 2.3.1.7 Estabilidad y Claridad de las Pastas | 30 |
| 2.3.1.8 Índice de Hinchamiento | 30 |
| 2.3.1.9 Determinación del Punto de Gelatinización | 30 |
| 2.3.1.10 Microscopia del Proceso de Gelatinización | 31 |
| 2.3.1.11 Comportamiento de la Pasta en Frío y en Caliente | 31 |
| 2.4 ALMIDONES MODIFICADOS | 31 |
| 2.4.1 Modificaciones de los Almidones | 33 |
| 2.4.2 Hidrólisis del Almidón | 34 |

2.4.2.1 Hidrólisis Enzimática del Almidón 35
2.4.3 Las Enzimas 37
2.4.3.1 Propiedades de las Enzimas 37
2.4.3.2 Enzimas Degradadoras del Almidón 38
2.4.3.2.1 α-Amilasas 39
2.4.3.2.2 Termamyl® 120L, Tipo L 39
2.4.3.3 Aplicaciones Industriales de las Amilasas 40
2.4.4 Mercado Mundial de las Enzimas 41
2.4.5 Hidrolizados de Almidón 41
2.4.5.1 Glucosa 41
2.4.5.2 Maltosa 43
2.4.5.3 Maltodextrinas 43
2.4.5.4 Dextrinas y Adhesivos de Almidón 43
2.5 ALMIDONES ESPECIALES PARA LA INDUSTRIA Y LA ALIMENTACIÓN 46
2.5.1 Almidones con Alto Contenido de Amilosa 46
2.5.2 Almidón Tipo Ceroso 46
3 DISEÑO METODOLÓGICO 47
3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN 47
3.2 UNIVERSO Y LOCALIZACIÓN DEL PROYECTO 47
3.3 VARIABLES E INDICADORES 47
3.3.1 Variables Independientes 47
3.3.2 Variables Dependientes 48
3.3.3 Diseño Experimental 48
3.4 MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS 48
3.4.1 Obtención de Almidón de Ñame 48
3.4.1.1 Lavado y Pelado 48
3.4.1.2 Rallado y Tamizado 49
3.4.1.3 Sedimentación y Resuspensión del Almidón 49

3.4.1.4 Secado del Almidón 49
3.4.2 Evaluación del Proceso de Dextrinización del Almidón de *Dioscorea trifida* con α-Amilasa (Termamyl® 120 L, Tipo L) 49
3.4.2.1 Determinación de Equivalente de Dextrosa (ED) 51
3.4.3 Determinación de las Propiedades Funcionales. 51
3.4.3.1 Capacidad de Retención de Agua (CRA) 51
3.4.3.2 Solubilidad en Agua Fría y Caliente 52
3.4.3.3 Determinación del pH 52
3.4.3.4 Conductividad Eléctrica 52
3.4.3.5 Resistencia a la Congelación y Enfriamiento 52
3.4.3.6 Resistencia a la Esterilización 53
3.4.3.7 Estabilidad y Claridad de las Pastas 53
3.4.3.8 Acidez Titulable 53
3.4.3.9 Índice de Hinchamiento (IH) 54
3.4.3.10 Determinación del Punto de Gelatinización 54
3.4.3.11 Microscopía del Proceso de Gelatinización 54
3.4.3.12 Densidad Verdadera (DT), Densidad Promedio (DB) y Porosidad 55
3.4.3.13 Comportamiento de la Pasta en Frío y Caliente (viscoamilograma) 55
3.4.4 Evaluación de Pegantes 55
3.4.4.1 Evaluación del Adhesivo 56
3.4.4.1.1 Resistencia de la Unión Adhesiva 56
3.4.4.1.2 Prueba Extensible 56
3.4.4.1.3 Prueba de Cizalla 57
3.4.4.1.4 Rotulado de Botellas y Sellos de Papel 58
3.5 TOMA DE MUESTRA 58
3.6 PROCESAMIENTO DE DATOS 58
4 RESULTADOS Y DISCUSIONES 59
4.1 OBTENCIÓN DE ALMIDÓN 59

4.2 EVALUACIÓN DEL PROCESO DE DEXTRINIZACIÓN DEL ALMIDÓN DE ÑAME CON α-AMILASA (TERMAMYL® 120 L, TIPO L). 59
4.3 EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL ALMIDÓN DE ÑAME *D. trifida* MODIFICADO 61
4.3.1 Capacidad de Retención de Agua (CRA) 61
4.3.2 Solubilidad en Agua Fría y Caliente 63
4.3.3 pH 67
4.3.4 Conductividad Eléctrica 68
4.3.5 Acidez Titulable. 70
4.3.6 Resistencia a la Congelación y Enfriamiento 72
4.3.7 Resistencia a la Esterilización. 74
4.3.8 Estabilidad y Claridad de las Pastas 75
4.3.9 Índice de Hinchamiento (IH) 79
4.3.10 Microscopia del Proceso de Gelatinización 81
4.3.11 Temperatura de Gelatinización 84
4.3.12 Densidad Verdadera, Densidad Promedio y Porosidad 85
4.3.13 Comportamiento de la Pasta en Frío y Caliente 87
4.3.14 Evaluación de los Almidones Modificados de *D. trifida* como Pegantes 90
4.3.14.1 Evaluación del Adhesivo 92
4.3.14.1.1 Rotulado de Botellas y Prueba de Sellado 92
4.4 POSIBILIDADES DE USO DE LOS ALMIDONES MODIFICADOS DE *Dioscorea trifida* 95
5 CONCLUSIONES 97
6 RECOMENDACIONES 99
7 BIBLIOGRAFÍA 100
ANEXO 112

## LISTA DE GRÁFICAS


**Pág.**

Gráfica 1. Comparativo de la producción del cultivo de ñame a nivel mundial 23

Gráfica 2. Porcentajes de equivalentes de dextrosa para los almidones de *D. trifida* modificados 60

Gráfica 3. Capacidades de retención de agua (CRA) para los almidones de *D. trífida* modificados 62

Gráfica 4. Solubilidades de almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC 64

Gráfica 5. Solubilidades de almidones de *D. trifida* modificados a 72ºC 64

Gráfica 6. Solubilidades de almidones de *D. trifida* modificados a 93ºC 65

Gráfica 7. pH de los almidones modificados de *D. trifida* 67

Gráfica 8. Conductividades eléctricas de los almidones de *D. trifida* modificados 69

Gráfica 9. Acidez tilulable de los almidones de *D.trifida* modificados 71

Gráfica 10. Evolución de la sinéresis de los almidones modificados durante el enfriamiento a 4ºC 72

Gráfica 11. Evolución de la sinéresis de almidones modificados durante el congelamiento -20ºC 73

Gráfica 12. Cambios de viscosidad de los almidones modificados de *D. trífida* 75

Gráfica 13. Porcentajes de transmitancia de los almidones Modificados a 50ºC 76

Gráfica 14. Porcentajes de transmitancia de los almidones modificados a 72ºC 76

Gráfica 15. Porcentajes de transmitancia de los almidones modificados a 93ºC 77

Gráfica 16. Índices de Hinchamiento (IH) de los almidones de *D. trifida* modificados 79
Gráfica 17. Temperaturas de gelatinización de los almidones de *D. trífida* modificados 84
Gráfica 18. Densidad verdadera, densidad promedio y porosidad de los almidones *D. trifida* modificados 86
Gráfica 19. Viscoamilograma de muestras de almidones modificados a 72ºC de *D. trifida* (8%) 88
Gráfica 20. Viscoamilograma de muestras de almidones modificados a 50ºC y 72ºC de *D. trifida* (8%) 88
Gráfica 21. Viscoamilograma de muestras de almidones modificados a 50ºC de *D. trifida* (8%) 89

## LISTA DE TABLAS


| | Pág. |
|---|---|
| Tabla 1. Superficie cosechada, producción y rendimiento en Colombia | 24 |
| Tabla 2. Características de gránulos de almidón nativo de fuentes comunes | 25 |
| Tabla 3. Enzimas de la familia de las α-amilasa | 39 |
| Tabla 4. Ficha técnica de Termamyl® 120L, Tipo L | 40 |
| Tabla 5. Usos de amilasas en varios sectores de la industria | 40 |
| Tabla 6. Composición de glucosas comerciales con diferentes ED | 42 |
| Tabla 7. Propiedades físicas y funcionales de hidrolizados, en función de ED | 42 |
| Tabla 8. Categorías de siropes de maltosa comerciales con diferentes ED | 43 |
| Tabla 9. Dosis enzimáticas empleadas en la dextrinización | 50 |
| Tabla 10. Temperaturas de gelatinización y viscosidades reportadas por el Viscoamilógrafo Brabender en los almidones modificados de *D. trífida* | 90 |
| Tabla 11. Tiempo de pegado de los adhesivos de *D. trífida* | 91 |

## LISTA DE FIGURAS


| | Pág. |
|---|---|
| Figura 1. Partes anatómicas de *Dioscorea ssp* | 20 |
| Figura 2. Partes anatómicas de Ñampín (*D. trifida*) variedad morado | 22 |
| Figura 3. Estructura básica de la amilosa y la amilopectina | 26 |
| Figura 4. Representación diagramática de la estructura lamelar de un gránulo de almidón | 26 |
| Figura 5. Clasificación de las principales modificaciones y sus derivados | 33 |
| Figura 6. Diferentes enzimas involucradas en la degradación del almidón | 38 |
| Figura 7. Equipos empleados en el proceso de dextrinización | 50 |
| Figura 8. Sistema para prueba expansible para la evaluación de pegantes | 57 |
| Figura 9. Sistema para prueba cizalla para la evaluación de pegantes | 57 |
| Figura 10. Microscopia del proceso de gelatinización del almidón de *D. trifida* modificado a 50ºC | 81 |
| Figura 11. Microscopia del proceso de gelatinización del almidón de *D. trifida* modificado a 72ºC | 82 |
| Figura 12. Microscopia del proceso de gelatinización del almidón de *D. trifida* modificado a 93ºC | 83 |
| Figura 13. Evaluación de pegantes en los almidones modificados de *D. trifida* para el rotulado de botellas | 92 |
| Figura 14. Evaluación de pegantes en los almidones modificados de *D. trifida* para sellos de sobres de papel | 94 |

## LISTA DE ANEXOS

**Pág.**


Anexo 1. Análisis estadístico del equivalentes de dextrosa 113
Anexo 2. Análisis estadístico de la CRA 113
Anexo 3. Análisis estadístico de la solubilidad a 30, 50 y 70ºC 114
Anexo 4. Análisis estadístico del pH 115
Anexo 5. Análisis estadístico de la conductividad eléctrica 116
Anexo 6. Análisis estadístico de la acidez titulable 116
Anexo 7. Porcentaje de sinéresis de los almidones modificados de *D. trífida* 117
Anexo 8. Análisis estadístico de la sinéresis. 118
Anexo 9. Análisis estadístico de la resistencia a la esterilización 119
Anexo 10. Análisis estadístico de la estabilidad y claridad de las pastas 119
Anexo 11. Análisis estadístico del índice de hinchamiento. 121
Anexo 12. Temperaturas de gelatinización y viscosidades reportadas por el viscoamilógrafo Brabender en los almidones modificados de *D. trifida.* 121
Anexo 13. Análisis estadístico de la temperatura de gelatinización. 122
Anexo 14. Análisis estadístico de la densidad verdadera, densidad promedio y porosidad. 122

## RESUMEN

Se modificó almidón de ñame (*Dioscorea trifida)* vía enzimática utilizando α-amilasa (Termamyl 120L, tipo L de Novo Nordisk) para determinar sus propiedades funcionales, y así evaluar los diversos tratamientos a los cuales pueden verse sometidos en un proceso de transformación en la industria de alimentos y de adhesivos. Los parámetros establecidos para la modificación en esta investigación fueron: temperatura de reacción (50, 72 y 93ºC), concentración de almidón (30, 40 y 50% p/V) y tiempo de reacción (20, 40 y 60 minutos) manteniéndose una serie de combinaciones entre ellas. Los almidones hidrolizados a 93ºC presentaron equivalentes de dextrosa (ED) altos, seguido por los de 72 y 50ºc respectivamente. Las propiedades funcionales evaluadas fueron: capacidad de retención de agua (CRA), solubilidad en agua fría y caliente (30, 50 y 70ºC), pH, conductividad eléctrica, resistencia a la congelación y enfriamiento, medida de la sinéresis, resistencia a la esterilización, estabilidad y claridad de la pasta, comportamiento de la pasta en frío y en caliente, acidez titulable, capacidad de hinchamiento, determinación del punto de gelatinización, microscopia del proceso de gelatinización, densidad verdadera, densidad promedio y porosidad, y su evaluación como adhesivo. Esta investigación ha demostrado el gran potencial de los hidrolizados de almidón de *D. trifida* como una alternativa para responder a las demandas de los procesos industriales en la fabricación de alimentos, tales como productos de panadería, salsas, yogures, mermeladas y productos congelados, así como en la industria de adhesivos.

## ABSTRACT

It is modified yam starch (*Dioscorea trifida*) via enzymatic using alpha-amylase (Termamyl 120L, type L of Novo Nordisk, Denmark) to determine their properties functional, and does to evaluate the diverse treatments to which can turn this way subjected in a transformation process in the industry of foods and of adhesives. The established parameters for the modification in this investigation were: reaction temperature (50, 72 and 93ºC), concentration of starch (30, 40 and 50% w/v) and time of reaction (20, 40 and 60 minutes) staying a series of combinations among them. The starches hydrolyzated at 93ºC presented dextrose equivalent (DE) high, continued respectively by those of 72 and 50ºC. The evaluated functional properties were: capacity of retention of water, solubility in cold water and heat (30, 50 and 70ºC), pH, electric conductivity, resistance to the freezing and cooling, measure of the syneresis, resistance to the sterilization, stability and clarity of the paste, behavior of the paste in cold and in hot, acidity titulable, index of schwelling, determination of the gelatinization point, microscopy of the gelatinization process, true density, density bulk and porosity, and their evaluation like adhesive. This investigation has demonstrated the great potential of the hydrolyzates of starch of *D. trifida* like an alternative to respond to the demands of the industrial processes in the production of foods, such as bakery products, sauces, yogurts, marmalades and frozen products, as well as in the adhesives industry.

## INTRODUCCION Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Ñame es una de varias especies de plantas del género *Dioscorea* (de la familia *Dioscoreaceae*). Es un cultivo de pequeños y medianos agricultores, que constituye en muchas regiones la principal fuente de ingresos, de empleo rural, de oferta de alimento a sus pobladores, y también es un producto de exportación, principalmente a Estados Unidos, España y Alemania para alimento de la población latina y para uso farmacológico (Sánchez, 1997).

En el trabajo realizado por Rodríguez (2003), no se encontraron procesos agroindustriales de extracción de almidón y fabricación de harina de ñame en el país, sin embargo, se cuenta con las recomendaciones técnicas de proceso para ser implementadas cuando las condiciones de mercado lo hagan viable.

El cultivo del ñame espino en la Costa Atlántica presenta una productividad potencial relativamente alta (778 kg/ha/mes) para la fabricación de harinas. A excepción del ñame Criollo, que presenta los más bajos valores de productividad (235 kg de harina/ha/mes y 186 kg de almidón/ha/mes) otras especies de raíces y tubérculos (arracacha, achira, ñame espino), bajo las condiciones de producción del país, presentan una productividad potencial de harina y almidón superior a la de cereales comúnmente utilizados con este propósito como el maíz y el trigo (Rodriguez, 2003).

De lo anterior cabe resaltar que no existe un buen aprovechamiento de los almidones y harinas de las diferentes especies de ñames existentes en Colombia, entre ellas *D. trifida.*

Espitia, Gómez y Salcedo (2004) evaluaron algunas propiedades funcionales del almidón nativo de *D. trifida* y encontraron que dicho almidón puede ser utilizado en

la fabricación de alimentos, tales como productos de panadería, salsas, mermeladas y productos congelados. Para potenciar su uso en la industria de alimentos y de pegantes, por eso la necesidad de investigar con más profundidad los cambios de estas propiedades a través de una modificación vía enzimática para ampliar su uso a nivel industrial.

Muy importante es añadir valor agregado respecto a las propiedades funcionales de los almidones, la mayoría de las empresas comerciales estudian las características de los almidones competitivos en aplicaciones específicas. A este objetivo hay que dirigirse, cuando los almidones nativos no pueden satisfacer estas características, la única opción es alguna forma de agregarles valor, esto puede ser tan simple como una modificación química, física o enzimática para darles propiedades por completo distintas del almidón nativo.

Este estudio planteará que para poder incentivar el cultivo de *D. trifida*, es de suma importancia buscar alternativas que den solución al desaprovechamiento continuo de ésta y las demás especies de ñame por desconocimiento de sus bondades en la aplicación en el desarrollo de nuevos productos para uso industrial, mediante la implementación de esta investigación en lo que se refiere a la evaluación de la modificación vía enzimática (obtención de dextrinas) utilizando la enzima α-amilasa (Termamyl 120® L, tipo L de Novo Nordisk) y analizar sus propiedades funcionales para determinar sus aplicaciones en la industria alimenticia y de pegantes.

De lo anterior se puede pensar que esto tendría un alcance positivo, provechoso para los sectores agro e industrial; en el sector agrario se incentivaría su cultivo ofreciendo nuevas alternativas a los agricultores; en el sector industrial contribuiría a especificar el uso de este almidón y su aplicabilidad en la industria alimenticia y de pegantes.

# 2. ESTADO DEL ARTE

## 2.1 EL ÑAME (*Dioscorea spp.*)

El ñame pertenece a la familia *Dioscoreaceae,* la cual incluye 5 géneros y comprende cerca de 650 especies distribuidas, principalmente, por las regiones tropicales. Se trata, en su mayoría, de plantas herbáceas lianoides o trepadoras (Fig. 1a), provistas de tubérculos subterráneos (Fig. 1b) y aéreos (Fig. 1c) ricos en almidón; las hojas (Fig. 1d), pecioladas y retinervias, son opuestas o helicoidales, desprovistas de estípulas y generalmente lanceoladas y las flores (Fig. 1e) son unisexuales, actinomorfas, y reunidas en racimos (Téllez y Shubert, 1994).

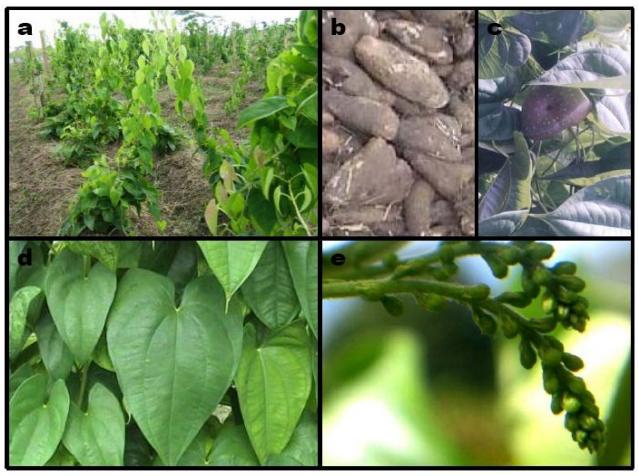



**Figura 1.** *Dioscorea spp*: a) Plantas b) Tubérculo subterráneo (*D. alata*); c) Tubérculo aéreo (*D. bulbifera*); d) Hojas (*D. alata*); e) Flores (*D. trifida*).

Es una planta netamente tropical, que se desarrolla mejor con temperaturas medias entre 25 y 30ºC y una precipitación superior a los 1,000 mm/año. El período vegetativo toma entre 8 y 11 meses, requiriendo mantener la humedad durante los cinco primeros meses de su desarrollo; pasado este tiempo, el exceso de humedad puede ocasionar pudrición de los tubérculos. Requiere abundante luz para obtener mayor producción (Rodríguez, 2003).

El ñame se presenta como un importante alimento de cultivo rico en almidón, sus tubérculos son una excelente fuente de carbohidratos; contienen vitaminas como carotenos, tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico. Además poseen la mayor parte de los aminoácidos esenciales: arginina, leucina, isoleucina y valina; en menor cantidad se encuentra histidina, metionina y triptófano. El contenido de proteínas es del 4.8% en base seca, considerando que la cantidad de ñame que se consume en África es suficiente para proveer la tercera parte de la proteína basal requerida por un adulto (Ayensu, 1972).

Diferentes variedades y especies de ñames han sido utilizadas para obtener productos industriales tales como almidón, esteroides, venenos, insecticidas, y taninos (Degras, 1993); y nuevos productos tales como cerveza lager, helado de crema, jaleas, dulces y pasabocas (Degras, 1993; Kordylas, 1990).

### 2.1.1 Ñampín (*Dioscorea trifida* L.)

Ñampín es la única *Dioscoreacea* comestible de origen americano (León, 1976), apetecida por sus características organolépticas sobresalientes. Otros nombres comunes son yampí (Costa Rica, Jamaica), aja (Cuba), maona (Perú), mapuey (Puerto Rico, Venezuela), y cara doce (Brasil) (Stephens, 1994).

Es una planta herbácea trepadora de tallos volubles (Fig. 2a), delgados que enrollan hacia la izquierda, provistos de 2 a 8 alas membranosas, generalmente en mayor número y desarrollo en la parte inferior del tallo. Hojas alternas, láminas de 10-25cm de largo y 8-23cm de ancho, digitadas (de 3 a 7 lóbulos, con el central más grande (Fig. 2b). Pecíolo de 4-11cm de largo, tetrágono alado. Flores masculinas y femeninas producidas en plantas por separado. Las diminutas flores son sostenidas en ramas largas y delgadas llamadas racimos (Fig. 2d).

Inflorescencias racemosas, axilares. Los frutos no comestibles son capsulas trialadas, con una semilla en cada ala (Téllez y Shubert, 1994).

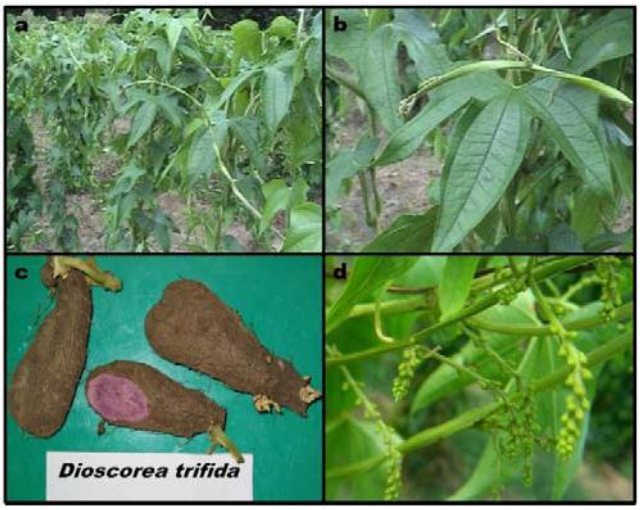



**Figura 2**. Ñampín (*D. trifida*) variedad morado: a) plantas, b) hoja, c) tubérculos y d) flores.

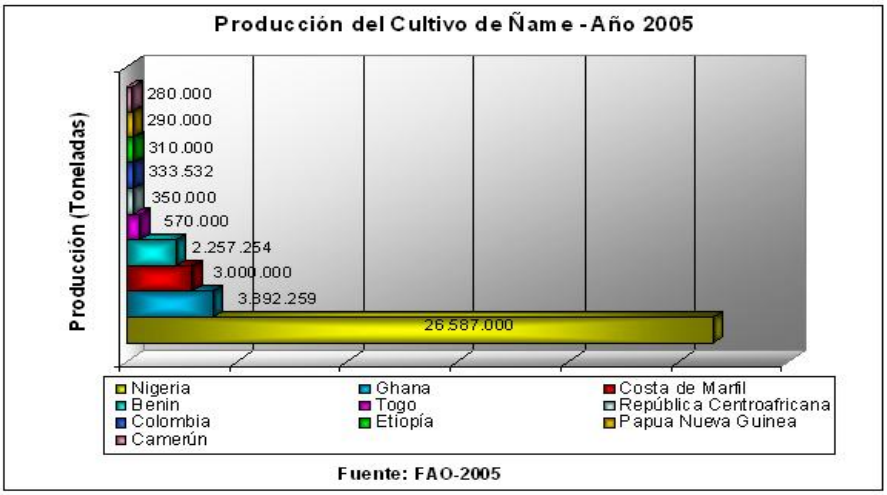
Es el único ñame comestible de origen americano (nativo del Caribe), es apetecido por su sabor, pero poco cultivado por su bajo rendimiento en cosecha. Producen tubérculos pequeños (Fig. 1c) de 15-30 cm de longitud y en grupos. La pulpa puede ser blanca, rosada o púrpura (Durango, 1998). Los tubérculos contienen 7% de proteína y 38% de almidón, pueden ser cocidos enteros o pelados y cortados para hervirlos (Stephens, 1994).

### 2.1.2 Producción de Ñame a Nivel Mundial

El ñame (*Dioscorea* spp.) es un alimento básico en muchas regiones tropicales, principalmente en África Occidental, Sur-Este de Asia, islas del Pacifico sur, el Caribe y Brasil (Degras, 1993). Posee una gran diversidad biológica incluyendo alrededor de 650 especies a nivel mundial. Las especies más cultivadas corresponden a *D. alata, D. rotundata, D. cayenensis, D. esculenta, D. bulbifera y*

*D. trifida*, de las cuales la primera es la preferida en la producción de tubérculos para el consumo humano (Perea y Buitrago, 2000).

El cultivo ñame tiene una producción mundial con mas de 37 millones toneladas/año. Los principales países productores son: Nigeria (26´587.000 ton); Ghana (3´892.259 ton); Costa de Marfil (3´000.000 ton) y otros africanos que, en conjunto, concentran alrededor del 96% de la producción mundial (Gráfica 1); los países americanos participan con el 2% de esta producción y entre ellos se destaca Colombia con una producción de 333.532 toneladas (FAO, 2005).




**Gráfica 1.** Comparativo de la producción del cultivo de ñame a nivel mundial – FAO-2005

### 2.1.3 Producción de Ñame a Nivel Nacional

En Colombia se consiguen varias especies de ñame conocidas comúnmente como ñame criollo (*D. alata*), ñame espino (*D. rotundata*), ñame papa (*D. bulbifera*), ñame azúcar (*D. esculenta*) y ñampín (*D. trifida*). Se considera que *D. alata y D. rotundata* son las especies de mayor importancia tanto por el área sembrada como por la demanda del tubérculo, seguidas por *D. trifida* (Álvarez, 2000).

Las zonas de mayor producción en Colombia son: los departamentos de Córdoba, Sucre y Bolívar, los cuales contribuyeron con el 89,8% del área total nacional cultivada en el año 2004, superando las 26500 hectáreas, con una producción de 310205 toneladas y un rendimiento de 11705 Kg/Ha (Tabla 1); los otros cuatro departamentos de la Costa Atlántica (Atlántico, Magdalena, Cesar y Guajira) respondieron por el 3,46% de la superficie nacional cultivada, mientras que otros departamentos del territorio nacional en su conjunto corresponden al 6,74% (Ministerio de Agricultura y desarrollo Rural, 2004).

**Tabla 1.** Superficie cosechada, producción y rendimiento obtenido por departamentos – 2004

| DEPARTAMENTO | SUPERFICIE (Ha) | PRODUCCIÓN (Toneladas) | RENDIMIENTO (Kg / Ha) |
|---|---|---|---|
| Bolívar | 11.280 | 149.040 | 13.213 |
| Córdoba | 9.442 | 97.062 | 10.280 |
| Sucre | 3.077 | 26.160 | 8.502 |
| Cesar | 588 | 10.020 | 17.041 |
| Atlántico | 111 | 915 | 8.243 |
| Magdalena | 120 | 880 | 7.333 |
| La Guajira | 99 | 825 | 8.333 |
| Antioquia | 1.499 | 23.532 | 15.698 |
| Chocó | 286 | 1.771 | 6.192 |
| Total Nacional | 26.502 | 310.205 | 11.705 |

Fuente: Minagricultura y Desarrollo Rural-2004

## 2.2 GENERALIDADES DEL ALMIDÓN

### 2.2.1 Fuentes del Almidón.

El almidón nativo es un material semicristalino sintetizado como gránulos casi esféricos en muchos tejidos vegetales incluyendo polen, hojas, tallos, raíces, tubérculos, bulbos, rizomas, frutos, y semillas. Comercialmente, el almidón es extraído en forma pura de una variedad de fuentes. El maíz es la principal, pero el trigo, arroz, papa, yuca y sago hacen una significante contribución. Otras fuentes incluyen cebada, avena, ñame, arracacha y guisantes (Tester, 2004). El tamaño,

forma y distribución del gránulo de almidón refleja el origen botánico (Tabla 2) (Tester y Karkalas, 2002).

**Tabla 2.** Características de gránulos de almidón nativo de fuentes comunes

| Almidón | Tamaño (μm) | Forma | Distribución |
|---|---|---|---|
| Maiz (ceroso y normal) | 2-30 | Esférico/poliédrico | Unimodal |
| Amilomaíz | 2-30 | Irregular | Unimodal |
| Avena | 3-10 (simple)<br>80 (compuesto) | Poliédrico | Unimodal |
| Guisante | 5-10 | Rentiforme | Unimodal |
| Papa | 5-100 | Lenticular | Unimodal |
| Arroz | 3-8 (simple)<br>150 (compuesto) | Poliédrico | Unimodal |
| Yuca | 5-35 | Esférico | Unimodal |
| Trigo | 2-10 (Gránulo B)<br>15-35 (Gránulo A) | Lenticular | Bimodal |

Fuente: Modificado de Tester, 2004

### 2.2.2 Composición del Almidón

El almidón puro consiste predominantemente de α-D-glucano (99% de la materia seca) en la forma de amilosa y amilopectina. La Amilosa es una molécula esencialmente lineal que contiene ~99% enlaces α,1-4 y ~1% α,1-6 con un peso molecular de ~$1x10^5$-$1x10^6$ (Fig. 3a). La Amilopectina (peso molecular ~$1x10^7$-$1x10^9$) es mas pesada que la amilosa y está abundantemente ramificada con ~95% α,1-4 y ~5% α,1-6 (Fig. 3b). Cada cadena de amilosa está en el orden de 1000 unidades de glucosa de longitud mientras las unidades de la cadena de amilopectina promedian de ~12 a 120 unidades de anhidroglucosa (Tester, 2004). La proporción de estos dos polímeros y su organización física dentro de la estructura granular confieren propiedades fisicoquímicas y funcionales caracte-rísticas a los diferentes almidones. Por lo tanto, la estructura del almidón necesita ser considerada en dos niveles distintos: a) el nivel molecular, que se refiere a la cantidad, estructura fina, tamaño y forma de las moléculas y b) el nivel de la estructura súper molecular del gránulo (Biliaderis, 1991).

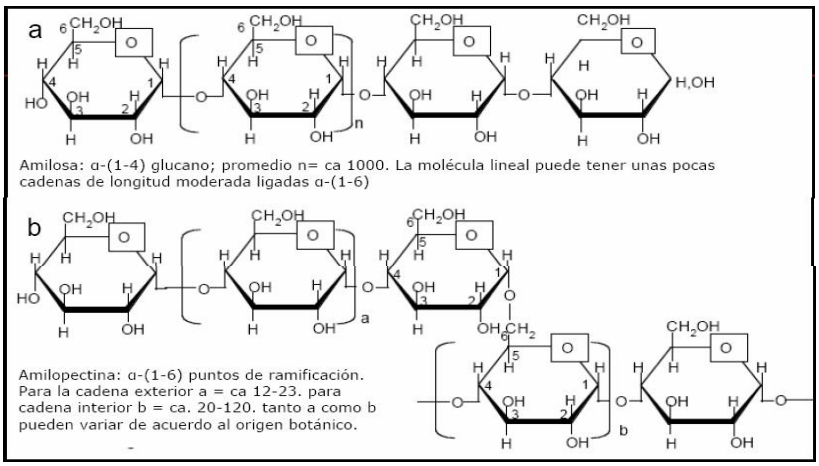



**Figura 3.** Estructura básica de la amilosa (a) y amilopectina (b).

### 2.2.3 Estructura del Gránulo de Almidón

Los gránulos de almidón son sintetizados como matrices semicristalinas, donde la cristalinidad es generada por registro de doble hélice de amilopectina dentro lamelas cristalinas interesparcidas con lamelas amorfas comprendiendo regiones de ramificación α,1-6 de amilopectina y amilosa (Fig. 4). La alternancia de lamelas cristalinas y amorfas provee las bases del crecimiento de los anillos semi-cristalinos ('oscuro', ~16 lamelas cristalinas), y tienen aproximadamente la misma anchura como los anillos de crecimiento amorfo interesparciados ('luminosos') (~140 nm) (Tester, 2004).

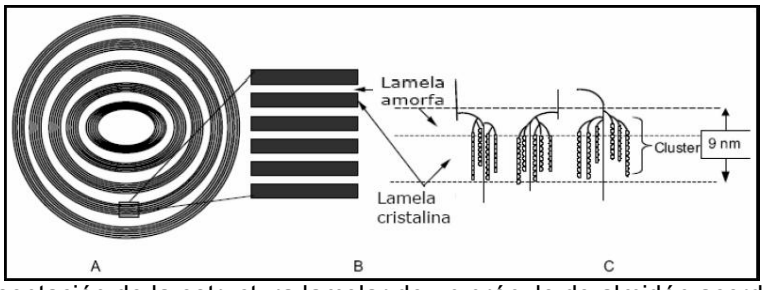



**Figura 4**. Representación de la estructura lamelar de un gránulo de almidón acorde a Donald *et al*. (1997) A). Lamelas cristalinas separadas por anillos de crecimiento amorfos. B) Regiones amorfas y cristalinas. (C) Estructura de doble hélice formada por cadenas adyacentes de amilopectina dando origen a la lamela cristalina. Los puntos de ramificación constituyen las regiones amorfas.

## 2.3 PROPIEDADES DEL ALMIDÓN

El almidón tiene amplios usos más que cualquier otro producto obtenido de fuentes vegetales. Es una buena fuente de carbohidratos, pero en la industria alimenticia se usa principalmente para otros propósitos: (I) como espesante, (II) como relleno, (III) como aglutinante, (IV) y como estabilizador. Algunos ejemplos de estos usos son: en sopas (enlatadas y mezclas en polvo), postres instantáneos, mezclas de flanes y natillas, salchichas y carnes frías, salsas, productos de panadería, pasteles y helados (Alfa-Laval, 1996).

El efecto de los almidones sobre la reología, consistencia y textura de numerosos alimentos, se debe principalmente a sus propiedades hidrocoloidales; sin olvidar numerosas valorizaciones no alimentarias. Esta importante gama de productos puede clasificarse en tres grandes familias:

- Los almidones;
- Los almidones modificados;
- Los hidrolizados de almidón.

(Cheftel y Cheftel, 1996)

### 2.3.1 Propiedades Funcionales de Los Almidones

Las propiedades funcionales de las pastas o geles de almidón son importantes para sus futuras aplicaciones. Estas difieren de acuerdo a la fuente botánica del almidón y a su relación amilosa/amilopectina (Gordon, 1990).

**2.3.1.1 Capacidad de Retención de Agua (CRA):** el almidón es insoluble en agua fría; pero es capaz de retener agua. El agua se adhiere a la superficie de los gránulos de almidón, algo se introduce por las grietas y lleva el gránulo a su hinchamiento. Este comportamiento puede ser atribuido a la relación amilosa/

amilopectina, ya que las moléculas de agua quedan atrapadas en la estructura de la amilopectina, así como también a la diferencia en la distribución de la longitud de la cadena (Bello-Pérez *et al.*, 1998). En un gránulo normal la CRA se asegura con la formación de enlaces de hidrogeno con la amilasa y la amilopectina, lo cual ocasiona en estas moléculas un aumento de volumen creando un mayor espacio permitiendo así la entrada de moléculas de agua.

**2.3.1.2 Solubilidad:** la solubilidad indica el grado de asociación existente (enlaces intragranulares) entre la amilosa y amilopectina, es una medida de los solutos los cuales son lixiviados de los gránulos de almidón cuando son probados por capacidad de hinchamiento. La solubilización del almidón conduce a la destrucción parcial de la estructura granular dependiendo de la especie botánica y del tipo cristalino del almidón nativo (Less, 1982).

**2.3.1.3 Conductividad Eléctrica y pH:** la conductividad eléctrica de las soluciones resulta de la movilidad de los iones y el pH es la concentración de hidrogeniones. El pH y la conductividad eléctrica están íntimamente relacionados, ya que un pH bajo supone una mayor concentración de hidrogeniones ($H^+$) y por tanto una mayor conductividad eléctrica (Gordon, 1990).

**2.3.1.4 Resistencia al Congelamiento y Enfriamiento:** la congelación modifica los atributos de calidad de las pastas de almidón congeladas, al incrementar la exudación del agua “sinéresis“, deteriorar la estructura de la pasta, originar cambios reológicos al comparar con las muestras descongeladas y originar una retrogradación total del almidón a –20ºC, confiriendo a la pasta una estructura de esponja capaz de liberar y absorber agua (Hurtado, 1999) o exhibir cambios químicos durante el almacenamiento (Ferrero, 1993). Los largos tiempos de almacenamiento y particularmente las bajas temperaturas favorecen la retrogradación (Ferrero, 1994).

En enfriamiento, las moléculas en una pasta de almidón se hacen menos solubles y sufren retrogradación, por ejemplo. Los efectos de la retrogradación incluyen cuajado de salsas en deshiele, enranciado de productos cocidos, y la formación de una película en la superficie del gel de almidón. Para muchos productos alimenticios procesados, es deseable tener una pasta de almidón elástica que no sufra retrogradación a los ciclos congelamiento-deshielo. Los almidones con enlaces cruzados y la adición de surfactantes pueden considerablemente mejorar la habilidad de un gel para resistir ciclos de congelamiento-deshielo (Ferris *et al*., 2001).

**2.3.1.5 Medida de la Sinéresis:** el fenómeno de la sinéresis se manifiesta por la liberación de líquidos de algunos geles de polisacáridos (almidón) o proteínas, ocasionada por un reagrupamiento interno de las moléculas; amilosa y amilopectina en el caso del almidón, que origina una interacción más estrecha de éstas por medio de enlaces de hidrógeno; al unirse dichas moléculas liberan el líquido retenido (agua) presentando un aspecto similar al de una esponja, capaz de absorber y de liberar el agua y presentar luego una fuerte sinéresis (Eliasson y Kim, 1992).

**2.3.1.6 Resistencia a la Esterilización:** los almidones presentan cambios en su viscosidad aparente al ser sometidos a esterilización a 121ºC durante 2 horas. Los almidones de cereales no muestran resistencia al exhibir perdidas de viscosidad superiores a 40% con respecto a la inicial (exceptuando el almidón de maíz que presenta una perdida de viscosidad de 20%). Los almidones de yuca y papa, no presentan resistencia al tratamiento de esterilización; mientras que los almidones de achira y ñame se adaptan con mayor facilidad al tratamiento, respuesta de interés industrial de varios productos alimenticios (alimentos para bebes, conservas), que requieren en su proceso un calentamiento alto y prolongado para asegurar un extenso periodo de conservación (Hurtado, 1999).

**2.3.1.7 Estabilidad y Claridad de la Pasta:** una suspensión de almidón en agua es opaca y la gelatinización incrementa la transparencia. La claridad de la pasta está relacionada con el estado de dispersión, por ejemplo, el nivel de dilución y la retrogradación de una muestra. El término retrogradación se refiere a la deteriorización en calidad de una muestra en un periodo de tiempo. La retrogradación consiste de dos procesos separados: gelificación de las moléculas de amilosa exudadas de los gránulos durante la gelatinización, y recristalización de la amilopectina (Miles *et al.*, 1985a).

**2.3.1.8 Índice de Hinchamiento:** la capacidad de hinchamiento puede definirse como el máximo incremento en volumen y peso que el almidón sufre cuando se le permite hincharse libremente en agua y depende de la fuerza y naturaleza de las fuerzas asociadas dentro de la red del gránulo de almidón. Los factores que afectan las fuerzas asociativas incluyen: (i) la proporción de amilosa: amilopectina, (ii) peso molecular de las fracciones, (iii) grado de ramificación, (iv) conformación, y (v) la longitud de las ramas exteriores de la amilopectina. Los almidones se dividen en tres grupos, acorde al nivel de asociación. Los almidones de cereales tienen el más alto grado de asociación y el más bajo poder de hinchamiento, seguido por los almidones de raíces y tubérculos (Asaoka, 1992).

**2.3.1.9 Determinación del Punto de Gelatinización:** cuando una suspensión de almidón es calentada en exceso de agua, los gránulos se hinchan a partir de una temperatura (superior a 50°C) variable según su origen botánico, produciendo una pérdida de la estructura cristalina, denominada gelatinización. La temperatura a la que comienza el aumento de viscosidad; es llamada la temperatura de pasta (depende de la concentración de la suspensión y de la sensibilidad del viscoamilógrafo) pero, con frecuencia en este punto se determina la temperatura de gelatinización (Mestres y Mouquet, 1996).

**2.3.1.10 Microscopia del Proceso de Gelatinización:** el proceso de gelatinización se puede seguir microscópicamente y determinar la temperatura de gelatinización al calentar una suspensión de almidón en agua. La observación de este proceso por medio de la microscopía representa una herramienta valiosa para explicar el comportamiento durante la cocción de los almidones con diferentes cantidades de amilosa. Los almidones de amilopectina forman una pasta viscosa a medida que el gránulo gelatinizado absorbe agua y permanece en suspensión (Flint, 1996).

**2.3.1.11 Comportamiento de la Pasta en Frío y en Caliente:** se define como la viscosidad que presenta la pasta de almidón durante su calentamiento y su enfriamiento a diferentes temperaturas. Todos los gránulos de almidón de una única fuente vegetal no se empastan a la misma temperatura, entre más grandes sean los gránulos tienden a hincharse a menores temperaturas. El aumento de la viscosidad de una suspensión de de almidón en agua al calentarse es una forma conveniente de evaluar el progreso del empastamiento (Charley, 1997).

## 2.4 ALMIDONES MODIFICADOS

La gran diversidad de características y propiedades funcionales de los diferentes tipos de almidón permite su utilización en una amplia gama de industrias como la alimenticia (panificación, coladas, espesante de sopas instantáneas, productos enlatados, fabricación de salsas, productos dietéticos, dulces y gomas, entre otros); en farmacéutica, cosmetológica, textil, de adhesivos, papelería y producción de alcoholes. Sin embargo, los almidones naturales no cubren la gama de propiedades físico-químicas requeridas por las industrias ya que la estructura nativa del almidón puede ser menos eficiente debido a que las condiciones del proceso (por ejemplo: temperatura, pH y presión) reducen su uso en otras aplicaciones industriales, debido a la baja resistencia a esfuerzos de corte, baja

descomposición térmica, alto nivel de retrogradación y sinéresis (Bello-Pérez *et al*., 2002).

Por las razones antes mencionadas, es necesario conocer las propiedades funcionales de los almidones nativos y someterlos a procesos de modificación, por vía física, química o enzimática, para obtener tipos adecuados para usos específicos (Alfa-Laval, 1996), dando como resultado un almidón modificado con propiedades deseables para aplicaciones específicas. Las varias formas de conseguir modificar los almidones nativos son la de alterar una o mas de las siguientes propiedades: temperatura de pasta, relación sólidos/viscosidad, resistencia a cambios de viscosidad por ácidos, calor y/o agitación mecánica (cizallamiento), tendencia a la retrogradación, carácter iónico e hidrofílico, para proporcionarles propiedades especiales de espesamiento, gelificación, adhesión y/o formación de películas (Swinkels, 1996).

El National Starch & Chemical (1997) cita también que las modificaciones de los almidones permiten mejorar la retención de agua, aumentar la estabilidad, mejorar la sensación al paladar y brillo, gelificar, dispersar o conferir opacidad; además los almidones modificados muestran mejor claridad de pastas, mejor estabilidad, incrementada resistencia a retrogradación e incremento en la estabilidad al ciclo congelamiento-deshielo (Würzburg, 1995; Zheng, 1999; Fang *et al*., 2002). Algunas características de los almidones nativos son conservadas durante los tratamientos de modificación (Cereda, 2001).

Actualmente, las empresas de alimentos recurren al uso de almidones modificados. El almidón e incluso la glucosa, todos los productos pueden pasar por reacciones de modificación y de conversión, conduciendo a la producción de moléculas de grados de complejidad variados. Las razones que conllevan a la modificación, según BeMiller, 1997, son:

- Modificar las características de cocimiento (gelificación);
- Disminuir la retrogradación;
- Reducir la tendencia de gelificación de las pastas;
- Aumentar la estabilidad de las pastas al enfriamiento y congelamiento;
- Aumentar la transparencia de las pastas y geles;
- Mejorar la textura de las pastas o geles;
- Mejorar la formación de películas;
- Aumentar la adhesividad;
- Adicionar grupos hidrofóbicos e introducir poder emulsificante.

### 2.4.1 Modificaciones de los Almidones

Las modificaciones pueden ser divididas en físicas, químicas, enzimáticas y combinadas (Fig. 5).

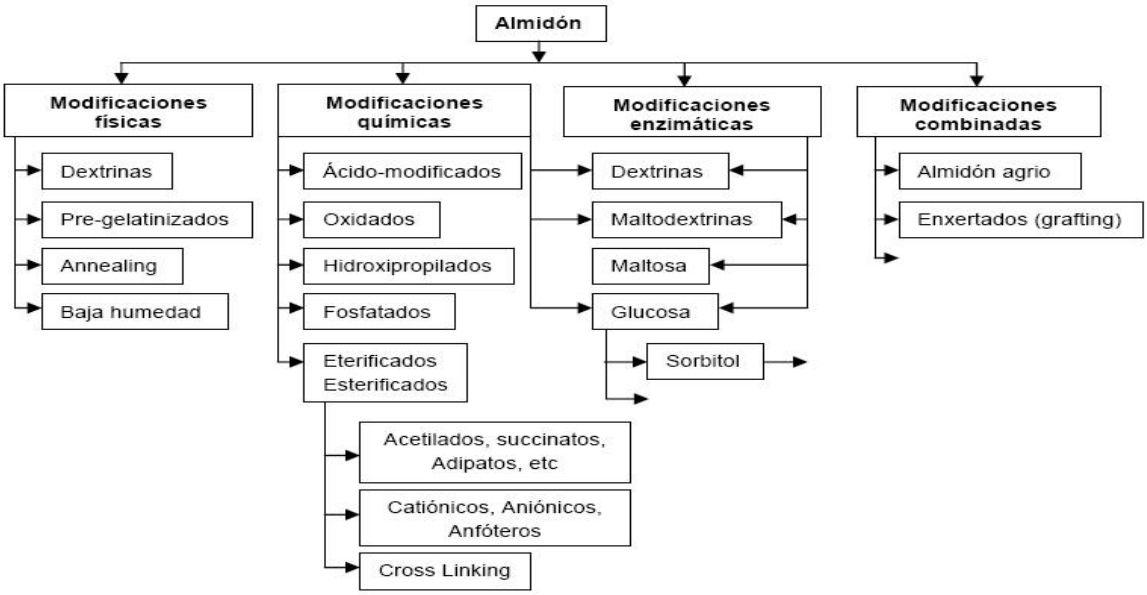



**Figura 5.** Clasificación de las principales modificaciones y sus derivados.

La modificación física puede ser efectuada por el roce (por ejemplo, molienda), por esto los gránulos de almidón “dañados” son fácilmente dispersados en agua fría

hasta proveer pastas o geles los cuales son digeribles. En la práctica comercial, sin embargo, el almidón 'pregelatinizado' es obtenido por la simultánea gelatinización y secado de la dispersión de almidón acuoso. Este almidón modificado físicamente da geles instantáneamente en la adición de agua fría (Tester y Karkalas, 2002).

Entre las modificaciones químicas se incluye a los almidones hidroxipropilados, de enlaces cruzados y acetilados (Van Der Bij, 1976). Estos almidones generalmente muestran mejor estabilidad y claridad de pasta, menor tendencia a la retrogradación y aumento en la estabilidad al ciclo congelamiento-deshielo (Agboola, 1991). Las modificaciones químicas son usadas para intensificar características deseables de almidones. Esto incluye 'entrecruzamiento' para proveer resistencia química y térmica y la adición de químicos específicos modifica para prevenir recristalización (retrogradación) de geles de almidón (Tester y Karkalas, 2002).

En la modificación enzimática las enzimas son usadas para hidrólisis de almidón, particularmente para la producción de dextrinas y glucosa. Aunque α-amilasa y amiloglucosidasa son ampliamente usadas para la obtención de jarabe de glucosa, maltodextrinas y glucosa cristalina (dextrosa); dextrinas y maltosa especializadas pueden ser obtenidas con β-amylasa (Tester y Karkalas, 2002).

### 2.4.2 Hidrólisis del Almidón

Entre las hidrólisis del almidón, la modificación enzimática son las más valiosas, no en tanto, es posible obtener algunos tipos de almidón por hidrólisis química (ácida). Surmely (1996) relata las ventajas de la hidrólisis enzimática en comparación con la hidrólisis ácida:

- La neutralización de una hidrólisis ácida produce cantidades significativas de sal, en cuanto que en una hidrólisis enzimática, las cantidades minerales son mínimas, permitiendo el uso de resinas trocadoras de iones para remover las sales formadas y obtener siropes de conductancia leve;

- En la hidrólisis enzimática, el volumen de cal activada usada para remover compuestos coloridos y compuestos responsables de olores y sabores indeseables es menor;

- Simplificación de la línea de producción, con reactores unitarios de licuefacción, sacarificación y decoloración;

- Ahorro de energía, pues una licuefacción ácida tradicional, en procesos por batelada, exige comienzo bajo presión con altas temperaturas. Una licuefacción enzimática de harina de mandioca puede ser realizada a una temperatura de 85ºC por unos minutos;

- La hidrólisis enzimática posibilita la fabricación de una completa gama de hidrolizados, con una misma línea de equipamientos.

A pesar de todas esas ventajas, los costos elevados de líneas de procesamiento enzimático y de las enzimas son factores son factores restrictivos para el uso de esta tecnología.

**2.4.2.1 Hidrólisis Enzimática del Almidón:** la hidrólisis enzimática del almidón nativo puede ser considerada como una de las técnicas para modificar almidón nativo por reducción de su peso molecular promedio. Los productos de la conversión enzimática del almidón van desde glucosa hasta dextrinas de alto peso molecular.

En adición a la disminución del tamaño de la molécula y la viscosidad de la dispersión de almidón, el proceso de hidrólisis puede también modificar otras características de las dispersiones de almidón. Las α-amilasa son ampliamente usadas para la depolimerización de almidones en la preparación de maltodextrinas. La susceptibilidad de los gránulos de almidón a la α-amilosis depende de su origen botánico (Madhusudhan & Tharanathan, 1995), de la fuente de α-amilasa (Planchot et al., 1995) y si el almidón está realmente disperso, en parte gelatinizado o suspendido como gránulos intactos. En general, gránulos de almidón de cereales son mucho más rápidamente hidrolizados por α-amilasa que los almidones de papa, lo cual es ampliamente atribuido a su alta estructura cristalina (Gallant *et al.*, 1992). La gelatinización es uno de los procedimientos aplicados para incrementar la susceptibilidad de almidones de cereales y tubérculos a la amilosis, ha sido mostrado que gránulos de almidón crudo hidrolizan mas lento que el almidón pregelatinizado (Lauro, 2000)

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría. El agua, cuando penetra a las áreas amorfas del gránulo, forman enlaces de hidrógeno con los grupos hidróxilos libres de la molécula de almidón. Estos enlaces son fuerzas débiles, más el número de enlaces en el gránulo es tan alto que impide su disolución (Swinkels, 1985). Por tanto, los gránulos de almidón se hinchan levemente en agua fría (10 a 15% de diámetro), mas el hinchamiento es irreversible por secamiento. Cuando la temperatura de la suspensión es mayor que la fuerza de los enlaces de hidrogeno, el gránulo de almidón comienza a hincharse irreversiblemente y ocurre la gelificación. La gelificación ocurre con la formación de enlaces entre las moléculas de agua y grupos hidroxilos, liberados por la entrada de agua (Thiebault y Colonna, 1988). La gelificación del almidón es el primer paso para el proceso de hidrólisis, pues las enzimas atacan mas lentamente el almidón granular.

### 2.4.3 Las Enzimas

Las enzimas usadas en el proceso de hidrólisis son llamadas diastasas, o enzimas amilolíticas.

**2.4.3.1 Propiedades de las enzimas:** Mouranche (1985) citó algunas condiciones para que las enzimas puedan ser empleadas con máximo desempeño:

- Especificidad: para cada fase de reacción, la necesidad de un tipo de enzima;
- Optimización de pH: todas las enzimas son sensibles a variaciones del cambio de pH del medio. Existe un pH óptimo para lo cual la actividad enzimática es máxima, puede ser básico o ácido en función de la enzima.
- Optimización de temperatura: como para el pH, las enzimas tienen un rango de temperatura en el cual la actividad enzimática es máxima. En general, es preferible utilizar enzimas que soporten altas temperaturas para permitir el aumento de la cinética de reacción y proteger el medio contra eventuales contaminaciones microbianas;
- Unidad de actividad enzimática: la unidad internacional de actividad enzimática, o katal (kat), fue definido como una cantidad de enzima que transforma un Mol de substrato por segundo, en condiciones de experimentación estándares. Para una unidad menor se usa la cantidad de enzima que transforma un µMol de substrato por minuto. A pesar de esta normatización internacional, cada fabricante de enzima define las propias unidades en condiciones experimentales particulares.

**2.4.3.2 Enzimas Degradadoras del Almidón:** la degradación del almidón es realizada tanto en los plastidios foliares como en los aparatos digestivos de los vertebrados, se conoce la casi totalidad de las enzimas implicadas (Fig. 6) pero se desconocen los detalles de la regulación del funcionamiento de las mismas (Tetlow, 2004). Existen básicamente cuatro grupos de enzimas convertidoras de almidón: endoamilasas, exoamilasas, enzimas desramificantes y transferasas.

Las endoamilasas son capaces de romper enlaces α,1-4 glicosídicos presente en la parte interior (endo-) de la cadena de amilosa o amilopectina. La α-amilasa es una endoamilasa bien conocida y se halla en una amplia variedad de microorganismos como arqueas y bacterias. Las exo-amilasas, también rompen enlaces α,1-4 glicosídicos tales como las β-amilasas o rompen ambos enlaces α,1-4 y α,1-6 glicosídicos semejante a la amiloglucosidasa o glucoamilasa y α-glucosidasa. Actúan sobre los residuos de glucosa externos de la amilosa y la amilopectina y así producen solamente glucosa (glucoamilasa y α-glucosidasa), o maltosa y dextrinas limite β- (β-amilasa) (Pandey et al., 2000).

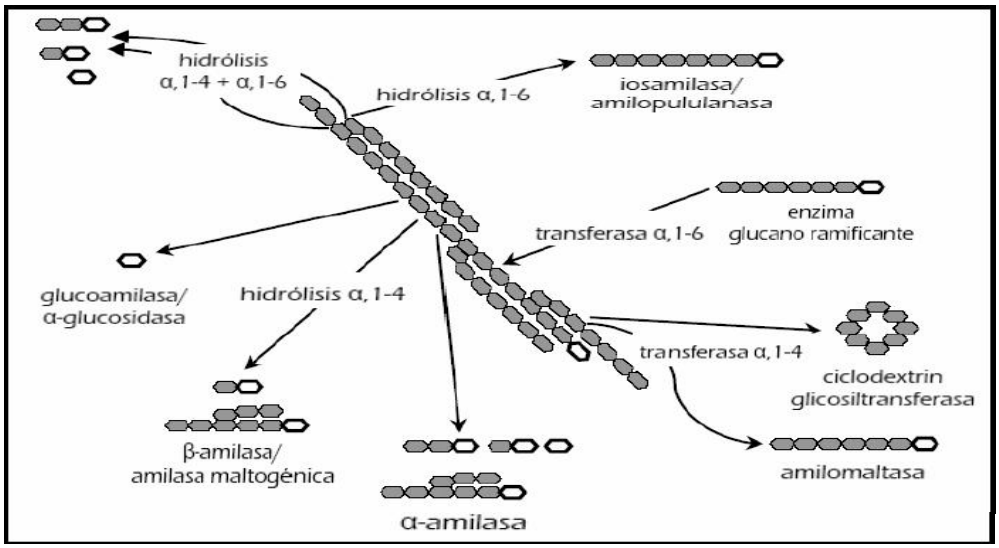



**Figura. 6.** Diferentes enzimas involucradas en la degradación de almidón. La estructura en anillo abierto simboliza el terminal reductor de la molécula de poliglucosa.

**2.4.3.2.1 α-Amilasas:** la familia de las α-amilasa o familia 13 glicosil hidrolasas acorde a la clasificación de Henrissat (1991), comprende un grupo de enzimas (Tabla 4) que tienen las siguientes características: actúan sobre enlaces α-glicosídicos e hidrolizan estos enlaces para producir mono- o oligosacaridos α-anoméricos (hidrólisis), de enlaces α,1-4 o 1-6 glicosídicos (transglicosilación), o una combinación de ambas actividades (Kuriki e Imanaka, 1999).

**Tabla 3.** Enzimas de la familia de las α-amilasa y su substrato principal.

| **Enzima** | **Substrato principal** |
|---|---|
| Enzima glucano ramificante | Almidón, glicogeno |
| Ciclidextrina glicosiltransferasa | Almidón |
| Amilomaltasa | Almidón, glicogeno |
| α-amilasa | Almidón |
| α-glucosidasa | Almidón |
| Amilopululanasa | Pululano |
| Isopululanasa | Pululano |
| Isoamilasa | Amilopectina |
| Trehalosa-6-fosfato hidrolasa | Trehalosa |
| Amilasa maltogénica | almidón |
| Neopululanasa | Pululano |
| Malto-oligosil trehalasa hidrolasa | Trehalosa |
| Malto-oligosil trehalasa sintetasa | Maltosa |

Fuente: modificado de Van der Marel, 2002

La amilasa suele ser denominada “enzima licuante”, debido a su rápida acción en reducir la viscosidad de las disoluciones de almidón. El tratamiento de la amilosa o amilopectina con α-amilasa da como resultado una mezcla de maltosa, glucosa y también cierta cantidad de panosa si la reacción continúa sobre un largo periodo.

**2.4.3.2.2 Termamyl® 120L, Tipo L:** Termamyl es un producto enzimático liquido que contiene una α-amilasa sobresaliente termoestable, producida mediante una cepa genéticamente modificada de *Bacillus licheniformes*.

El nombre sistemático de la enzima es 1,4-α-D-glucano-hidrolasa. La enzima hidroliza enlaces α,1-4 de amilosa y amilopectina, convirtiendo rápidamente el almidón en dextrinas y oligosacaridos solubles. Termamyl fue especialmente desarrollada para promover la licuefacción (dextrinización) del almidón y producción de maltodextrinas. La tabla 5 muestra la fiche técnica de esta enzima.

**Tabla 4.** Ficha técnica de Termamyl® 120L, Tipo L

| **Ficha técnica de Termamyl® 120L, Tipo L** | |
|---|---|
| Aplicaciones: | ➢ Industria alimenticia: almidón, alcohol, azúcar y cerveza<br>➢ Industria de fermentaciones: vitaminas, aminoácidos, antibióticos, etc.<br>➢ Industria textil y adhesivos |
| Características: | ➢ Apariencia: liquido no viscoso de grado alimenticio<br>➢ Color: marrón oscuro<br>➢ Densidad: 1,20-1,25 g/mL |
| Propiedades según los proveedores | ➢ Actividad: 120 KNU/g (1 KNU: cantidad de enzima rompe 5,26g de almidón por hora, avalado por el método estándar de Novozymes A/S). |
| Parámetros óptimos: | ➢ pH: 6,5<br>➢ Temperatura: 90-105ºC<br>➢ Calcio: 50-70 ppm |

Fuente: Novozymes A/S.

**2.4.3.3 Aplicaciones Industriales de las Amilasas:** las amilasas de *Bacillus* spp. tienen aplicación en un número de procesos industriales, tales como en la industria de alimentos, textil y de papel (Tabla 4) (Pandey et al. 2000).

**Tabla 5**. Usos de amilasas en varios sectores de la industria.

| **Sector** | **Usos** |
|---|---|
| Industria alimenticia | ➢ Producción de siropes de glucosa, glucosa cristalina<br>➢ Producción de siropes de maíz de alta fructosa<br>➢ Producción de siropes de maltosa<br>➢ Reducción de viscosidad de siropes de azúcar<br>➢ Reducción de la formación de tufos en jugos<br>➢ Solubilización y sacarificación de almidón para la fermentación alcohólica en industrias cerveceras<br>➢ Retardación de enranciamiento en la industria de horneados |
| Industria de detergentes | ➢ Usado como un aditivo para remover lodos a base de almidón |
| Industria papelera | ➢ Reducción de viscosidad del almidón para un apropiado corte del papel |
| Industria textil | ➢ Deformar el tamaño de fibras textiles |
| Industria farmacéutica | ➢ Usado como un ayudante digestivo |

### 2.4.4 Mercado Mundial de Las Enzimas

El mercado mundial para enzimas industriales está estimado en cerca de US$ 1,6 billones, dividido entre enzimas para la industria de alimentos (29%), enzimas como alimento (15%), y enzimas para técnicas generales (56%) (Outtrup y Jorgensen, 2002). Está estimado que las enzimas de *Bacillus* spp. cubren cerca del 50% del total del mercado de enzimas. La porción de carbohidrasas que comprenden amilasas, isomerasas, pectinasas y celulasas está cerca del 40% (Riegal y Bissinger, 2003). El sector de alimentos y bebidas utiliza el 90% de carbohidrasas producidas. La venta anual de α-amilasa en el mercado global está estimado en US$11 millones (Kilara y Desai, 2002).

### 2.4.5 Hidrolizados de Almidón

La denominación de hidrolizados de almidón reúne todos los productos de fraccionamiento del almidón, independientemente de los catalizadores usados (ácidos, enzimas) o del grado de este fraccionamiento. Incluyen un importante número de productos diferentes como glucosa, maltosa, maltotetraosa, maltodextrinas, fructosa, ciclodextrinas, dextrinas, etc. Los hidrolizados presentan propiedades físicas, funcionales, energéticas y organolépticas que son características de cada tipo de producto (Teague y Brumm, 1992). Los hidrolizados de almidón pueden ser comercializados en forma de sirope, o la que es más común en la forma de polvo.

**2.4.5.1 Glucosa:** la expresión sirope de glucosa designa a todas las soluciones acuosas purificadas y concentradas de polímeros de D-glucosa, obtenidas por hidrólisis de almidón y con ED entre 20 y 80 (Howling, 1992). Por glucosa se entiende los hidrolizados que contienen moléculas de glucosa en proporción de 5 a 95%, con la condición de que predominen en relación a los demás polisacáridos.

La materia prima comercial para la producción de glucosa es el almidón. La glucosa comercial es una mezcla hidrolizada compuesta predominantemente de glucosa, además de maltosa, maltotriosa y de otros sacáridos en proporción variable. Cuanto más intensa es la hidrólisis (mayor ED) mayor es la formación de glucosa (Tabla 7).

**Tabla 6.** Composición de glucosas comerciales con diferentes ED.

| | Equivalente de Dextrosa (ED) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 30 | 35 | 42 | 55 |
| Glucosa | 10 | 14 | 19 | 31 |
| Maltosa | 9 | 12 | 14 | 18 |
| Maltotriosa | 8 | 10 | 11 | 13 |
| Otros sacáridos | 69 | 64 | 56 | 48 |

Fuente: Lloyd y Nelson (1984)

De manera general, las propiedades de los siropes de glucosa son determinados por el espectro glicídico y por el grado de polimerización medio de los constituyentes de los siropes (Howling, 1992). Estas propiedades físicas y funcionales varían en función de ED (Tabla 8).

**Tabla 7.** Propiedades físicas y funcionales de hidrolizados, en función de ED.

| PROPIEDADES | INTENSIDAD DE HIDRÓLISIS |
|---|---|
| | Almidón ⟶ ED bajo ⟶ ED alto ⟶ Glucosa |
| Viscosidad | ⟵ |
| Poder ligante y de cohesión | ⟵ |
| Sabor endulzado | ⟶ |
| Poder higroscópico | ⟶ |
| Poder de retención de agua | ⟵ |
| Poder anticristalizante | ⟵ |
| Oscurecimiento por el calor | ⟶ |
| Temperatura de congelamiento | ⟵ |
| Realce de aroma | ⟶ |
| Fermentabilidad | ⟶ |

Fuente: Catalogo Roquette (s/d), citado por Surmely (1997)

**2.4.5.2 Maltosa:** el sirope de maltosa es una solución acuosa purificada y concentrada, conteniendo un mínimo 30% de maltosa y con la condición que la maltosa está predominantemente en relación a los demás sacáridos. La concentración máxima de maltosa que es posible procesar por hidrólisis de almidón en escala industrial es aproximadamente de 90%, según Okada y Nakakuki (1992). En la industria de maltosa, los diferentes siropes producidos son clasificados en tres categorías, como se presentan en la tabla 9.

**Tabla 8.** Categorías de siropes de maltosa comerciales con diferentes ED.

| Categorías de sirope | ED | Glucosa | Maltosa |
|---|---|---|---|
| Sirope de alta conversión (HCS) | 62-63 | 35% | 30-45% |
| Sirope de alta concentración en maltosa (HMS) | 48-52 | 5% | 48-52% |
| Sirope de altisima conversión en maltosa (EHMS) | 50-60 | 5% | 70-85% |

Leyenda: HCS: High Conversion Syrup, HMS: High Maltose Syrup, EHMS: Extra High Maltose Syrup.

Fuente: Alexander (1992)

**2.4.5.3 Maltodextrinas:** la maltodextrina es una solución acuosa purificada y concentrada, liquida o seca, conteniendo una mezcla de glucosa, maltosa, maltotriosa y otros sacáridos, cuyo ED es inferior a 20, o está, en un grado de hidrólisis menor que los siropes de glucosa y maltosa (Alexander, 1992). Las propiedades de las maltodextrinas en función del ED siguen las mismas variaciones de aquellas relatadas para los siropes de glucosa (Tabla 8).

**2.4.5.4 Dextrinas y Adhesivos de Almidón:** la Dextrina debe su nombre a la propiedad que tienen sus soluciones de ser intensamente dextrógiras al examen polarimétrico, es decir, que desvían la luz polarizada a la derecha. Las dextrinas presentan muchas aplicaciones industriales y alimenticias. Su uso más común es como adhesivo para encuadernaciones, sobres y sellos. Sirven también para dar

brillo a los cereales beneficiados y en la decoración de cerámicas, también se usan en la industria textil y en productos farmacéuticos. En el área alimentaria, las dextrinas entran en la preparación de alimentos, como agente espesante y tienen aplicaciones en cervecería, panificación, jugos y bebidas a base de cacao, licores destilados, productos de confitería, etc. (Surmely *et al.*, 2002).

Las dextrinas son productos de degradación parcial del almidón, generados por medio de temperatura y/o catalizadores, en un mecanismo de conversión que involucra procesos de ruptura hidrolítica, reorganización de moléculas y repolimerización (Aristizábal, 2004).

Las dextrinas en el comercio se presentan en forma de polvo blanco amarillento o parduzco según su grado de fuerza, los métodos de preparación y los fines a que se destina. Es soluble en agua e insoluble en el alcohol. Su solución gomosa aplicada sobre el papel deja una vez seca, una película brillante.

Las Dextrinas son un tipo más refinado de adhesivos que se obtienen reaccionando el almidón con ácido y calor o enzimas. Las dextrinas tienen mas baja viscosidad que los adhesivos simples, lo cual permite su uso a altas concentraciones y hace que sus películas se sequen más rápido con mayor fuerza de pegado. Dependiendo del grado de calor y la acidez aplicada en el proceso, las dextrinas son clasificadas como Dextrina Blanca, Dextrina Amarilla, o Goma Británica (Baumann y Conner, 1994).

Se puede definir adhesivo como aquella sustancia que aplicada entre las superficies de dos materiales permite una unión resistente a la separación. Denominamos sustratos o adherentes a los materiales que pretendemos unir por mediación del adhesivo. El conjunto de interacciones físicas y químicas que tienen lugar en la interfase adhesivo/adherente recibe el nombre de adhesión.

Los Adhesivos pueden ser clasificados como pegamento o pastas. Los pegamentos son más líquidos que las pastas y poseen alguna forma de movilidad, por ejemplo, los pegamentos pueden ser bombeados, mientras las pastas tienen pobre movilidad o ninguna. El almidón cocido en agua y adicionando un preservativo puede producir una forma simple de pasta de almidón. Estas pastas son usadas para pegar anuncios o etiquetas de botellas. La adición de sales como el cloruro del calcio a temperaturas específicas o el bórax mejora las propiedades adhesivas significativamente. Pueden agregarse arcillas y bentonitas como extendedores y agentes blanqueadores para ayudar a reducir el color de películas. El almidón puede ser modificado y ser usado como un adhesivo mediante tratamientos como: Tratamiento por calentamiento, Tratamiento con álcali, Tratamiento con acido y Oxidación (Martín y Orgilés, 1992).

El almidón y algunos almidones modificados se usan para la elaboración de adhesivos para diversas aplicaciones en la industria de papel y cartón, ya sea para adhesivos de alta fuerza adhesiva o para colas de menor precio. Estos se emplean para el laminado de ciertos papeles, cerrado de cajas de cartón, fabricación de materiales de embalaje, papel de envoltura y cinta rehumedecibles, para el pegado de etiquetas sobre vidrio y enlatados, formación de sacos multipliegos de papel y bolsas de papel, elaboración de sobres. También son usados en la encuadernación de libros, sellado de cajas de cartón, pegado de papel de cigarrillos, fabricación de fósforos y cajas de fósforos (Aristizábal y Sánchez, 2007).

Los adhesivos de almidón, que son adhesivos a base agua, son muy útiles para las empacadoras y etiquetadoras de alta velocidad por el costo relativamente bajo y la gran velocidad de adhesión (Aristizábal y Sánchez, 2007).

## 2.5 ALMIDONES ESPECIALES PARA LA INDUSTRIA Y LA ALIMENTACIÓN

La industria de almidones genera mundialmente riqueza económica y social (valor estimado de US$20 mil millones). En el caso del maíz existe una amplia variabilidad de mutaciones que dan lugar a diferentes tipos de almidón (ceroso, dulce, opaco, tipo crispeta, etc) las cuales han sido ampliamente explotadas. En otros cultivos, entre ellos la yuca, no se han identificado mutaciones naturales del almidón (FAO/FIDA, 2000).

### 2.5.1 Almidones con Alto Contenido de Amilosa

Almidón de papa con contenido de amilosa superior al 60%, es importante para la fabricación de golosinas debido al alto poder de gelificación. Se han identificado otros tipos de almidones especiales, por ejemplo una nueva línea de papa dulce y raíces de yuca con alto contenido de azúcar libre (Castelo *et al*., 2004; Jobling, 2004).

### 2.5.2 Almidón Tipo Ceroso

El almidón ceroso (waxy) de bajo contenido de amilosa es de bajo contenido de grasa y de alta digestibilidad, por lo cual es de importancia en la producción de alimentos. También es útil en la industria de películas y adhesivos por su baja retrogradación (Jobling, 2004).

# 3 DISEÑO METODOLOGICO

## 3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de estudio en el que se enmarcó esta investigación fue de tipo experimental y descriptivo.

## 3.2 UNIVERSO Y LOCALIZACIÓN DEL PROYECTO

El presente proyecto se realizó con el almidón de ñames (*D. trifida*) recolectados en los municipios de Tierra alta y Sahagún (Córdoba).

La modificación vía enzimática y la determinación de las propiedades funcionales del almidón se llevaron a cabo en los laboratorios de Microbiología, Bromatología, Biotecnología vegetal y Fitoquímica de la Universidad de Sucre. El Análisis de Comportamiento en Frío y Caliente (Viscoamilograma) se realizó en el Laboratorio de Raíces y Tubérculos del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), en Palmira (Valle).

## 3.3 VARIABLES E INDICADORES

### 3.3.1 Variables Independientes

Concentraciones de almidón: 30, 40 y 50% p/v
Tiempos de reacción: 20, 40 y 60 minutos
Temperaturas de reacción: 50, 72 y 93ºC.

### 3.3.2 Variables Dependientes

- Equivalente de dextrosa
- Capacidad de retención de agua
- Solubilidad en agua fría y caliente
- Conductividad eléctrica
- pH
- Resistencia a la esterilización
- Acidez titulable
- Índice de hinchamiento
- Evaluación de adhesivos.
- Estabilidad y claridad de las pastas.
- Punto de gelatinización
- Densidad verdadera, densidad promedio y porosidad
- Microscopia del proceso de gelatinización
- Resistencia al congelamiento y enfriamiento (medida de la sinéresis)

### 3.3.3 Diseño Experimental:

Diseño Experimental Multifactor Categórico.
El análisis de los resultados se hizo con el software Statgraphics Plus versión 5.1. a través de un análisis de ANOVA, una prueba múltiple rango con 95,0% de nivel de confiabilidad.

## 3.4 MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS

**3.4.1 Obtención de Almidón de Ñame:** la obtención del almidón se realizó de forma manual y consistió en:

**3.4.1.1 Lavado y Pelado:** los tubérculos se lavaron con agua potable para eliminarles las impurezas, seguido se les retiró la epidermis, con el fin de dejar la pulpa expuesta para el rallado.

**3.4.1.2 Rallado y Tamizado:** el rallado permitió liberar los gránulos de almidón contenidos en las células del parénquima, se realizó con rallador manual. La masa rallada se suspendió en una solución de amoniaco (0.03M) por 5 minutos con el objetivo de retirar los mucílagos y facilitar la operación de tamizado de acuerdo a la metodología descrita por Moorthy (1991). El tamizado se realizó en un lienzo de tela de nylon, el cual tamiza la masa rallada y permite solo el paso de la lechada (almidón en suspensión en el agua del colado) y retiene la fibra celulósica.

**3.4.1.3 Sedimentación y Resuspensión del Almidón:** la sedimentación se realizó en tanques plásticos de 100 litros por 24 horas, se retiró el agua sobrenadante y la mancha que quedó en la superficie. Luego, el almidón se resuspendió en agua con el objetivo de eliminar la mayor cantidad de impurezas (4–5 h), se realizaron tres resuspensiones con el propósito de eliminar la coloración púrpura del almidón.

**3.4.1.4 Secado del Almidón.** el almidón se secó artificialmente en estufas por 24 horas a 40 ºC hasta que se obtuvo una humedad de 10 – 12%.

### 3.4.2 Evaluación del Proceso de Dextrinización del Almidón de *Dioscorea trifida* con α-Amilasa (Termamyl® 120 L, Type L de Novo Nordisk)

Se utilizó un baño termostatado con control de temperatura (Termostato de circulación tipo V15c) con agitación constante (Fig. 7a). Para este trabajo se fijaron tres factores: Temperatura de reacción (50, 72, y 93ºC), Concentración de almidón (30, 40 y 50% p/v) y Tiempo de reacción (20, 40 y 60 min.), con una serie de combinaciones entre ellas (27 en total), realizándose cada una por triplicado (81 ensayos en total). En beakers de 500 mL se prepararon las soluciones de almidón en base seca, con la cantidad de enzima necesaria (Tabla 9), la cual se determinó

según las descripciones de Novo Nordisk, actividad enzimática: 120 KNU/g, pH=6.5, concentración de iones $Ca^{++}$= 70 ppm (Novozymes A/S, 2002). El pH se mantuvo gracias a la adición de una solución tampón (Buffer fosfato). Los tiempos de reacción se fijaron de 20, 40 y 60 minutos respectivamente donde se midieron los azucares reductores cada 10 minutos utilizando el método del acido 3,5 dinitrosalícico (DNS) (Miller, 1959) para el cálculo de equivalente de dextrosa.

Terminado el tiempo de reacción del proceso de dextrinización, la enzima fue inactivada empleando baño de hielo, luego los almidones modificados se filtraron utilizando una bomba de vacío y papel filtro (Fig. 7b), después se secaron a 60ºC por 24 horas en un horno térmico tipo WSU 100 s/n, una vez secos se almacenaron herméticamente y se rotularon en bolsas Ziploc (Fig. 7d).

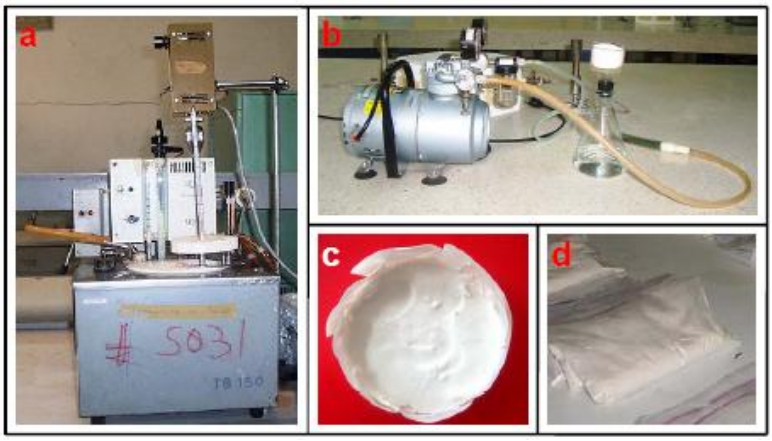



**Figura 7.** Equipos empleados en el proceso de dextrinización: a) baño termostatado con sistema de agitación continua, b) bomba de vacio, c) muestra de almidón y d) almidón empacado

**Tabla 9.** Dosis enzimáticas empleadas en la dextrinización.

| Parámetros | [Almidón] p/V | | |
|---|---|---|---|
| | 30% (75g/250mL) | 40% (100g/250mL) | 50% (125g/250mL) |
| Cantidad de enzima (µL) | 115 | 152 | 190 |
| pH | 6,5 | 6,5 | 6,5 |

Las 81 muestras de almidón modificado se codificaron con 6 dígitos que revelan las condiciones a las que se modificó dicha muestra; los dos primeros dígitos es la temperatura de reacción ($T°_{Rx}$), los dos siguientes la concentración de almidón ([Almidón]) y los dos últimos el tiempo de reacción ($t_{Rx}$), así **503020**, es una muestra que se modificó a $T°_{Rx}$= 50ºC; [Almidón] = 30% y $t_{Rx}$ = 20 minutos.

Los almidones modificados a 93ºC, no se pudieron filtrar debido a la alta solubilidad, por lo que fue necesario secar la solución a 65ºC por 72 horas, luego las muestras secas fueron molidas, empacadas y rotuladas en bolsas Ziploc.

**3.4.2.1 Determinación de Equivalente de Dextrosa (ED):** en la caracterización de los productos de la hidrólisis del almidón se emplea el parámetro que mide el grado de hidrólisis; equivalente de dextrosa (ED), que se define como unidades de glucosa puras requeridas para reducir la misma cantidad de reactivo ácido dinitro-salicilico (DNS) que 100 unidades de masa de hidrolizado seco (Miller, 1959).

Para determinar el equivalente de dextrosa se utilizó el método del DNS, elaborando una curva de calibración (Concentración de glucosa vs. Absorbancia). Las lecturas fueron hechas en un espectrofotómetro Merck SQ 118 (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).

### 3.4.3 Determinación de las Propiedades Funcionales.

**3.4.3.1 Capacidad de Retención de Agua (C.R.A.):** se determinó por el método de Sosulski y descrito por Abbey & Ibeth (1988). Se preparó 12mL de una suspensión al 10% (p/V) de almidón con agua destilada a 30°C. 10g de la suspensión acuosa se transfirieron a un tubo de ensayo y se centrifugó a una velocidad de 3500rpm por 30 min en una centrifugadora VEB MLW T5. El agua

libre fue removida y se pesó el precipitado. La capacidad de retención de agua se calcula:

$$\%CRA = \frac{\text{Agua en la muestra – agua removida}}{\text{Masa de almidón en la muestra}} \times 100$$

**3.4.3.2 Solubilidad en Agua Fría y Caliente**: se determinó por el método Eastman y Moore (1984). A 100mL de agua destilada se le agregó 1g de almidón, se agitó manualmente por 2 min, la muestra se centrifugó a 1220 gravedades durante 15 min en una centrifugadora VEB MLW T52, una alícuota de 25mL de sobrenadante se transfirió a una caja de Petri previamente pesada en una balanza analítica (OHAUS Adventure AR2140 PINE BROOK, NJ) y se secó en un horno Melmet (Germany) por 24 h, por diferencia de peso se calculó el % de solubilidad, la prueba se hizo a 30, 50 y 70ºC.

**3.4.3.3 Determinación del pH (IAL, 1985):** se prepararon soluciones al 10% (p/V) con agua destilada, se agitaron por 30 minutos, dejándose en reposo por 10 min, luego el liquido sobrenadante se decantó en beakers de 30mL y se midió inmediatamente el pH con pHmetro WTH 315i/SET (Weilhein, Germany) y bulbo WTW pH Electrode SenTix 41.

**3.4.3.4 Conductividad Eléctrica (IAL, 1985):** al sobrenadante de la solución preparada para determinar el pH, se le midió la conductividad eléctrica a la temperatura de laboratorio (27ºC), usando un conductímetro multiparametro WTW Multi 340i y un bulbo WTW Tetracon® 325.

**3.4.3.5 Resistencia a la Congelación y Enfriamiento:** 200mL de gel (4% p/p) fueron preparados por disolución de almidón en agua destilada y calentamiento por 15 min, acompañado por agitación. Los geles se enfriaron a temperatura ambiente, luego 10mL de gel fueron empacados en bolsa y congelados a -20ºC, el

resto de la muestra se refrigeraron a 4ºC por un periodo de 8 semanas. Cada semana, una porción de cada grupo almacenado fue retirado, la muestra refrigerada a 4ºC fue enfriada a temperatura ambiente por 60 min mientras que la muestra congelada a -20ºC fue descongelada en baño de maría a 50ºC durante 90 min. Las muestras se centrifugaron a 2660 gravedades por 30 min en una centrifugadora (centrifugadora VEB MLW T5). Se midió el volumen de líquido sobrenadante (Amani, 2002). La sinéresis fue determinada como el porcentaje de la ración de masa separada del liquido en la porción de gel inicial (Schoch, 1968).

**3.4.3.6 Resistencia a la Esterilización:** En frascos de vidrios resistentes a la esterilización se introducen 50 gramos de gel al 4% de materia seca, Se midió la viscosidad utilizando un viscosímetro de caída de bola Tipo B3, luego se sometieron a un proceso de esterilización por 2 h a 121ºC en una olla autoclave de 25lbs (All American # 1192 JK). Las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y se les volvió a medir la viscosidad, ambas viscosidades fueron comparadas (Dufour y Hurtado, 1999).

**3.4.3.7 Estabilidad y Claridad de las Pastas:** se determinó por el método de Stuart (1989). A temperatura ambiente y a 4ºC se suspenden 0.4g de almidón en 10mL de agua destilada utilizando tubos de ensayo con tapa, los cuales se colocaron en agua a ebullición por 30 min, los tubos se agitaron vigorosamente cada 5 min, luego se enfriaron a temperatura ambiente y se determinó el porcentaje de transmitancia (%T) a 650nm en un espectrofotómetro Merck SQ118 (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) utilizando agua como testigo, tres de las muestras se almacenaron a temperatura ambiente y 4ºC midiéndoles la transmitancia a las 24, 48 y 72 h.

**3.4.3.8 Acidez Titulable (IAL, 1985):** se pesaron 10g de muestra y se pasaron a un beakers de 200mL, se le adicionaron 20mL de agua destilada, agitándose

hasta formar una pasta fina, se agregaron 80mL mas de agua y adicionaron 4 gotas de solución alcohólica de fenoltaleina, luego se procedió a titular con NaOH 0.1N.

Acidez normal en mL / 100g de muestra= V.F.100/P

V= Cantidad de NaOH gastado en la titulación

F= Normalidad de la solución

P = peso en gramos de la muestra

**3.4.3.9 Índice de Hinchamiento:** según método de Ukpabi y Ndimeli (1990); 3g de almidón se transfieren a una probeta de 10mL y se midió su volumen, se adicionó agua destilada hasta completar un volumen de 9mL, se homogenizó y se dejó reposar durante 10 min y se anotó su volumen, luego se midió el volumen cada 10 min hasta notar que éste no varío.

**3.4.3.10 Determinación del Punto de Gelatinización:** según método descrito por Narayana y Narasinga-Rao (1982); 10g de almidón se dispersaron en un beakers de 100mL y se prepararon 100mL de suspensión, fueron calentados en un agitador calentador magnético (VEB MLW PRUFGERATE-WERT) y un termómetro fue introducido en la suspensión, el calentamiento es continuado hasta que la solución comienza a formar gel, y esta temperatura fue tomada.

**3.4.3.11 Microscopía del Proceso de Gelatinización:** método de Flint (1996). En beakers de 30mL se prepararon 15g de suspensión de almidón al 10% p/V y en un agitador calentador magnético (VEB MLW PRUFGERATE-WERT) se agitaron a velocidad constante y se calentaron a una velocidad promedio de 3$^{o}$C/min hasta 84$^{o}$C, tomando con un asa muestras de la suspensión a las temperaturas de 30, 50, 65, 72, 78 y 84ºC. Las muestras se esparcieron en portaobjetos y se tiñeron con solución diluida de Iodo-Ioduro de potasio (Lugol). Luego se llevaron a un

microscopio trinoocular OLYMPUS (CH3ORF100) utilizando el objetivo 40x, las placas fueron fotografiadas con una cámara digital Canon Power Show A410.

**3.4.3.12 Densidad Verdadera (DT), Densidad Promedio (DB) y Porosidad**: según método descrito por Samejima, Irate y Koida (1982), método de desplazamiento de volumen. Una porción de muestra ($W_2$) se adiciona a un cilindro volumétrico previamente pesado ($W_1$) y el volumen se lee como $V_1$, después el mismo volumen $V_1$ fluido de desplazamiento (alcohol isobutílico ,ácido ftálico dietil ester =1:1) es adicionado al cilindro, se toma el volumen total de la muestra mas el solvente en el cilindro como $V_2$. DT, DB y la porosidad se calculan como:

$$DT = \frac{W_2 - W_1}{V_2 - V_1} \qquad DB = \frac{W_2 - W_1}{V_1} \qquad \text{Porosidad} = 1 - \frac{DB}{DT}$$

**3.4.3.13 Comportamiento de la Pasta en Frío y Caliente (viscoamilograma):** a suspensiones con 8% de almidón en un viscoamilógrafo Brabender se les mide de manera continua la viscosidad durante su cocción y enfriamiento. La suspensión de almidón se calienta agitando a velocidad constante (350 rpm) y es calentada rápidamente hasta 50°C y luego a una velocidad de calentamiento de 6°C/min se lleva a 90°C, y se miden mantenidas a esta temperatura por 20 min. Luego se enfría hasta 50°C a una velocidad de 6°C/min. Por último se mantiene a 50°C por 20 min. A partir de los datos de viscosidad y tiempo se realiza una curva para observar el comportamiento de la suspensión (Wurzburg, 1986).

### 3.4.4 Evaluación de Pegantes

Para la elaboración de los adhesivos a partir de los almidones modificados, en beakers de 250mL se prepararon suspensiones de almidón 50% p/V, las cuales se sometieron a calentamiento en un baño termostatado (Termostato de circulación tipo V15c) y mediante agitación se llevaron a una temperatura que oscilaba entre

3-5°C por debajo de la temperatura de gelatinización (reportadas en esta investigación) durante 10 min hasta obtener una pasta con viscosidad deseada.

#### 3.4.4.1 Evaluación del Adhesivo

A los adhesivos se les evaluó:

- Resistencia de unión adhesiva (Prueba Extensible y Cizalla).
- Rotulado de botellas y prueba de sellado.

Los adherentes utilizados fueron: madera, papel blanco, papel Kraff, vidrio transparente liso. Las uniones entre substratos se realizaron así: madera-madera, papel-papel, papel-vidrio.

##### 3.4.4.1.1 Resistencia de la Unión Adhesiva

Para evaluar si los almidones modificados de *D. trifida* pueden ser empleados como adhesivos, se realizaron dos pruebas: la extensible y la de cizalla.

**3.4.4.1.2 Prueba Extensible:** el sistema de prueba (Fig. 8a) consiste de dos bloques de maderas de 3"x3"x1", uno fijo en la parte inferior y el otro se encuentra conectado a un sistema de separación que consiste de un dinamómetro de 100N, dos poleas y una masa de 3.0Kg (29.4N), los cuales brindan la fuerza necesaria para vencer la unión adhesiva. Ambos bloques se recubren con una película delgada del pegamento y se dejan secar por 1 min (Fig. 8d), luego se unen los bloques colocándoles una masa de 0,484g (4,74 N) durante 1 min (Fig. 8e). Pasado este tiempo se retira la pesa y se dejan por 3 min (Fig. 8c) para finalmente proceder a la separación de los bloques (Fig. 8b); una vez listo el sistema, se toma el tiempo que tarda en separarse los bloques como lo muestra la figura 8a. Las poleas se utilizan para reducir al mínimo el esfuerzo de torsión requerido por la masa colgante.

**Figura 8.** Sistema de prueba expansible para la evaluación de pegantes: a) Montaje general; b y c) Fase de secado y separación de los bloques; d) Bloque recubierto con pegamento; e) Bloques unidos y presionados.

**3.4.4.1.3 Prueba de Cizalla:** el sistema de prueba conocido como cizalla (Fig. 9) consiste de dos bloques de maderas de 3"x 3"x1", uno se mantiene fijo y el otro se encuentra conectado horizontalmente a un sistema de separación que consiste de un dinamómetro de 30N (Fig. 9a), una polea y una masa de 1.0Kg (9,8 N) (Fig. 9b), los cuales ofrecen la fuerza necesaria para vencer la unión adhesiva.

**Figura 9.** Sistema para prueba cizalla para la evaluación de pegantes: a) Montaje general; b) Polea y masa del montaje; c) Bloque recubierto con pegamento; d) Bloques unidos y presionados; e) Fase de separación.

La mitad del área de la base de ambos bloques se recubre con una película delgada del pegamento y se dejan secar por 1 min (Fig. 9c), luego se unen los bloques de modo que la mitad del bloque esté sobre la mitad del otro bloque colocándoles una masa de 0,484g (4,74 N) por tiempo de un 1 min (Fig. 9d), pasado este tiempo se retira la pesa y se dejan por 3 min (Fig. 9e) y finalmente se procede a la separación de los bloques al igual que el método anterior (Fig. 9a).

**3.4.4.1.4 Rotulado de Botellas y Sellos de Papel:** Para determinar si los adhesivos a base de almidón modificado de *D. trifida* son útiles para el rotulado de botellas, se procedió de la siguiente forma: Una vez preparado el adhesivo, con una brocha se esparció una capa delgada sobre el papel y se dejó secar durante 1 min, luego fue adherido a la botella por 5 min y se procedió a retirarlo.

En cuanto a la evaluación para sellos de sobres de papel, una vez esparcido el adhesivo sobre una tira de papel Kraft, se dejó secar por 10 minu, luego se humedeció y se colocó sobre un papel seco, después de un tiempo se procedió a retirarlo.

## 3.5 TOMA DE MUESTRA

Para cada análisis se realizaran tres repeticiones por cada una de las muestras de almidón modificado de ñame, obtenido a partir de la especie *Dioscorea trifida.*

## 3.6 PROCESAMIENTO DE DATOS

Para analizar los resultados obtenidos se empleo la Estadística Descriptiva y mediante un análisis de varianza, prueba de comparaciones múltiples se determinó el grado de variación en los resultados de las repeticiones de los ensayos en las variedades seleccionadas y posteriormente se comparará el grado de desviación en los resultados de las variedades entre sí, para así verificar la hipótesis planteada. Utilizamos el Software Statgraphic Plus versión 5.1.

# 4 RESULTADOS Y DISCUSIONES

## 4.1 OBTENCIÓN DE ALMIDÓN

Se obtuvieron 10,2Kg de almidón a partir de 52Kg de Ñampín para un rendimiento del 19,6%, el cual fue mayor que el reportado para ñame criollo (*D. alata*) 5,3%, ñame espino (*D. rotundata*) 16,6%, pero menor que el de la yuca (*Manihot esculenta*) 22,6% (Alarcon y Dufour, 1997), lo cual significa que el Ñampín es una opción para tener en cuenta en la producción de almidones, lo cual ayudaría a compensar un poco la demanda de almidón que se presenta en Colombia.

## 4.2 EVALUACIÓN DEL PROCESO DE DEXTRINIZACIÓN DEL ALMIDÓN DE ÑAME CON α-AMILASA (TERMAMYL® 120 L, TIPO L).

Los almidones de *Dioscorea trifida* fueron modificados, teniéndose en cuenta los parámetros de: Temperatura de reacción (50, 72, y 93ºC), Concentración de almidón (30, 40 y 50% p/V) y Tiempo de reacción (20, 40 y 60 min), manteniéndose una serie de combinaciones entre ellas, arrojando resultados de equivalentes de dextrosa (ED) los cuales son mostrados en la gráfica 2.

Para las modificaciones de los almidones de *D. trifida* a $T°_{Rx}$= 50ºC se encontraron porcentajes de ED próximos al 1% (Gráfica 2a, 2b y 2c); para los almidones modificados de *D. trifida* a $T°_{Rx}$= 72ºC se obtuvieron porcentajes de ED entre 2 y 5% (Gráficas 2a, 2b y 2c); mientras que para los almidones modificados de *D. trifida* a $T°_{Rx}$= 93ºC se alcanzaron ED entre 22 y 51%, los cuales son mayores a los ED mostrados en almidones modificados de yuca a temperaturas de reacción entre 80 y 90ºC y tiempos de reacción de 2 h (ED = 30%) (Figueroa y Sánchez, 2004) y (ED = 50%) (Díaz, 2000), lo que muestra las ventajas que ofrecen los almidones de *D. trifida* en las modificaciones vía enzimática. De esto se puede

decir que el grado de dextrinización del almidón de *D. trifida* modificado a 50ºC fue muy bajo, aumento considerablemente para el almidón modificado a 72ºC, y con alto grado de conversión para los almidones modificados a 93ºC, lo cual muestra a la temperatura de reacción como el factor que mas influye sobre la modificación enzimática en el almidón de *D. trifida* (Gráfica 2d). Mientras que los almidones modificados a 72ºC presentaron un grado de modificación mayor a los modificados a 50ºC (Gráficas 2a, 2b y 2c), lo que confirma que a medida que se acercar más la temperatura de reacción a la óptima para la enzima, el grado de modificación aumentará. Por otro lado, el tiempo de reacción es otro factor importante en el proceso de dextrinización del almidón de *D. trifida* (Gráfica 2d).

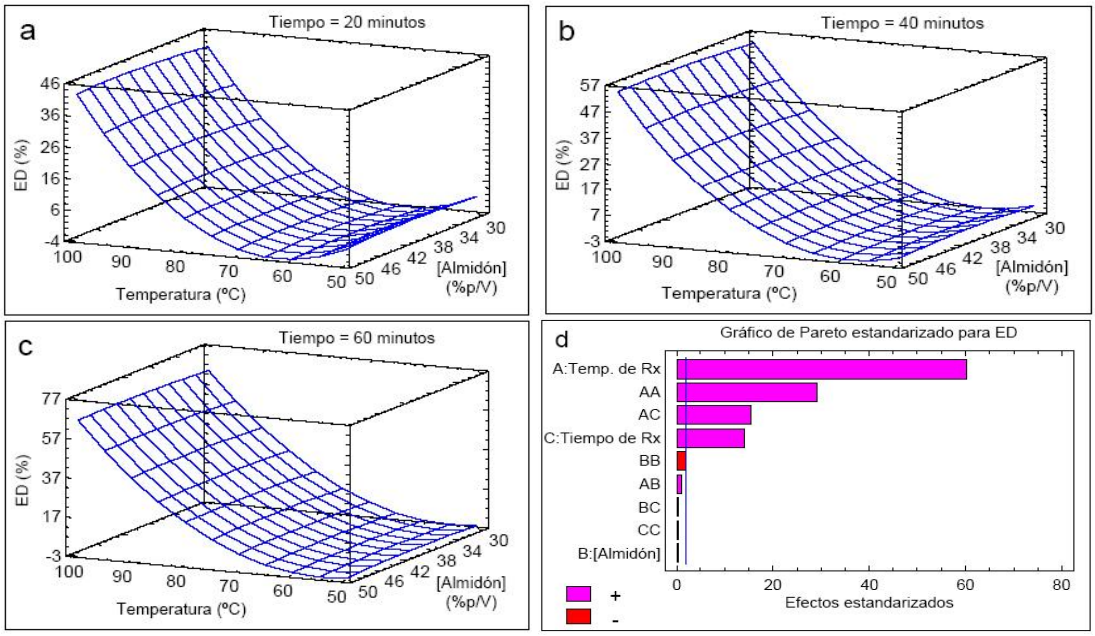



**Gráfico 2.** Porcentaje de Equivalente de Dextrosa (ED) para los almidones modificados de *D. trifida* a tiempos de reacción: a) a 20 min; b) a 40 min; c) a 60 min; y d) efectos de las variables.

Los datos de equivalentes de dextrosa (ED) se analizaron en un diseño experimental, el cual produjo la siguiente ecuación de regresión, la cual es una relación empírica entre los valores de ED producidos y las variables de la prueba en la unidad codificada.

$$ED = 128,416 - 4,44161X + 0,670199Y - 0,680779Z + 0,0328343X^2 + 0,00153798XY + 0,0132193XZ - 0,00936444Y^2 - 0,000632917YZ - 0,00035625Z^2$$

Donde; ED= equivalente de dextrosa; X= temperatura de reacción; Y= concentración de almidón y Z= tiempo de reacción

Los resultados del segundo orden del modelo de superficie de respuesta en la forma de análisis de varianza (ANOVA) para equivalentes de dextrosa se observa en el Anexo 1. La virtud de ajuste del modelo fue verificado por la determinación del coeficiente de regresión ($R^2$). En este caso, el valor del coeficiente de regresión ($R^2$= 98,608) indica que solamente el 1,392% del total de las variaciones no son explicadas por el modelo con un 95% de confiabilidad.

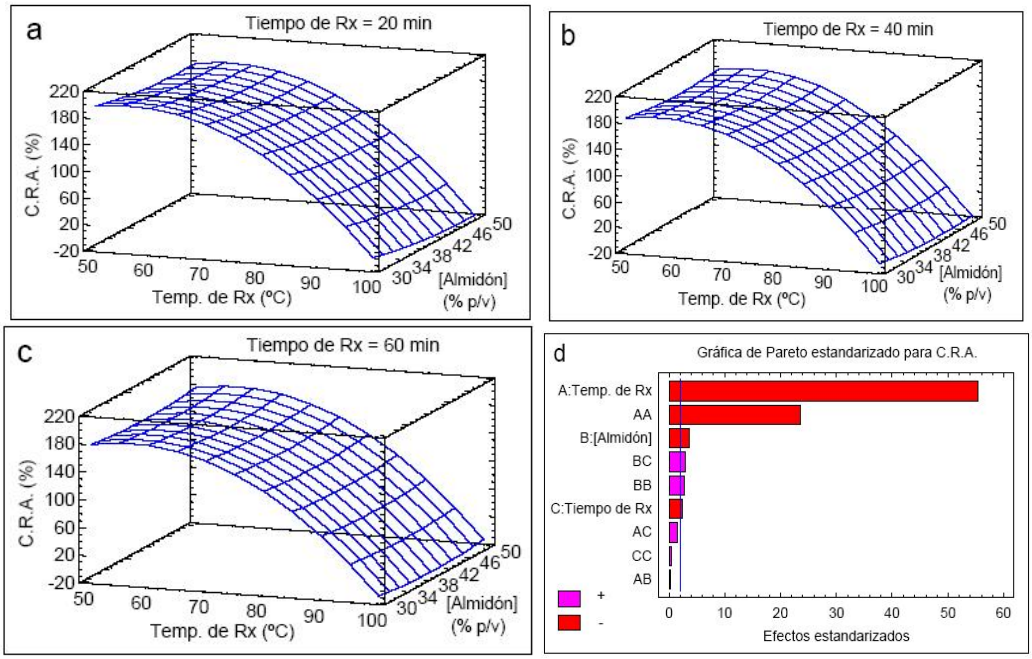
## 4.3 EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL ALMIDÓN DE ÑAME *D. trifida* MODIFICADO

Los resultados de las propiedades funcionales evaluadas para los almidones de *D. trifida* modificados a 50, 72 y 93ºC, se analizaron teniendo en cuenta su variabilidad con respecto a la temperatura de reacción, concentración de almidón y tiempo de reacción.

### 4.3.1 Capacidad de Retención de Agua (C.R.A)

Los valores obtenidos en las mediciones de capacidades de retención de agua (CRA) de los almidones de *D. trifida* se ilustran en la gráfica 3, donde se muestra que los almidones modificados a 50ºC presentaron una CRA máxima de 196% (30% [Almidón], 20min Tiempo de reacción) (Gráfica 3a), los almidones de *D. trifida* modificados a 72ºC mostraron una máxima CRA de 175% (30%, 20min) (Gráfica 3a), mientras que los almidones modificados a 93ºC presentaron una CRA máxima de 58% (30%, 20min) (Gráfica 3c). Los almidones modificados de

*D. trifida* presentaron CRA menores en comparación al almidón nativo (CRA=186%) (Espitia, Gómez y Salcedo, 2004), a excepción de los almidones modificados a 50ºC. Lo anterior muestra que la temperatura de reacción influye de manera negativa en la CRA de los almidones modificados de *D. trifida* (Gráfica 3d), este comportamiento se debe al aumento de los gránulos fragmentados producto de la acción enzimática, lo que permite que disminuya su CRA. En cuanto al tiempo de reacción y la concentración de almidón influyen muy poco en la perdida de la CRA (Gráfica 3d), ya que cuando se variaron estos factores los valores de CRA no tuvieron un cambio significativo (Gráficas 3a, 3b y 3c).




**Grafica 3.** Capacidades de retención de agua (CRA) para los almidones de *D. trifida* a tiempos de reacción a) a 20 min; b) a 40 min; c) a 60 min; y d) efectos de las variables.

Todos los datos de la CRA se analizaron en un diseño experimental, el cual los ajusta en la siguiente ecuación de regresión, la cual es una relación empírica entre los valores de la CRA obtenidos y las variables de la prueba en la unidad codificada.

$$CRA = -0,534136 + 11,9552X - 5,7961Y - 1,50097Z - 0,1064X^2 - 0,00107235Y + 0,00474806XZ + 0,0572222Y^2 + 0,0214861YZ + 0,00202778Z^2$$

Donde CRA= Capacidad de retención de agua; X= temperatura de reacción; Y= concentración de almidón y Z = tiempo de reacción.

El análisis de varianza para la CRA se observa en el Anexo 2. El cual indica que el diseño experimental utilizado en esta investigación tiene una gran confiabilidad, debido a que el ajuste del modelo fue verificado por la determinación del coeficiente de regresión ($R^2$= 98,1397) lo que indica que el método explica el 98,13% de la variabilidad de la CRA con una confiabilidad del 95%.

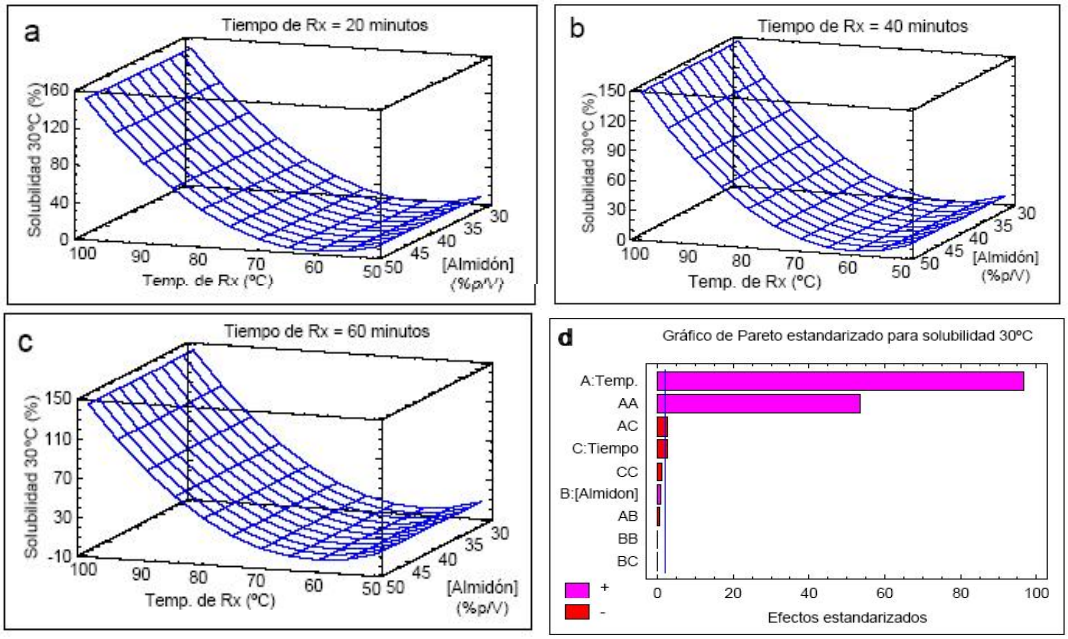
### 4.3.2 Solubilidad en Agua Fría y Caliente

En las gráficas 4, 5 y 6 se muestran las solubilidades en agua fría y caliente a las temperaturas de 30, 50 y 70°C, para los almidones modificados a 50, 72 y 93ºC.

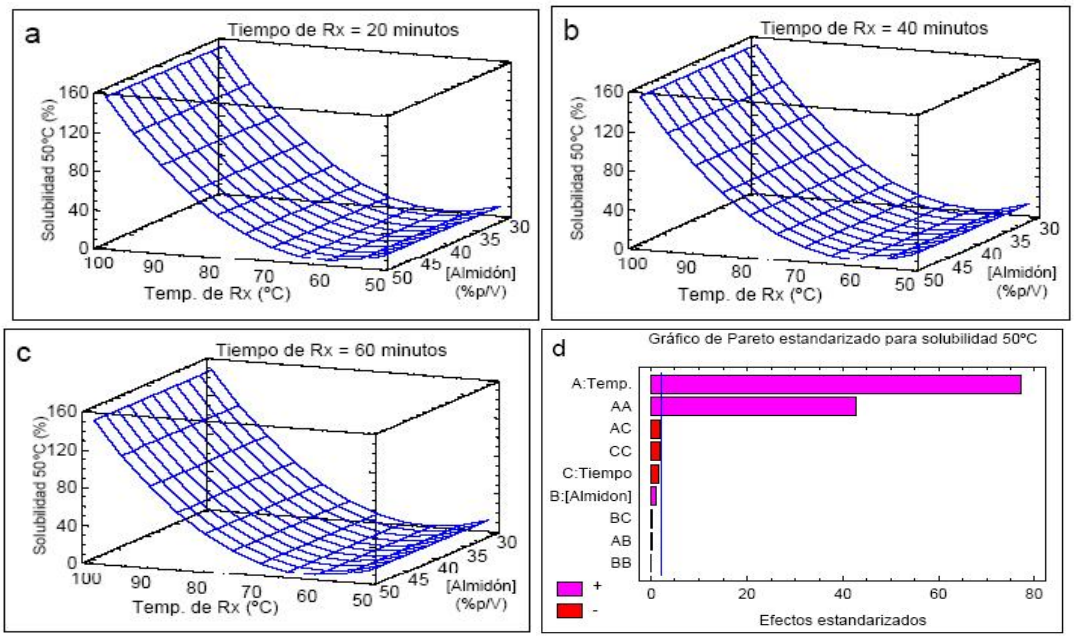
A 30ºC de temperatura los valores de solubilidad para los almidones de *D. trifida* modificados a $T^o_{Rx}$= 50ºC presentaron valores entre 9–12%, de 12–16% para los almidones modificados a 72ºC, y de 97–100% para los almidones modificados a 93ºC (Gráficas 4a, b y c), a excepción de los almidones modificados a 50ºC, se obtuvieron solubilidades por encima a la reportada para el nativo (Sol = 14,43%) (Espitia, Gómez y Salcedo, 2004.).

Para 50ºC de temperatura la solubilidad tuvo valores entre 12-16% para los almidones modificados a $T^o_{Rx}$= 50ºC (Gráficas 5a, b y c). Los almidones modificados a $T^o_{Rx}$= 72ºC presentaron solubilidades entre 16-19% (Gráficas 5a, b y c) y se obtuvieron solubilidades entre 102-107% para los almidones modificados a $T^o_{Rx}$= 93ºC (Graficas 5a, b y c), las cuales son mayores a los porcentajes de

solubilidad reportados para el almidón nativo de *D. trifida* (Sol.= 14,5%) (Espitia, Gómez y Salcedo, 2004.)..

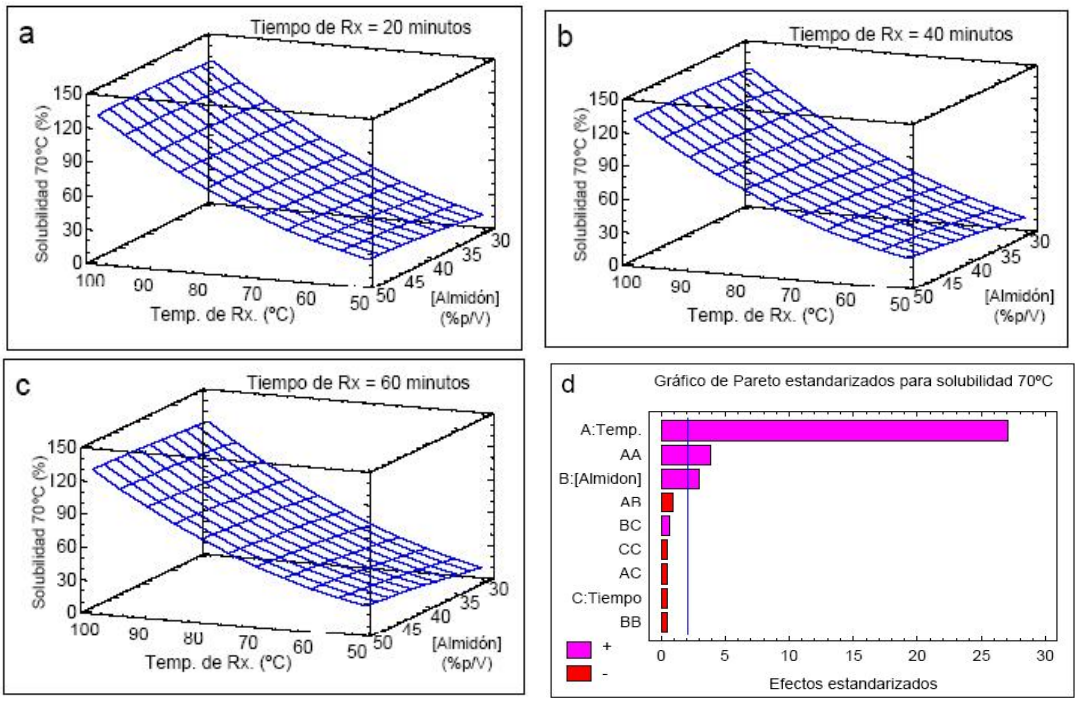



**Gráfica 4.** Solubilidad a 30ºC de los almidones modificados de *D.trifida* a un tiempo de reacción determinado: a) a 20 min; b) a 40 min; c) a 60 min; y d) efectos de las variables.




**Gráfica 5.** Solubilidad a 50ºC de los almidones modificados de *D.trifida* a tiempo de reacción determinado: a) a 20 min; b) a 40 min; c) a 60 min; y d) efectos de las variables.

En cuanto a la solubilidad determinada a 70ºC, se presentaron valores entre 11-27% para los almidones modificados a $T°_{Rx}$= 50ºC, de 45-60% para los almidones modificados a $T°_{Rx}$= 72ºC y de 98–100% para los almidones modificados a $T°_{Rx}$= 93ºC (Gráficas 6a, b y c), los cuales son valores de solubilidad mayores que el reportado para el almidón nativo de *D. trifida* (Sol.= 14,67) (Espitia, Gómez y Salcedo, 2004.).




**Gráfica 6.** Solubilidades a 70ºC de los almidones modificados de *D.trifida* a un tiempo de reacción determinado: a) a 20 min; b) a 40 min; c) a 60 min; y d) efectos de las variables.

Lo anterior también muestra a la temperatura de reacción como el factor que mas influye de manera directa sobre la solubilidad, por ende los almidones modificados a $T°_{Rx}$= 93ºC al tener mayor grado de modificación presentan mayor solubilidad (Gráficas 4d, 5d y 6d). La concentración de almidón y el tiempo de reacción parecen no influir en la solubilidad de los almidones modificados de *D. trifida.* (Gráficas 4d, 5d y 6d).

En general todas las muestras presentan un aumento en los valores de solubilidad con el aumento de la temperatura, con dicho aumento de temperatura el gránulo absorbe agua y se produce una pérdida progresiva de su birrefringencia y cristalinidad, lo que conlleva a que éste gelatinice, resultando en la ruptura del orden molecular dentro de él y la solubilización de las moléculas de amilosa (Smith, 2005).

Los datos de Solubilidad fueron analizados en un diseño experimental el cual los ajustó en el siguiente modelo de ecuación de regresión, la cual es una relación empírica entre los valores de solubilidad obtenidos y las variables de la prueba en la unidad codificada.

$$Sol.\ 30ºC = 320,451 - 10,9414X + 0,133072Y + 0,361001Z + 0,092456X^2 - 0,00156589XY - 0,00332558XZ + 0,000244444Y^2 - 0,0000666667YZ - 0,00220556Z^2.$$

$$Sol.\ 50ºC = 331,487 - 11,2756X + 0,0996951Y + 0,521627Z + 0,0946097X^2 - 0,000496124XY - 0,00290698XZ + 0,000266667Y^2 - 0,00075YZ - 0,00406667Z^2$$

$$Sol.\ 70ºC = -35,5904 - 0,848173X + 1,8009Y + 0,156946Z + 0,0230275X^2 - 0,00858915XY - 0,00199225XZ - 0,0120222Y^2 + 0,00595833YZ - 0,00359722Z^2$$

Donde Sol.= solubilidad; X= temperatura de reacción; Y= concentración de almidón y Z= tiempo de reacción.

El análisis de varianza para la solubilidad a 30, 50 y 70ºC se observan en el Anexo 3 el cual indica que el diseño experimental utilizado en esta investigación tiene una gran confiabilidad, debido a que los datos de la solubilidad ajustados en las ecuaciones matemáticas muestran para la solubilidad a 30ºC un $R^2$= 99,8604, a 50ºC un $R^2$= 99,7818 y a 70ºC un $R^2$= 97,7954 indicando que el método

ajustado explica el 99,86%, 99,78% y 97,79% de la variabilidad de la solubilidad con un 95% de confiabilidad.

### 4.3.2 pH

El perfil del pH de los almidones modificados de *D. trifida* se ilustra en la gráfica 7.

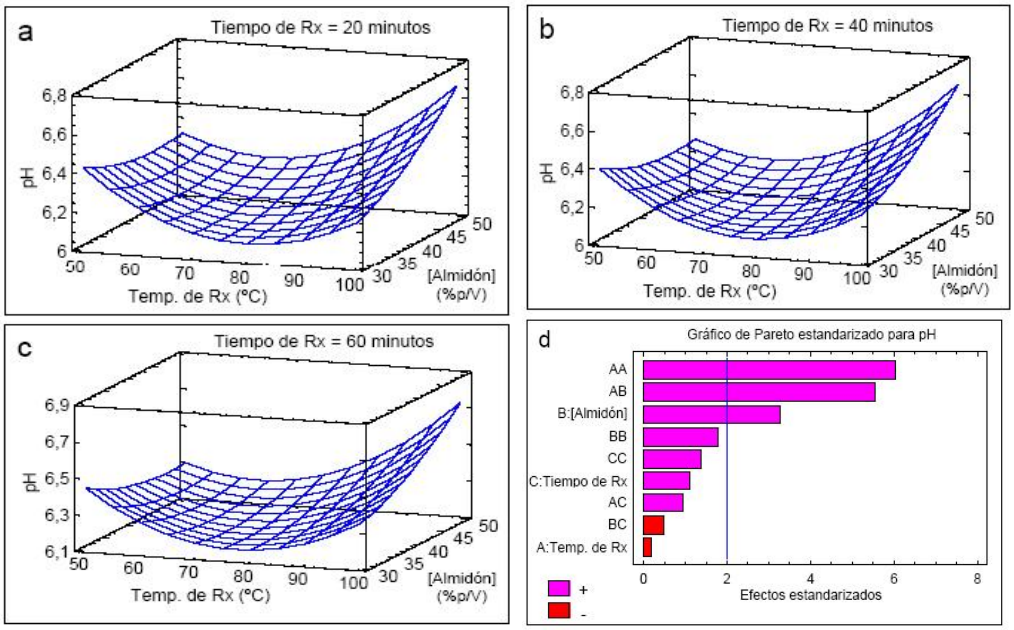



**Gráfico 7.** pH de los almidones modificados de D. trifida a un tiempo de reacción determinado: a) a 20 min; b) a 40 min; c) a 60 min; y d) efectos de las variables.

Los almidones de *D. trifida* modificados a $T°_{Rx}$= 50ºC presentaron valores entre 6,4 y 6,6 (Gráfica 7a); los almidones modificados a $T°_{Rx}$= 72ºC (Gráfica 7b) presentaron pH entre 6,1 y 6,2; mientras que para los almidones de *D. trifida* modificados a $T°_{Rx}$= 93ºC (Gráfica 7c), se les encontraron valores de pH entre 6,1 y 6,6, los cuales se encuentran por debajo del pH del almidón nativo (pH=7,80) (Espitia, Gómez y Salcedo, 2004) y por encima del almidón de yuca (pH=4,896) (Cepeda y Durango, 1999). Lo anterior muestra que existen pocas diferencias significativas entre los valores de pH obtenidos, y las diferencias dadas se presentan al aumentar la concentración de almidón (Gráficas 7a, b y c), parece ser

que la temperatura de reacción y el tiempo de reacción influyen poco en los cambios de pH, mientras que la concentración de almidón es el factor que mas favorece a las variaciones de pH como lo ilustra la gráfica 7d.

Por otra parte, el pH de las soluciones de almidón se debió bajar de 7,8 hasta 6,5 debido a que la enzima utilizada en el proceso de dextrinización tiene mayor actividad a dicho pH (Novozymes A/S, 2002), lo cual también influye directamente con los cambios de pH con respecto al almidón nativo.

De acuerdo a los valores de pH presentados en los almidones modificados, se puede decir que están próximos a pH neutro, lo que favorece su aplicabilidad debido a que la mayoría de organismos patógenos crecen a pH extremos. El valor del pH afecta además diversas propiedades físicas de algunos alimentos, por ejemplo, la textura y la estabilidad de los geles de almidón.

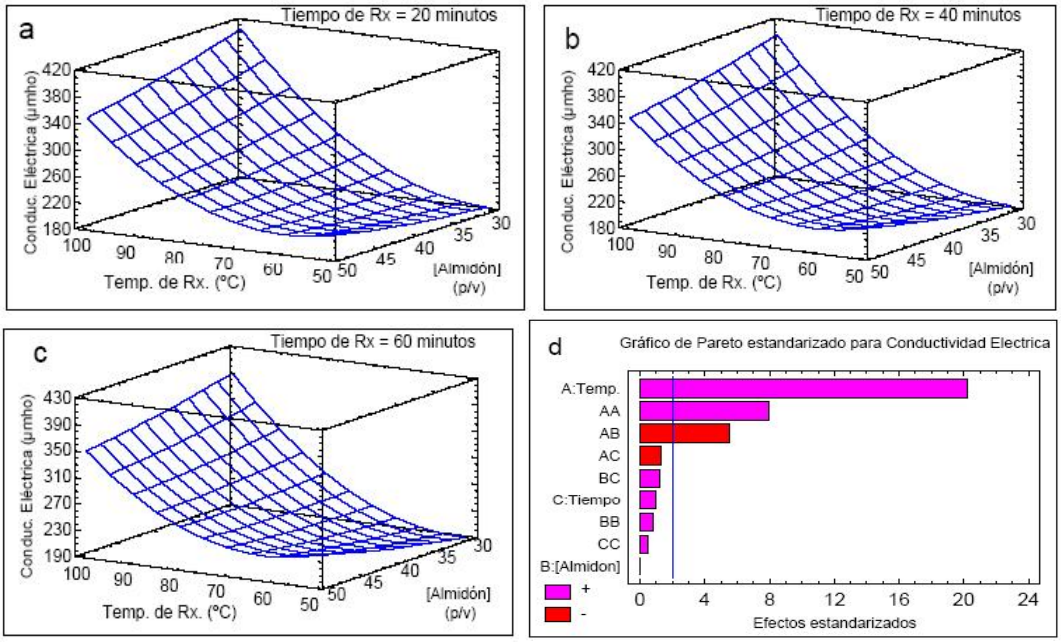
El análisis de varianza del pH se observa en el Anexo 4. El cual indica que no existen diferencias significativas ($p>0,05$).

### 4.3.4 Conductividad Eléctrica

La gráfica 8 muestra el comportamiento de la conductividad eléctrica de los almidones *D. trifida* modificados a $T^{o}_{Rx}$= 50ºC (Gráficas 8a, b y c), donde se reportan valores entre 180 y 240 µmho; para los almidones de *D. trifida* modificados a $T^{o}_{Rx}$= 72ºC, se encontraron valores entre 220 y 240 µmho (Gráficas 8a, b y c), mientras que para los almidones modificados a $T^{o}_{Rx}$= 93ºC, se reportaron valores entre 300 y 350 µmho (Gráficas 8a, b y c), los cuales son menores que los reportados para el almidón nativo (1730 µmho, Espitia, Gómez y salcedo, 2004).

Estos valores de conductividad se correlacionan con los valores de pH obtenidos donde el cambio de pH básico del almidón nativo hasta un pH ácido de los almidones modificados es el principal factor que interviene en la conductividad, ya que un pH bajo supone una mayor concentración de hidrogeniones ($H^+$) y por tanto una mayor conductividad eléctrica (Gordon, 1990).

Por otra parte la temperatura de reacción es el factor que mas influye de manera directa en la conductividad eléctrica (Gráficas 8a, b y c), mientras que la concentración de almidón y el tiempo de reacción influyen muy poco en la conductividad de los almidones modificados de *D. trifida* (Gráfica 8d).




**Gráfica 8.** Conductividades eléctricas de los almidones modificados de *D.trifida* a un tiempo de reacción determinado: a) a 20 min; b) a 40 min; c) a 60 min; y d) efectos de las variables.

Todos los datos de Conductividades eléctricas se analizaron en un diseño experimental, el cual ha producido la siguiente ecuación de regresión, la cual es una relación empírica entre los valores de Conductividades eléctricas obtenidos y las variables de la prueba en la unidad codificada.

$$Cond.\ Eléc = 269,53 - 5,51878X + 2,70702Y - 0,330469Z + 0,0862128X^2 - 0,0912145XY - 0,0105943XZ + 0,0374074Y^2 + 0,0205556YZ + 0,0050463Z^2$$

Donde Cond. Eléc= Conductividad eléctrica; X= temperatura de reacción; Y= concentración de almidón y Z = tiempo de reacción.

El análisis de varianza de conductividad eléctrica se observa en el Anexo 5. El cual indica que el diseño experimental utilizado en esta investigación tiene gran confiabilidad, debido a que los datos de conductividad eléctrica ajustados en la ecuación matemática muestran un $R^2$= 88,0264, lo que indica que el método ajustado explica el 88,0264% de la variabilidad de la conductividad con una confiabilidad del 95%.

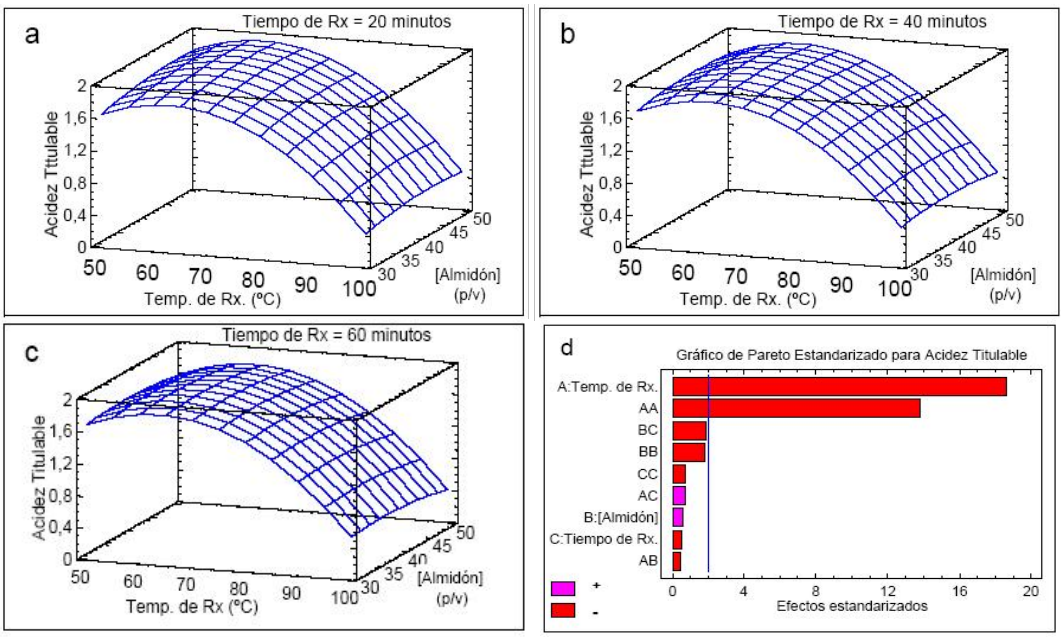
### 4.3.5 Acidez Titulable.

Los valores de acidez de los almidones modificados de *D. trifida* se ilustran en la gráfica 9.

Contrario a lo reportado para el almidón nativo de *D. trifida* (A.T= 0.0633) (Espitia, Gómez y Salcedo, 2004), la acidez de los almidones modificados *D. trifida* tuvieron valores por encima al del nativo. Para 50ºC (Gráficas 9a, b y c) presentaron valores de acidez entre 1,60 y 1,90m-eq de ácido láctico; los almidones modificados a 72ºC (Gráficas 9a, b y c), presentaron acidez entre 1,70 y 1,90m-eq de ácido láctico; mientras que para los almidones modificados a 93ºC (Gráficas 9a, b y c), los valores de acidez reportados estuvieron entre 0,80 y 1,1m-eq de ácido láctico.

Estos resultados se correlacionan con los valores de pH obtenidos para el almidón modificado *D. trifida*, ya que estos reportaron pH mas ácidos en

comparación al almidón nativo, presentando, por ende mayores valores de acidez. Además le temperatura de reacción es el factor que mas favorece de manera inversa en los resultados de acidez titulable para los almidones modificados *D. trifida* como lo muestra la gráfica 9d, mientras que la concentración de almidón y el tiempo de reacción parecen no influir en los resultados de acidez titulable (Gráficas 9a, b y c).




**Gráfica 9.** Acidez tilulable de los almidones modificados de *D.trifida* a un tiempo de reacción determinado: a) a 20 min; b) a 40 min; c) a 60 min; y d) efectos de las variables.

Todos los datos de acidez titulable se analizaron en un diseño experimental, el cual los ajusto en la siguiente ecuación de regresión, que es una relación empírica entre los valores de la acidez titulable obtenidos y las variables de la prueba en la unidad codificada.

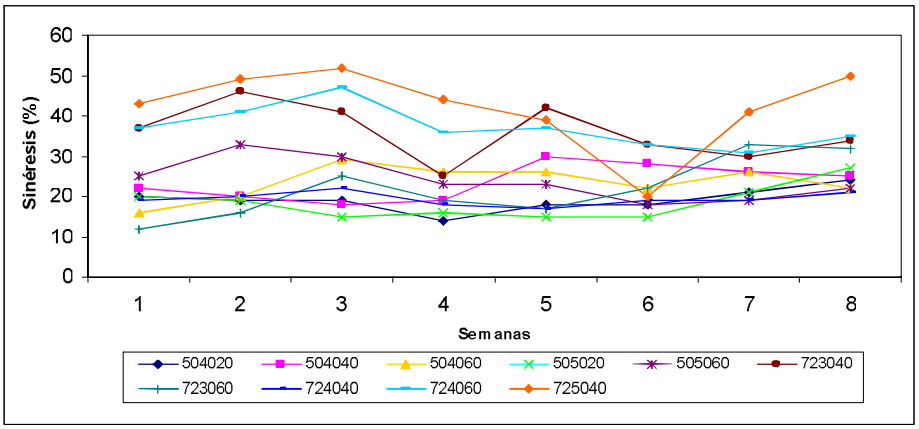
$$Aci.\ Titul = -3{,}61665 + 0{,}129547X + 0{,}0622145Y + 0{,}0104141Z - 0{,}00102398X^2 - 0{,}0000465116XY + 0{,}0000400517XZ - 0{,}000611111Y^2 - 0{,}000222222YZ - 0{,}0000611111Z^2$$

Donde Aci. Titul = Acidez titulable; X= temperatura de reacción; Y= Concentración de almidón y Z= Tiempo de reacción.

El análisis de varianza para la acidez titulable se observa en el Anexo 6. El cual indica que el diseño experimental utilizado en esta investigación tiene una gran confiabilidad, debido a que el ajuste del modelo fue verificado por la determinación del coeficiente de regresión ($R^2$= 88,7784), lo que indica que el método explica el 88,7784% de la variabilidad de la acidez titulable con un 95% de confiabilidad.

### 4.3.6 Resistencia a la Congelación y Enfriamiento

La gráfica 10 representa la evolución en el comportamiento de la sinéresis de los almidones modificados de *D. trifida* que presentaron sinéresis diferentes de cero durante el almacenamiento a 4ºC.

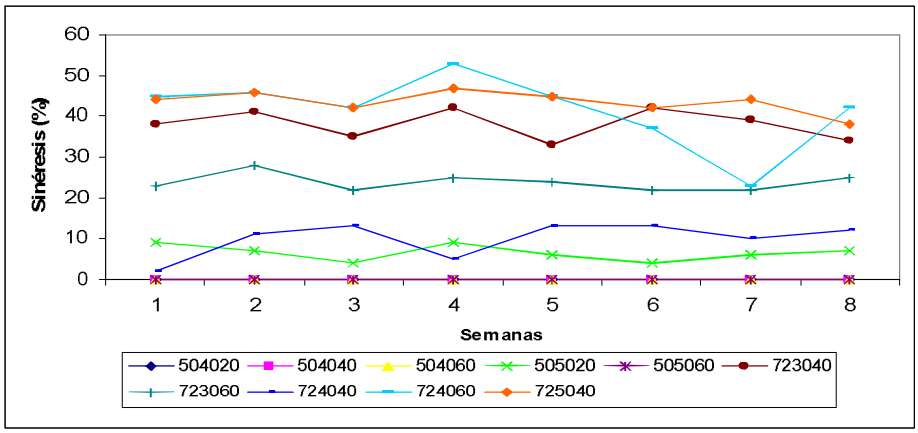



**Gráfica 10.** Evolución de la sinéresis de los almidones durante el enfriamiento a 4ºC

La variación de los porcentajes de sinéresis de estos almidones durante el periodo de almacenamiento es muy baja, ya que las sinéresis tanto al inicio (primera semana) como al final (octava semana) del experimento tienen porcentajes muy similares con la excepción de las muestras 723040 y 725040 las cuales

presentaron un comportamiento distinto con cambios bruscos en el porcentaje de sinéresis durante el proceso.

Con respecto al almacenamiento a -20ºC (Gráfica 11), los geles de almidón presentaron un comportamiento similar con relación a los geles de almidones almacenados a 4ºC, exceptuando las muestras 504020, 504040 y 504060 que presentaron porcentajes de sinéresis de 0%.




**Gráfica 11.** Evolución de la sinéresis de almidones modificados durante el congelamiento -20ºC.

En general, la estabilidad al congelamiento-deshielo de los almidones se incrementó con la modificación (Gráfica 11) con respecto al almidón nativo que tiene un porcentaje de sinéresis de 52.2 (Espitia, Gómez y Salcedo, 2004), debido a la poca cantidad de agua que se eliminó durante el experimento. La sinéresis es un fenómeno que expresa la retrogradación del gel e involucra la reorganización de las moléculas de amilosa y amilopectina. Esta reorganización no es tan efectiva en los almidones de ñame y como tal acontece en sus bajas sinéresis.

Los almidones modificados a 93ºC y algunos almidones de *D. trifida* modificados a 50 y 72ºC presentaron sinéresis de 0% (ver Anexo 7), lo que indica que estos almidones son resistentes a la congelación.

Los almidones de la especie estudiada posee un porcentaje de sinéresis bajo con respecto al almidón de papa (67 % p/p) (Hurtado, 1999), lo que le podría conferir propiedades adecuadas a los productos congelados tales como deditos, empanadas y salsas para relleno; y con respecto a los almidones de cereales como el maíz cuyo valor es de 73% p/p estos almidones se encuentran en un rango más bajo.

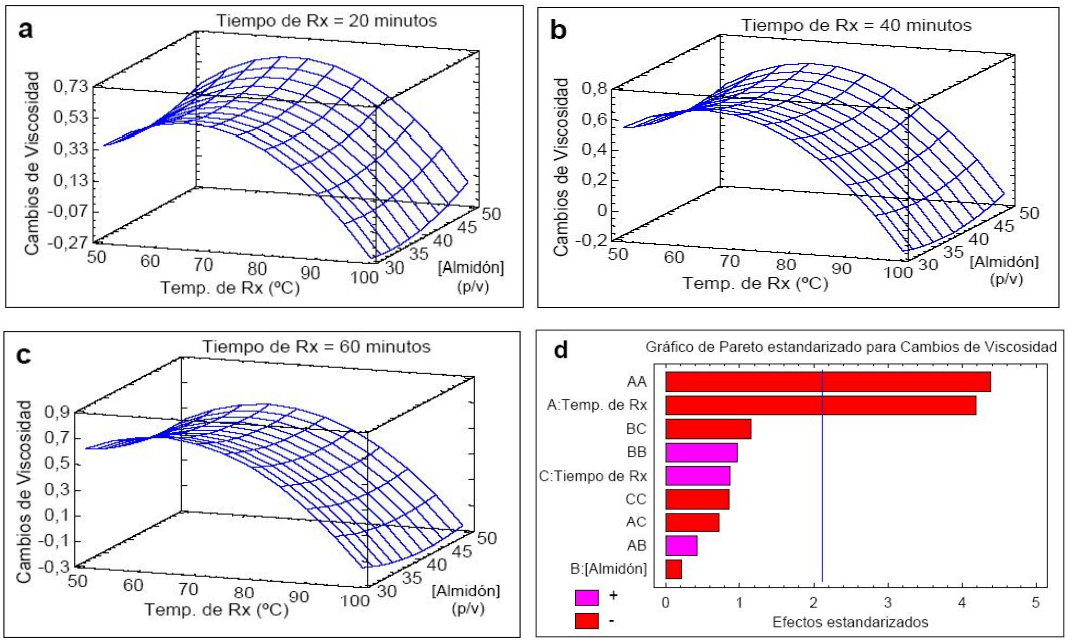
El análisis de varianza de la sinéresis se observa en el Anexo 8. El cual indica que no existen diferencias significativas entre las medias ($p>0,05$) para ambos grupos de muestras. .

### 4.3.7 Resistencia a la Esterilización.

La gráfica 12 representa los cambios de viscosidad de las pastas de los almidones modificados de *D. trifida*; donde se muestran que éstos presenta una débil pérdida de viscosidad con cambios que van desde 0,01–0,19 mPa·seg para los modificados a 93ºC, de 0,21–0,63 mPa·seg para los modificados a 50ºC y de 0,43–0,95 mPa·seg para los almidones modificados a 72ºC (Gráficas 12a, b y c), luego del tratamiento de esterilización aplicado.

Lo anterior muestra que la temperatura de reacción es la mas influye de manera inversa en cambios de viscosidades de los almidones modificados de *D. trifida* como lo muestra la gráfica 12d. Los almidones de ñame se adaptan con facilidad al tratamiento de esterilización de 2 h a 121°C, respuesta de interés industrial en varios productos alimenticios (alimentos para bebé, conservas), que requieren en su proceso un calentamiento alto y prolongado para asegurar un extenso período de conservación (Hurtado, 1999), al contrario de los almidones de yuca y papa, de amplia utilización en las industrias almidonera y alimenticia mundiales, que no

presentan resistencia al tratamiento de esterilización, comportamiento reflejado en la destrucción total de sus pastas y posterior formación de una solución.



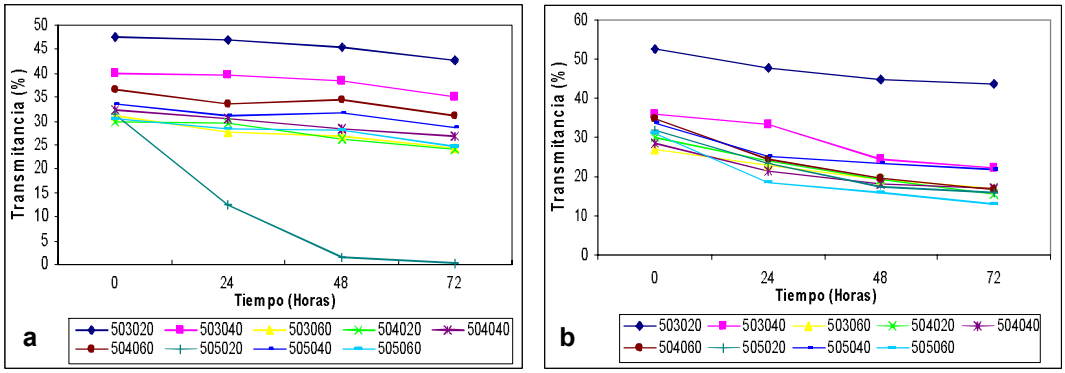

**Gráfica 12.** Cambios de viscosidad de los almidones modificados de *D.trifida* a un tiempo de reacción determinado: a) a 20 min; b) a 40 min; c) a 60 min; y d) efectos de las variables.

El análisis de varianza de la resistencia a la esterilización se observa en el Anexo 9. El cual indica que existe una confiabilidad en el diseño experimental utilizado en esta investigación, debido a que los datos de resistencia a la esterilización ajustados muestran un $R^2$= 70,7175, indicando que el método ajustado explica el 70,7175% de la variabilidad de la resistencia a la esterilización un 95% de confiabilidad.

### 4.3.8 Estabilidad y Claridad de las Pastas

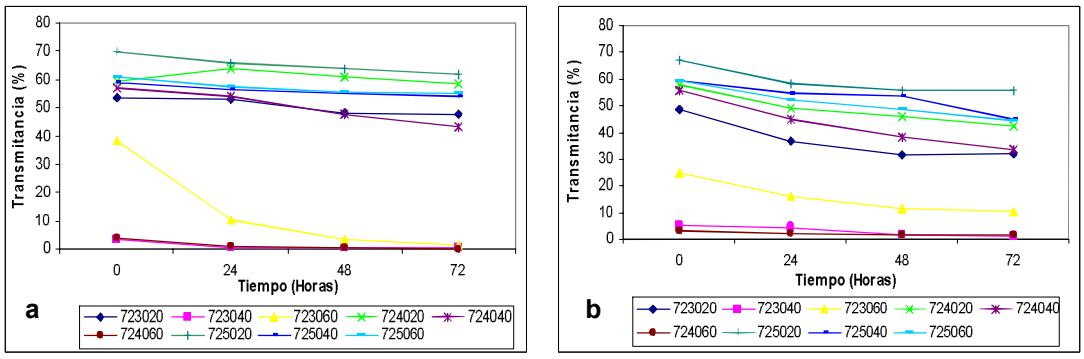
Los resultados de la estabilidad y claridad de las pastas son mostrados en las gráficas 13, 14 y 15, donde se observaron diferencias en los porcentajes de transmitancia (%T) entre las muestras almacenadas a 4ºC y a temperatura

ambiente (Gráficas 13a y b). En la mayoría de los casos los %T fueron más altos a 4ºC que a temperatura ambiente, excepto la muestra 505020, la cual cayó desde 31,4 (0h) hasta 0,4 (72h).



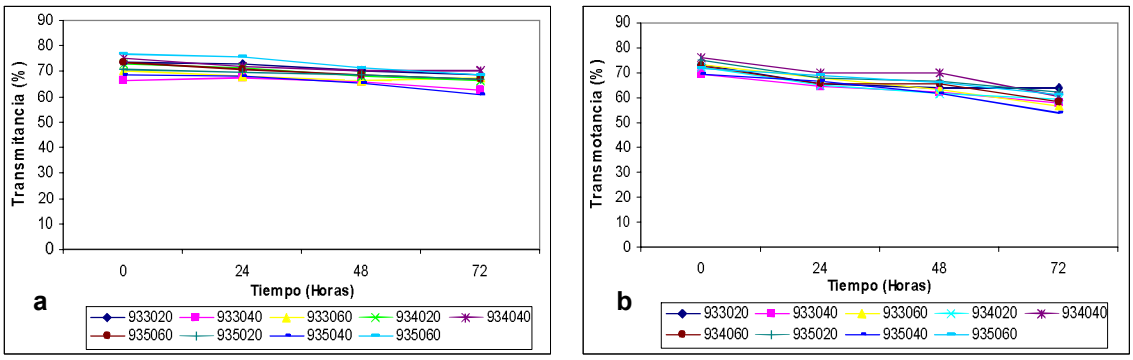

**Gráfica 13.** Porcentajes de transmitancia de los almidones modificados a 50ºC: a) a 4ºC, b) a temperatura ambiente.

Los almidones modificados a 72ºC, mostraron pocas diferencias en %T entre las muestras almacenadas a 4ºC y a temperatura ambiente (Gráficas 14a y b). Como aconteció con los almidones modificados a 50ºC, los %T fueron más altos a 4ºC que a temperatura ambiente, excepto para las muestra 723060, la cual cayó desde 38,5 (0h) a 1,3 (72h).




**Gráfica 14.** Porcentajes de transmitancia de los almidones modificados a 72ºC: a) a 4ºC, b) a temperatura ambiente.

En cuanto a los almidones modificados a 93ºC, el comportamiento fue similar, aunque en su mayoría los geles de almidones almacenados a temperatura ambiente registraron un descenso significativo en los porcentajes de transmitancia en comparación a los almacenados a 4ºC (Gráficas 15a y b), pero presentaron porcentajes de transmitancia mayores en comparación a los modificados a 50ºC y 72ºC lo cual se sustenta con la alta solubilidad que presentaron estas muestras.




**Gráfica 15.** Porcentajes de transmitancia de los almidones modificados a 93ºC: a) a 4ºC, b) a temperatura ambiente.

Según Miles et al. (1985a) bajas temperaturas incrementan el fenómeno de retrogradación, sin embargo, los geles de los almidones modificados de *D. trifida* al presentar bajas sinéresis favorecen también la estabilidad de los geles de almidón.

Miles *et al.* (1985a, 1985b) reportaron que la retrogradación consiste de dos procesos: gelificación de las moléculas de amilosa liberadas a partir de los gránulos durante la gelatinización y recristalización de amilopectina. Gidley (1987) postuló que la gelificación de la amilosa se lleva acabo mediante la formación de una doble hélice a partir de segmentos de cadenas, seguido por la agregación de estas hélices de la estructura tipo B. En este estudio, la temperatura de almacenamiento a 4 ºC debe influir en la formación de cristales menos perfectos

que los formados cuando se almacenan las muestras a temperatura ambiente. Además, la agregación de las cadenas de amilosa puede ser llevada a mayor velocidad a bajas temperaturas, lo cual disminuye la transmitancia. También el tiempo de almacenamiento es responsable de esos valores bajos del porcentaje de la transmitancia, probablemente debido a la retrogradación de la muestra (Bello-Pérez *et al*., 2002).

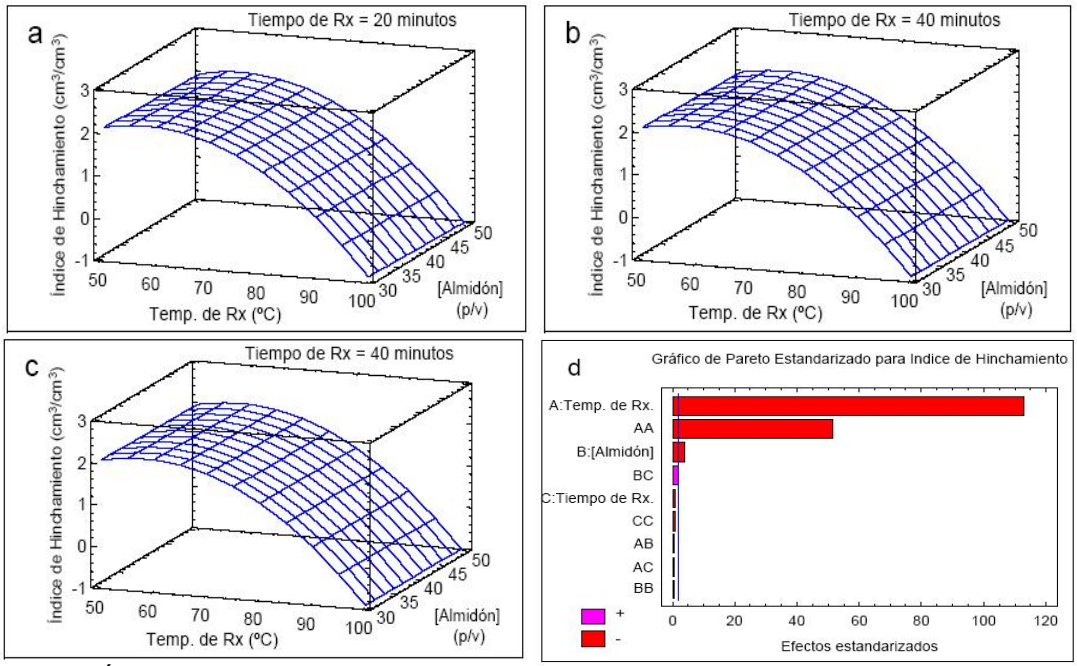
En general la transmitancia de los almidones modificados fueron mayores a 4ºC que a temperatura ambiente ($p>0.05$). Los almidones modificados a 93ºC mostraron una baja tendencia a la retrogradación, ya que la transmitancia no fue diferente ($p>0.05$) y las otras muestras presentaron un comportamiento similar. Sin embargo, algunas muestras a 4ºC tuvieron una alta tendencia a la retrogradación, porque el porcentaje de la transmitancia disminuyó cuando se incrementó el tiempo de almacenamiento ($p>0.05$). La diferencia ($p>0.05$) entre los tres almidones modificados se puede deber a diferencias en el grado de hidrólisis que presentan sus moléculas. La distribución de la longitud de las cadenas podría tener una función muy importante en este comportamiento. Cuando los almidones modificados fueron almacenados a 4 ºC (Gráficas 13a, 14a y 15a) se encontraron ligeras diferencias no significativas ($p>0.05$) entre ellos, especialmente después de 24 h de almacenamiento. Estas modificaciones del almidón no tuvieron efecto en retrasar el fenómeno de retrogradación cuando los geles se almacenaron a temperatura de refrigeración.

El anexo 10 se observa el Contraste Múltiple de Rango para la estabilidad y Claridad de las pastas donde se aplica un procedimiento de comparación múltiple que muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza 95,0% que identifican 4 grupos homogéneos.

### 4.3.9 Índice de Hinchamiento (IH)

Los resultados obtenidos para el índice de hinchamiento (IH) de los almidones modificados de *D. trifida* se muestran en el gráfico 16, donde se reportan valores entre 2,0 y 2,2 $cm^3/cm^3$ para los almidones modificados a 50ºC (Gráficas 16a, b y c); para los almidones modificados a 72ºC, se encontraron valores entre 1,6 y 1,8 $cm^3/cm^3$ (Gráficas 16a, b y c); mientras que para los almidones modificados 93ºC, el índice de hinchamiento fue 0 $cm^3/cm^3$ (Gráficas 16a, b y c).

Aunque para 50ºC y 72 ºC se obtuvieron valores de IH diferente, se encontró un comportamiento similar en cuanto a la diferencia entre el punto mas bajo y el mas alto, estos valores se presentan debido que para estas condiciones los almidones tuvieron poca degradación. Mientras que los modificados a 93ºC no tuvieron índice de hinchamiento por el alto grado de degradación que presentaron sus gránulos.




**Grafica 16.** Índice de hinchamiento de los almidones modificados de *D.trifida* a tiempo de reacción determinado: a) a 20 min; b) a 40 min; c) a 60 min; y d) efectos de las variables.

También cabe destacar que la temperatura de reacción es el factor que mas influye de manera inversa en el índice de hinchamiento de los almidones modificados de *D. trifida* (Gráficas 16a, b y c), razón que explica los resultados de índice de hinchamiento a 93ºC de temperatura de reacción, confirmándose en la gráfica 16d. Algunos investigadores han reportado que las fuerzas de unión entre los gránulos de almidón son responsables del alto índice de hinchamiento en harinas de ñame (Iwuoha, 2003).

Los resultados de índice de hinchamiento se soportan con los datos de la CRA en los cuales a 50, 72 y 93ºC en este orden presentan los mayores resultados, pero todo lo contrario a los datos arrojados para solubilidad lo cual demuestra que es casi imposible tener índice de hinchamiento en los modificados a 93ºC.

Los datos de índice de hinchamiento fueron analizados en un diseño experimental el cual los ajusto en el siguiente modelo de ecuación de regresión, la cual es una relación empírica entre los valores de índice de hinchamiento obtenidos y las variables de la prueba en la unidad codificada.

$$IH = -3,24189 + 0,200194X - 0,0131438Y - 0,00240525Z - 0,00174268X^2 + 0,0000258398XY + 0,0000129199XZ + 0,0000555556Y^2 + 0,0000833333YZ - 0,0000277778Z^2$$

Donde IH= índice de hinchamiento; X= temperatura de reacción; Y= concentración de almidón y Z= tiempo de reacción.

El análisis de varianza de índice de hinchamiento se observa en le Anexo 11. El cual indica que el diseño experimental utilizado en esta investigación tiene una gran confiabilidad, debido a que los datos de índice de hinchamiento ajustados en la ecuación matemática muestran un $R^2$= 99,5526, lo que indica que el método

ajustado explica el 99,5526 % de la variabilidad del IH con una confiabilidad del 95%.

### 4.3.10 Microscopia del Proceso de Gelatinización

En las figuras 10, 11 y 12 se muestran el seguimiento de la microscopía del proceso de gelatinización del almidón modificado de *Dioscorea trifida.*

Para observar la microscopía del proceso de gelatinización, se escogieron las siguientes temperaturas: 30, 50, 65, 72, 78 y 84ºC.

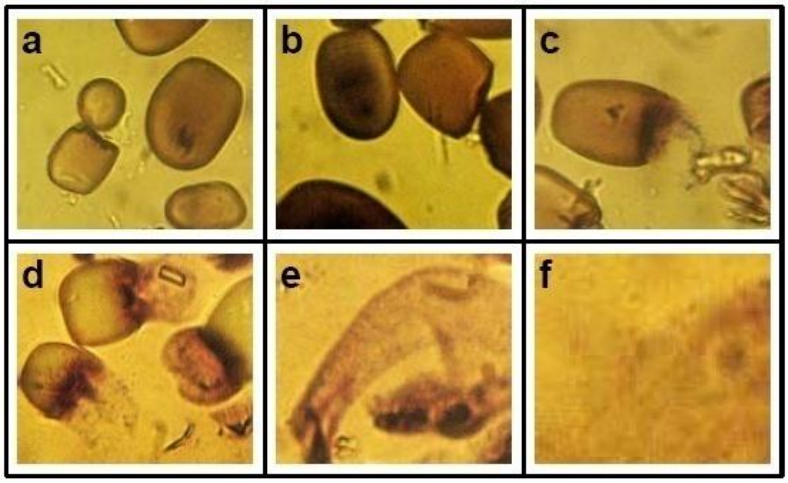



**Figura 10.** Microscopia del proceso de gelatinización del almidón de *D. trifida* modificado a 50ºC, a) a 30ºC, b) a 50ºC, c) a 65ºC, d) a 72ºC, e) a 78ºC y f) a 84ºC

Para los almidones modificados de *D. trifida* a 50ºC, en el rango de temperatura que va desde 30 a 50$^{o}$C (Fig. 10a y 10b) los gránulos de almidón no presentaron un aumento considerable debido a que la temperatura de gelatinización está por encima de ese rango. Las microfotografías revelaron que a esta temperatura de reacción se encuentran muchos gránulos intactos, los cuales se fueron hinchando a medida que la temperatura de la solución de almidón fue aumentando, también se evidencian gránulos rotos debido a la acción de la enzima, los cuales a medida

que la temperatura aumento la amilosa y la amilopectina contenidas en ellos se dispersaron (Fig. 10c). Cuando se observó la muestra a 72ºC algunos gránulos empezaron a reventar (Fig. 10d). Para 78ºC, la mayoría de los gránulos se encontraban reventados, observándose en cambio de viscosidad de la solución debido a que los gránulos hinchados se adhirieron los unos a los otros ocasionando la gelatinización, lo que nos sugiere una temperatura inicial de gelatinización (Fig. 10e). A 84ºC solo se observan fragmentos de gránulos y una solución muy soluble (Fig. 10f).

Para las muestras de almidones modificados de *D. trifida* a 72ºC, en el rango de 30 hasta 65ºC, se observó un comportamiento muy similar a las muestras modificadas a 50ºC pero como era de esperarse, los gránulos observados en la microfotografía presentan extrusión debido a la acción de la enzima lo cual está relacionado con el aumento de la temperatura de reacción, permitiendo un aumento de la actividad enzimática de la α-amilasa (Fig. 11a y 11b).

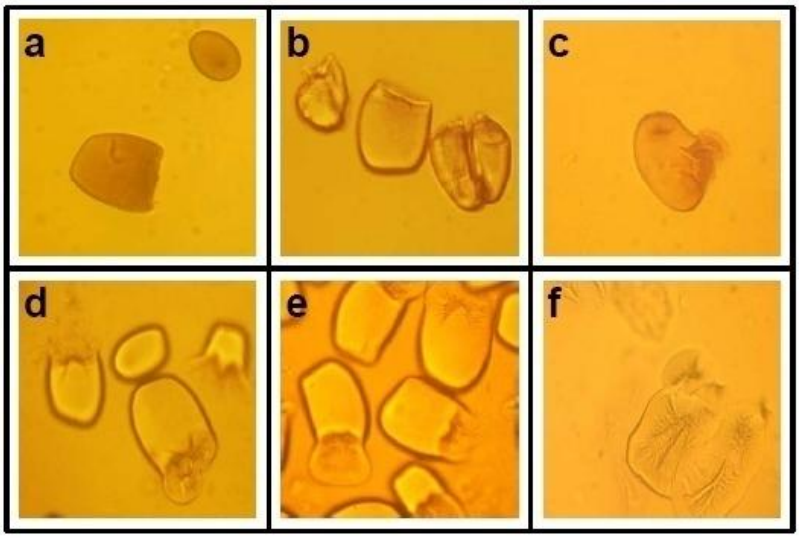



**Figura 11.** Microscopia del proceso de gelatinización del almidón de *D. trifida* modificado a 72ºC, a) a 30ºC, b) a 50ºC, c) a 65ºC, d) a 72ºC, e) a 78ºC y f) a 84ºC

A la temperatura de 65ºC se observa la forma que adquiere un gránulo fragmentado cuando está dispersando su contenido fuera de él, lo cual indica que la amilosa y la amilopectina se están disolviendo en el agua por el aumento de la temperatura (Fig. 11c), pero a medida que ésta aumenta a 72ºC, la parte del gránulo que no está roto empieza a aumentar mas su volumen, pero no se da unión entre los gránulos debido a que muchos de ellos se han disuelto permitiendo que la temperatura de gelatinización aumente. Esto permite que los gránulos presentes empiecen a perder su cristalinidad (Fig. 11d). Luego estos gránulos se hinchan hasta reventarse por completo perdiendo aun más su cristanilidad, evidenciándose una fase viscosa, lo que indica que los gránulos están en el proceso de gelatinización (Fig. 11e). Cuando se aumenta la temperatura a la solución los gránulos desaparecen, la viscosidad disminuye un poco y solo se observa restos de gránulos en una solución de almidón soluble. (Fig. 11f).

Para los almidones de *D. trifida* modificados a 93ºC no se les hizo el seguimiento como a las muestras anteriores, ya que como era de esperar, en estas muestras la mayor parte de los gránulos de almidón están fragmentados por la acción de la enzima, las microfotografías mostraron a temperatura ambiente solo restos de gránulos (Fig. 12a). Cuando la muestra se sometió a calentamiento (50ºC y 78ºC) se homogenizo convirtiéndose en una solución soluble, apareciendo algunos restos de fragmentos (Fig. 12b y 12c). No se observo indicios de gelatinización.

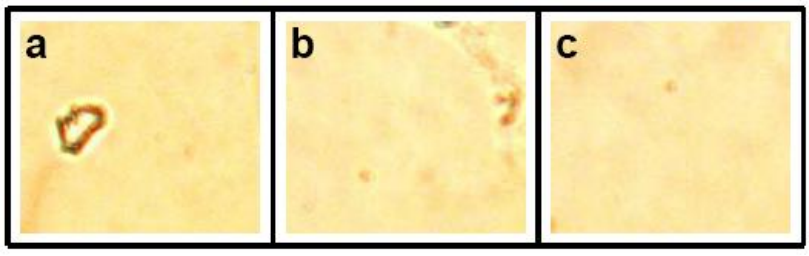
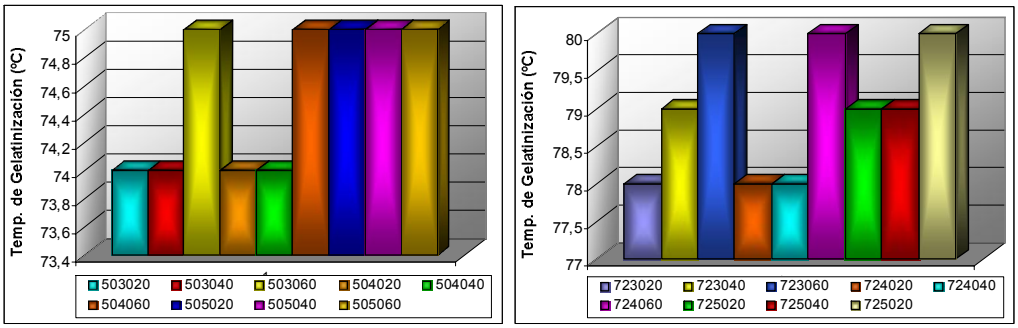



**Figura 12.** Microscopia del proceso de gelatinización del almidón de *D. trifida* modificado a 93ºC, a) a 30ºC, b) a 65ºC y c) 84ºC

### 4.3.11 Temperatura de Gelatinización

Los datos de el punto de gelatinización de los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC y 72ºC se representan en la gráfica 17 (a y b), en este caso los almidones modificados tanto a 50ºC como a 72ºC presentaron temperaturas de gelatinización muy cercanas y por encima de la temperatura de gelatinización del almidón nativo de *D. trifida* (75,25ºC) (Espitia, Gómez y Salcedo, 2004). También cabe destacar que las temperaturas halladas se encuentran muy cercas de las temperaturas de gelatinización registradas en los viscoamilogramas Brabender realizados en este estudio (Anexo 12). El incremento en la temperatura de gelatinización de algunos de los almidones modificados con respecto al nativo se debe a la fragmentación que sufrieron algunos de sus gránulos, los cuales con el aumento de la temperatura, sus componentes amilasa y amilopectina se dispersan y se solubilizan en la fase acuosa, al contrario de los gránulos que se encuentran intactos los cuales se están hinchando y adhiriéndose a otros gránulos formando un sistema de red la cual dará inicio a la gelatinización. Pero esta maraña se tardará mas en formarse por haber gránulos que al estar rotos se han disuelto originando espacios en la solución, aumentando por ende el punto de gelatinización.




**Grafica 17.** Temperaturas de gelatinización de los almidones de D. trifida modificados: a) a 50ºC y b) a 72ºC.

Para los almidones de *D. trifida* modificados a 93ºC no se apreció una temperatura de gelatinización debido al grado de modificación que presentaron estas muestras,

lo cual se soporta también con los altos valores de solubilidad, la alta estabilidad de las pastas y la baja CRA.

El análisis estadístico de la temperatura de gelatinización se observa en el Anexo 13. El cual indica que existe una confiabilidad en el diseño experimental utilizado en esta investigación, debido a que los datos de temperatura de gelatinización ajustados muestran una confiabilidad de 99% indicando que solamente el 1% del total de las variaciones de la temperatura de gelatinización no son explicadas por el modelo, el cual presenta una baja significancia del modelo ($p< 0,05$).

### 4.3.12 Densidad Verdadera, Densidad Promedio y Porosidad

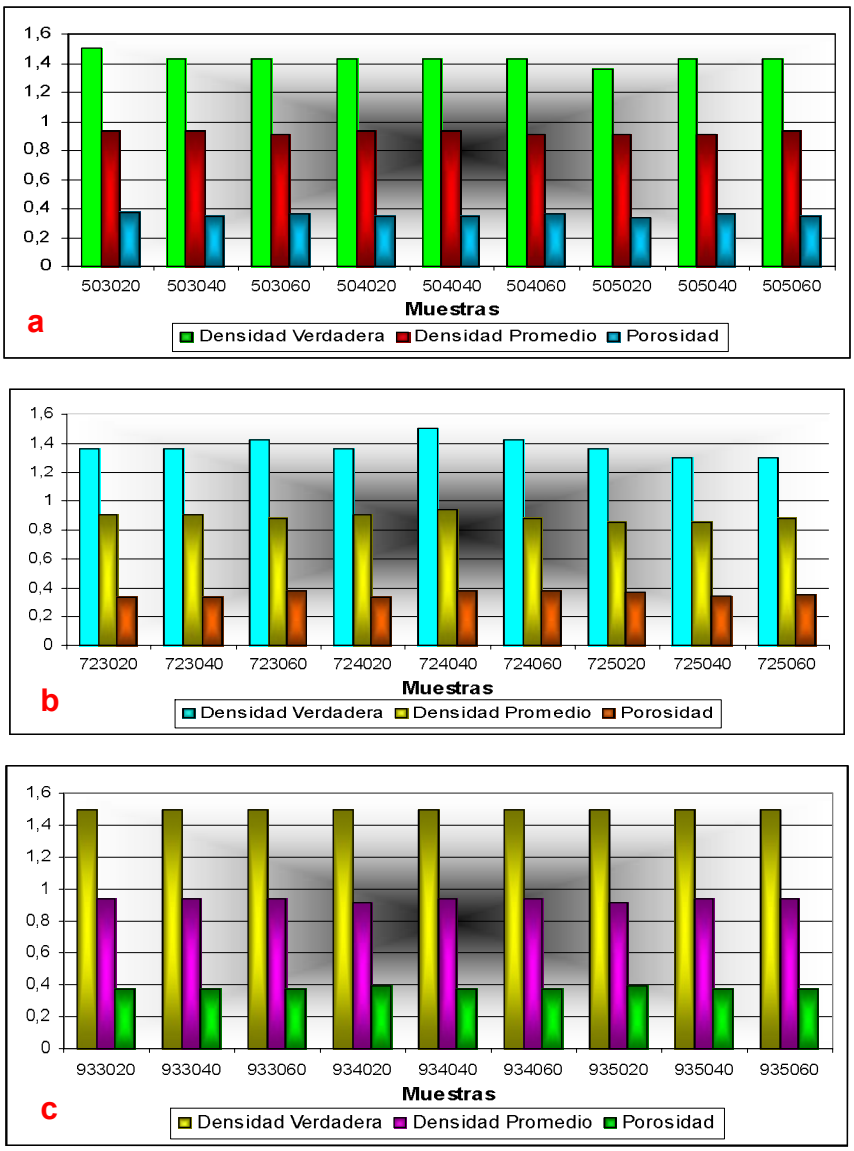
Los valores obtenidos en las mediciones para densidad verdadera, densidad promedio y porosidad de los almidones modificados de *D. trifida* se ilustran en la gráfica 18 (a, b y c).

Los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC (Gráfica 18a), a 72ºC (Gráfica 18b), y a 93ºC (Gráfica 18c) mostraron densidades verdaderas alrededor de 1,428 g/cm$^3$, 1,364 g/cm$^3$ y 1,5 g/cm$^3$ respectivamente, las cuales están cercanas a las reportadas para harina de ñame (1,33, 1,49 y 1,55 g/cm$^3$) (Hsu *et al*., 2003).

Por otro lado las densidades promedios mostraron valores alrededor de 0,9375 g/cm$^3$ para los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC (Gráfica 18a); 0,8823 g/cm$^3$ para los modificados a 72ºC (Gráfica 18b) y 0,9375 g/cm$^3$ para los almidones modificados a 93ºC (Gráfica 18c) los cuales están significativamente por encima a lo reportados para harina de ñame (0,75, 0,93 y 0,53 g/cm$^3$) (Hsu *et al*., 2003).

Mientras que la porosidad presentó valores que van desde 0,334 hasta 0,375 para los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC (Gráfica 18); de 0,334 hasta 0,382

para los almidones modificados a 72ºC (Gráfica 18b) y desde 0,375 hasta 0,394 para los modificados a 93ºC (Gráfica 18c) los cuales están por debajo de los reportados para harina de ñame (0,53; 0,75 y 0,93) (Hsu et al., 2003).




**Gráfica 18.** Densidad verdadera, densidad promedio y porosidad de los almidones de *D. trifida* modificados: a) a 50ºC, b) a 72ºC y c) a 93ºC.

El análisis de varianza para densidad verdadera (DT), densidad promedio (DB) y porosidad (P) se observa en el Anexo 14. El cual indica que existe una confiabilidad en el diseño experimental utilizado en esta investigación, debido a que los datos de DT, BB y P ajustados muestran un $R^2$= 72,1933; 75,6716 y 54,5544 respectivamente, indicando que el método ajustado explica el 72,1933; 75,6716 y 54,5544% de la variabilidad de la DT, DB y P con una confiabilidad del 95%.

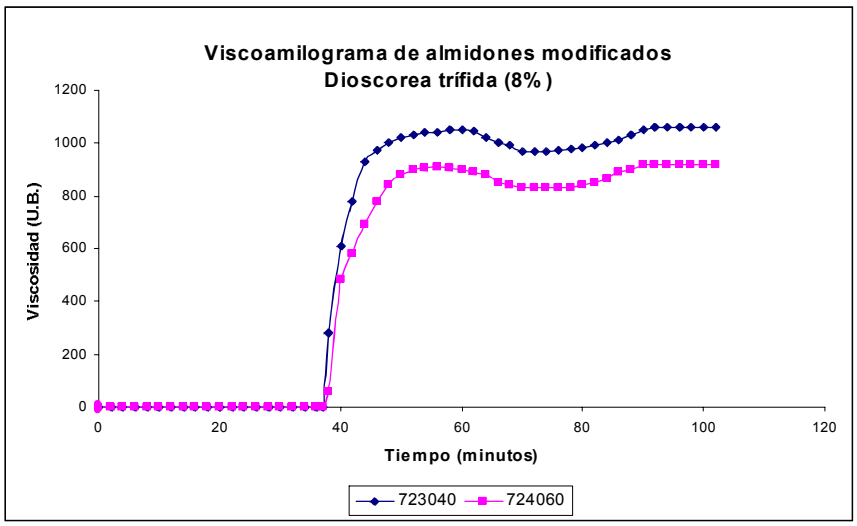
### 4.3.13 Comportamiento de la Pasta en Frío y Caliente

Las gráficas (19, 20 y 21) muestran el comportamiento de algunas suspensiones de almidón de *D. trifida* modificados a 50 y 72ºC (8% (p/V) de sólidos totales) durante su calentamiento y posterior enfriamiento, registrados por el viscoamilógrafo Brabender, instrumento bajo el cual se aplica un tratamiento hidrotérmico en presencia de esfuerzos cortantes, permitiendo una medición continua de la viscosidad de la pasta.

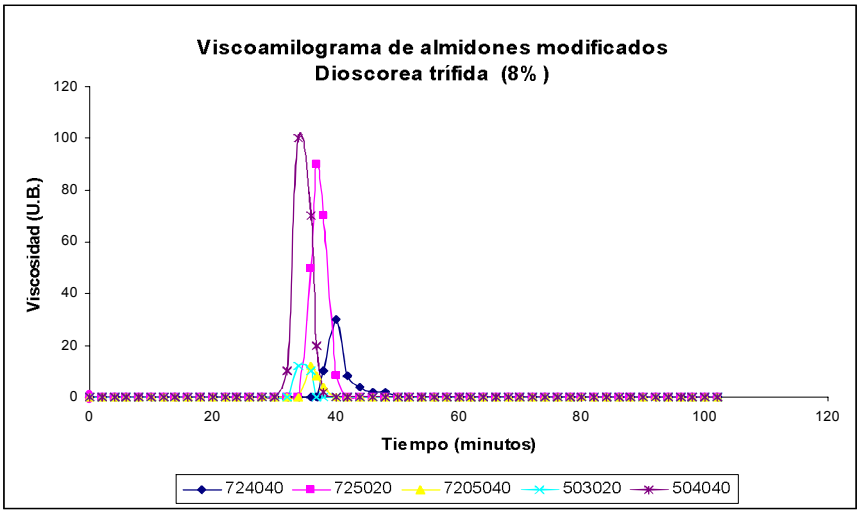
En la gráfica 19, se observa que las suspensiones 723040 y 724060 no presentan picos de viscosidad definido y las viscosidades se mantienen altas durante un tiempo prolongado, por lo que las suspensiones presentan estabilidad a elevadas temperaturas, lo cual permite predecir que podría ser un ingrediente idóneo para elaborar sopas tipo instantáneas, por otra parte, los elevados valores de viscosidad desarrollados en estas dos suspensiones sugieren que éstas serían adecuadas como espesantes.

Por otro lado, las otras muestras (Gráficas 20 y 21) presentaron picos de viscosidad, lo cual representa un comportamiento típico de los almidones tipo waxy (cerosos), los cuales presentan un aumento de viscosidad (picos altos y otras picos bajo), pero al final todas reportaron viscosidades iguales a cero

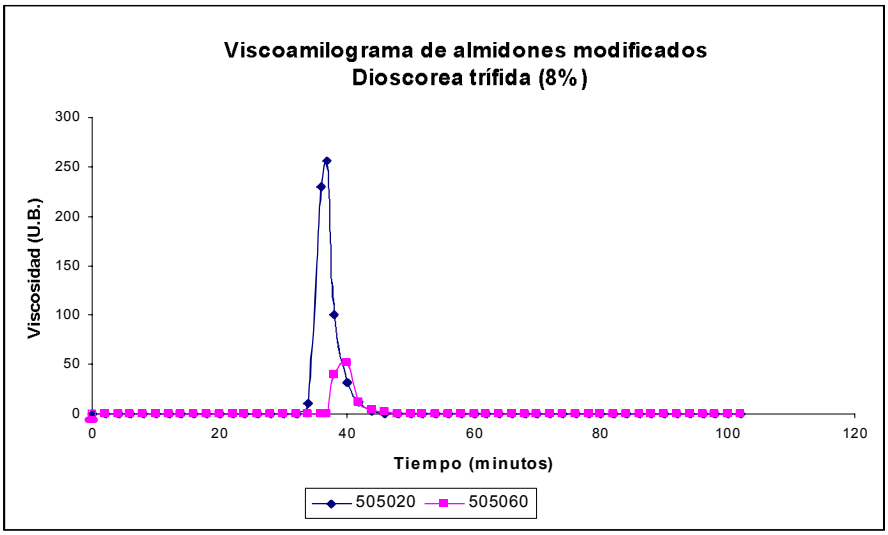
(Gráficas 20 y 21). Lo cual se atribuye a la solubilización del almidón cuando por medio del calentamiento las suspensiones superan la temperatura de gelatinización.




**Gráfica 19.** Viscoamilograma de almidones de *D. trifida* modificados a 72ºC (8% p/V de sólidos totales).




**Gráfica 20**. Viscoamilograma de almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC y 72ºC. (8% p/V de sólidos totales).




**Gráfica 21.** Viscoamilograma de almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC (8% p/V de sólidos totales).

Se puede apreciar que las temperaturas de gelatinización de los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC varían en un rango de 72.25 - 90.0ºC, y de 77.20 - 80.5ºC para los almidones modificados a 72ºC (Tabla 10), los cuales se encuentran muy próximos a la temperatura de gelatinización para el almidón nativo de esta especie (75.25ºC) y superiores a las temperaturas de gelatinización presentada por otros almidones como el de papa (60ºC), de yuca (62ºC), de oca amarilla (48.1ºC) y maíz céreo (72.2 ºC), e inferior al de ñame (83,5ºC) (Hurtado, 1999).

A diferencia de los almidones de raíces y tubérculos, los de cereales muestran altas temperaturas de gelatinización (>86°C); por tanto, requieren mayor energía para su cocción, así mismo, exhiben menores viscosidades óptimas (<120 U.B.), siendo necesarias mayores cantidades de almidón, para alcanzar las viscosidades deseadas. En contraste, el almidón de maíz ceroso presenta una viscosidad máxima de 530 U.B. y una temperatura de gelatinización de 72,2°C.

**Tabla 10.** Temperaturas de gelatinización y viscosidades reportadas por el Viscoamilógrafo Brabender en los almidones modificados de *D. trifida*

| Identificación | $T_{gel}$ (ºC) | $V_{max}$ | $V_{final}$ |
|---|---|---|---|
| | U.B | U.B | U.B |
| 723040 | 79.75 | 1090 | 1060 |
| 724040 | 80.50 | 8 | 0 |
| 724060 | 80.20 | 910 | 920 |
| 725020 | 77.20 | 90 | 0 |
| 725040 | 77.20 | 12 | 0 |
| 503020 | 74.50 | 12 | 0 |
| 504040 | 72.25 | 100 | 0 |
| 505020 | 75.25 | 257 | 0 |
| 505060 | 79.00 | 62 | 0 |

Abreviaturas
$T_{gel}$ = Temperatura de gelatinización
$V_{max}$ = Viscosidad máxima
$V_{final}$ = Viscosidad final

### 4.3.14 Evaluación de los Almidones Modificados de *D. trifida* como Pegantes

Los valores obtenidos al evaluar el tiempo en que tarda en romperse la unión adhesiva por medio de las pruebas extensible y cizalla de los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC y 72ºC se muestran en la tabla 11, en la cual se observa que los almidones a tiempos de reacción de 20 minutos presentaron los tiempos mas altos. Los almidones de *D. trifida* modificados a 93ºC presentaron tiempo menores a 2 segundos, los cuales indican resultados negativos para las pruebas evaluadas.

Los adhesivos obtenidos a partir de los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC presentaron una mayor fuerza de pegado, ya que los tiempos en que tardaron en romperse las uniones de las superficies en contacto (madera-madera) en las pruebas extensible y cizalla, fueron los mas altos (Tabla 11) y entre los almidones

modificados a 50ºC, los que presentaron los mayores tiempos fueron los modificados a tiempos de reacción 20 minutos.

**Tabla 11.** Tiempo de pegado de los adhesivos de D. trifida.

| Muestra | Tiempo (Seg) | |
|---|---|---|
| | Cizalla | Extensible |
| 503020 | 24,1 | 30,0 |
| 503040 | 29,0 | 26,6 |
| 503060 | 21,4 | 24,4 |
| 504020 | 17,8 | 16,9 |
| 504040 | 14,5 | 17,1 |
| 504060 | 16,3 | 13,4 |
| 505020 | 11,0 | 14,02 |
| 505040 | 9,34 | 18,9 |
| 505060 | 12,2 | 12 |
| 723020 | 12,4 | 22,8 |
| 723040 | 10,3 | 20,4 |
| 723060 | 10,8 | 16,8 |
| 724020 | 5,3 | 21,3 |
| 724040 | 5,6 | 19,6 |
| 724060 | 5,9 | 21,4 |
| 725020 | 7,0 | 18,2 |
| 725040 | 3,4 | 16,3 |
| 725060 | 3,8 | 19,5 |

Aunque los adhesivos de los almidones de *D. trifida* modificados a 72ºC reportaron menores tiempos en comparación con los almidones modificados a 50ºC, mantuvieron un comportamiento muy similar, donde los mayores tiempos se obtuvieron con las muestras modificadas a menor tiempo de reacción (Tabla 11).

Por otra parte el adhesivo obtenido a partir de los almidones de *D. trifida* modificados a 93ºC no presentaron tiempos de pegado, lo cual muestra que estos adhesivos no presentan resistencia al ser sometidos a las pruebas extensible y cizalla, lo cual muestra que el almidón de *D. trifida* entre menos grado de modificación, presentan mayor fuerza de pegado.

Los adhesivos obtenidos a partir de los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC y 72ºC pueden ser clasificados como unas pastas, porque presentan una textura espesa y poca movilidad. Mientras que el adhesivo obtenido a partir de los almidones modificados a 93ºC se puede considerar como un pegamento debido a que son más líquidos y poseen alguna forma de movilidad.

### 4.3.14.1 Evaluación del Adhesivo

#### 4.3.14.1.1 Rotulado de Botellas y Prueba de Sellado

Los adhesivos obtenidos a partir de los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC, 72ºC y 93ºC son útiles para el rotulado de botellas. Con la ayuda de una brocha se esparció una capa delgada sobre el papel (Fig. 13a) y se dejó secar durante 15 segundos (Fig. 13b), luego fue adherido a la botella por 15 minutos (Fig. 13c y d) y se procedió a retirarlo (Fig. 13e y f).

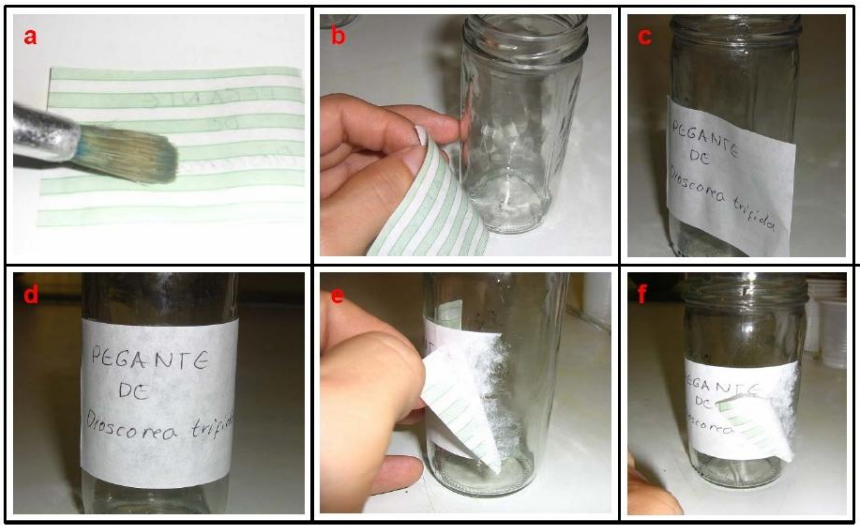



**Figura 13** Evaluación para sellos de sobres de papel en los almidones modificados de *D. trifida*: a) Aplicación del pegamento; b) secado del pegamento; c y d) adherencia a la botella; e y f) desprendimiento del papel.

Los adhesivo obtenidos a partir de los almidones de *D. trifida* modificados a 93ºC presentaron mayor adherencia, el papel no se desprendió fácilmente, dándose el fallo del sustrato en, este caso el papel, siendo así un resultado positivo (Fig. 13e y f), a la hora de evaluarse el pegado en las superficies papel-vidrio en las pruebas rotulado de botellas, mientras que el adhesivo obtenido a partir de los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC y 72ºC no presentaron adherencia, al contrario tuvieron un desprendimiento fácil a la hora de retirarlo, originándose un fallo en el adhesivo no deseado.

Por otra parte en la evaluación para sellos de sobres de papel, para mirar si los adhesivos preparados son útiles para el sellado en papel-papel se reutilizo el mismo adhesivo usado en la prueba de rotulado de botella. Con la ayuda de la brocha se esparció una capa delgada sobre una tira de papel Kraft (Fig. 14a) y se dejó secar por 10 minutos (Fig. 14b), luego se humedeció y se colocó sobre un papel seco (Fig. 14c), y finalmente después de un tiempo se procedió a retirarlo (Fig. 14d).

La sustancia adhesiva obtenida a partir de los almidones de *D. trifida* modificados a 93ºC presentaron adherencia, la tira de papel Kraft no se desprendió fácilmente, dándose el fallo en ambos sustrato (papel Kraft y papel blanco), siendo así un resultado deseado (Fig. 14d), en la evaluación de pegado en las superficies papel-papel en la pruebas de sellos de sobres de papel. Mientras que el adhesivo obtenido a partir de los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC y 72ºC no presentaron adherencia, al igual que en la prueba para el rotulado de botellas tuvieron un desprendimiento fácil a la hora de retirarlo, originándose un fallo no deseado en el adhesivo, es decir, un resultado negativo.

Lo anterior se debe a que los adhesivos obtenidos a partir de los almidones de *D. trifida* modificados a 93ºC presentan características físicas a las de un

pegamento, lo cual les va permitir pegar en estos sustratos como lo son las superficies papel-papel y papel vidrio. Por otro lado, estos adhesivos provienen de un almidón con un grado alto de modificación, donde hay una alta concentración de dextrinas, las cuales son utilizadas en la industria como pegamentos (Baumann y Conner, 1994)

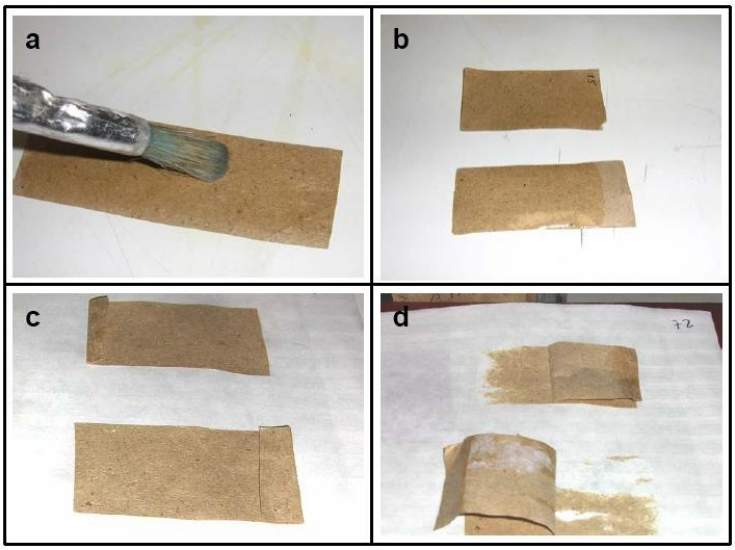



**Figura 14.** Evaluación para sellos de sobres de papel en los almidones modificados de *D. trifida*: a) Aplicación del pegamento en el papel Kraft; b) secado del pegamento; c) adherencia al papel blanco; d) desprendimiento del papel Kraft.

Mientras que la sustancia adhesiva obtenida a partir de los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC y 72ºC, por sus características físicas parecen ser una pasta, pero con resultados negativos en las pruebas realizadas. Además el grado de modificación que presentan los almidones de *D. trifida* modificados a 50ºC y 72ºC es bajo lo que indica que la concentración de dextrinas es baja y por ende los adhesivos obtenidos a partir de estos almidones no favorecen a la obtención de resultados positivos en estas pruebas.

## 4.4 POSIBILIDADES DE USO DE LOS ALMIDONES MODIFICADOS DE *Dioscorea trifida*

Una vez analizado el comportamiento de los almidones modificados de *D. trifida*, el siguiente criterio es considerar el funcionamiento del producto, que depende casi en su totalidad de sus propiedades funcionales para así considerar al almidón como un conjunto de características funcionales adecuadas a una determinada aplicación.

Teniendo en cuenta los valores de solubilidad y de la estabilidad y claridad de pastas que presentaron los almidones modificados a 93ºC, pueden tener aplicación en la industria de alimentos tales como: néctares y refrescos. En cuanto al pH (6,16 - 6,56) estos almidones pueden ser utilizados en productos alimenticios para niños y en salsas; por su conductividad eléctrica (304 - 350µmho), en productos cárnicos; por la acidez presentada (0,88 - 1,03), pueden ser empleados en mermeladas, y en productos alimenticios que deben soportar un almacenamiento prolongado a bajas temperaturas dado su resistencia a la congelación y enfriamiento (sinéresis 0%) y en productos para bebes (compotas) dada su resistencia a la esterilización.

Con respecto a las capacidades de retención de agua que presentaron los almidones modificados a 50 y 72ºC, estos almidones pueden ser empleados en panadería, debido a que cuando una masa se somete a la operación de amasado los gránulos de almidón absorben cierta cantidad de agua, lo cual se puede mejorar con su uso. Con lo anterior podemos mencionar que estos almidones se pueden utilizar en panadería y repostería en productos tales como: pasteles, ponques, flanes, glaseados, donuts, jarabes, yogures, para darle textura y consistencia a los rellenos de ciertos productos y mejorar la apariencia.

En cuanto a Espesantes (Cremas) y Agentes de relleno, los almidones modificados a 50ºC pueden ser una alternativa, por su alta capacidad de retención de água, pH tendiente a la neutralidad, conductividad eléctrica baja, solubilidades bajas, viscosidades medianamente altas y presencia de sinéresis, con lo anterior, este almidón puede ser recomendado para pulpa de frutas, como relleno, en salsas, agente espesante (productos basados en sopas, crema de leche y natillas). Mientras que por la solubilidad presentada por los modificados a 72ºC estos almidones pueden utilizarse en jugos de fruta, bebidas lácteas, avenas, salsas y sopas instantáneas.

Estos almidones también tienen la facultad de formar geles consistentes y resistir altas temperaturas, también poseen una capacidad espesante debido a su carácter amilopéctico, en contraste con los almidones de trigo y maíz los cuales prevalece en ellos la capacidad gelificante, dado su contenido de amilosa.

En los productos cárnicos como los embutidos escaldados se hace necesario evitar la utilización de los almidones modificados de *D. trífida* como relleno, dada las altas temperaturas de gelatinización de dichos almidones porque es necesario que las temperaturas de proceso sean menores de 72º C, ya que influye en las características finales del producto terminado.

Una de las posibles aplicaciones del almidón modificado de *D. trifida* está en el uso como pegantes, donde los almidones modificados a 50ºC presentan una alta fuerza de pegado, lo mismo pasa con los modificados a 72ºC pero con menos fuerza, en cambio los de 93ºC pueden ser mas utilizados para el rotulado de botellas, pegado papel–papel (sellos).

# 5 CONCLUSIONES

En el proceso de dextrinización del almidón de *D trifida* con α-amilasa el factor mas influyente a la hora de obtener resultados buenos de equivalentes de dextrosa es la temperatura de reacción, ya que entre mas cerca esté la temperatura de reacción de la optima (93–95ºC) mejores resultados se obtendrán, seguido del tiempo de reacción, lo que permite obtener mayores valores de equivalentes de dextrosa a 93ºC, mas que a 72ºC y 50ºC, influyendo para que sus propiedades funcionales varíen con respecto al nativo, lo cual permite ampliar las aplicaciones industriales del almidón de *D trifida*.

La solubilidad también se incrementa en los almidones de *D trifida* modificados a 72ºC pero no tanto como en los almidones de *D trifida* modificados a 93ºC, donde se alcanzan hasta el 100%, siendo importante en productos alimentarios procesados a altas temperaturas.

La capacidad de retención de agua que presento el almidón modificado *D. trifida* fue alto para los en los almidones de *D trifida* modificados a 50 y 72ºC, lo cual es bueno para productos de panadería y repostería.

Los almidones modificados de *D. trifida* presentaron valores de pH cercanos al neutro, lo que es bueno para el almacenamiento de alimentos. La disminución del pH y de la conductividad eléctrica que presentaron los almidones de *D trifida* modificados son propiedades que se pueden aprovechar en los productos cárnicos y mermeladas a nivel industrial.

El comportamiento de la pasta durante el calentamiento y enfriamiento registra viscosidades crecientes en algunas muestras, sin presentar descensos en esta propiedad, lo que se explica por la posible termoresistencia en las moléculas de

amilosa y amilopectina, por lo que serian útiles como espesantes para productos alimentarios (Cremas ligeras, sopas, coladas).

Algunas muestras de almidones de *D. trifida* modificados a 72ºC presentaron porcentajes de sinéresis entre 10 y 50% al ser sometidos a prolongados periodos de refrigeración (a 4ºC) y congelación (a -20ºC) por lo que no son aptos para la elaboración de productos congelados.

Los almidones de *D. trifida* modificados a 50 y 72ºC, presentan mejor comportamiento cuando se utilizan en pegado de madera-madera, mientras que los almidones modificados a 93ºC tienen mejor aplicabilidad en el pegado papel-papel (sellos) y papel-vidrio (rotulado de botellas).

# 6 RECOMENDACIONES

Modificar el almidón de *D. trifida* por otros métodos como oxidación, enlaces cruzados, esterificación, entre otros, para así conferirle propiedades distintas para ampliar su gama de aplicaciones.

Continuar con la evaluación de otras propiedades funcionales, tales como tipo de fluido, viscosidad aparente, afinidad de yodo, resistencia a la acidez, resistencia al corte, entre otras; para complementar el conjunto de posibles usos industriales en los almidones modificados de *D. trifida.*

Realizar pruebas con los almidones modificados de *D. trifida* en procesos alimentarios evaluando la calidad del producto final y así verificar la utilidad de estos almidones en la industria alimenticia y en el desarrollo de nuevos productos en la industria de alimentos y demás sectores industriales como el textil y papelero.

Los almidones modificados de *D. trifida* son una alternativa factible para la producción de pegantes biológicos; para potencializar esta alternativa, se debe buscar la integración con la industria de adhesivos en proyectos de investigación y desarrollo de nuevos productos.

Realizar modificaciones vía enzimática del almidón de *D. trifida* utilizando otras enzimas amilolíticas.

Se recomienda continuar con el estudio de la modificación vía enzimática de las demás especies de ñame existentes en Colombia, y evaluar sus propiedades funcionales, para potenciar sus aplicaciones en diferentes sectores industriales.

# 7 BIBLIOGRAFÍA

ABBEY, B.W. & IBEH, C.O., 1988. Functional properties of raw and heat processed cowpea flour. J. Food Sci. 53(6), 1775-1777, 1791.

AGBOOLA, S.O; AKINGBALA, J.O. & OGUNTIMEIN, G.B. 1991. Physicochemical and functional properties of low DS cassava starch acetates and citrates. Starch/Stärke. 43: 62-66.

ALARCON, F.; DUFOUR, D. 1997. Producción del almidón de yuca en Colombia: Proceso general de extracción. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.

ALEXANDER, R.J. 1992. Maltodextrins: production, properties and applications. In: SCHENK F.W.; HEBEDA R.E. *Starch hydrolysis products.* New York: VCH Publishers. p. 233-275.

ALFA–LAVAL. 1996. Equipment for Starch Production from Fresh Manioc Root.

ÁLVAREZ, A.S. 2000. Practicas agronomicas para el ciultivo de ñame. En: Ñame: Producción de semillas por biotecnología, Guzmán, M., Buitrago, G. (Eds), Unilibros. Bogotá. P. 33-39.

ARISTIZÁBAL, J.A. 2004. Estudio de la viabilidad técnica y económica de la producción de dextrinas a partir de yuca utilizando tecnologías de vía seca. Proyecto CLAYUCA-CIAT. Cali, Colombia.

ARISTIZÁBAL, J.A.; SÁNCHEZ, T. 2007. Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca. Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO No 63. Pp 153.

ASAOKA, M.; BLANSHARD, J.M.V.; RICKARD, J.E. 1992. Effects of cultivar and growth season on the gelatinisation properties of cassava (*Manihot esculenta*) starch. *J. Sci. Food Agric.*, v.59, p53-58.

AYENSU, G. Anatomy of the Monocotyledons. VI. Dioscoreales Oxford University Press. Oxford. 1972. Pp 182

BAUMANN, M.G.D.; CONNER, A.H. 1994. Carbohydrate Polymers as Adhesives. *In:* Pizzi, A.; Mittal, K. L., eds. Handbook of adhesive technology. New York: Marcel Dekker.

BELLO-PÉREZ, L. A; ROGER, P; BAUD, B. & COLONNA, P. 1998. Macromolecular features of starches determined by aqueous highperformance size exclusion chromatography. Journal of Cereal Science 27: 267-278.

BELLO-PÉREZ, L.A; CONTRERAS, S.M; ROMERO, R; SOLORZA, J. & JIMENEZ, A. 2002. Propiedades Químicas y Funcionales del Almidón Modificado de Plátano (Var. Macho). Agrociencia, marzo/abril, año/vol. 36, número 002. colegio de Postgraduados. Texcoco, México.

BEMILLER, J.N. 1997. Starch Modification: challenges and prospects. Starch/Stärke, Weinheim, v.49, n.4, p. 127-131.

CASTELO, L; BATISTA, C; DE MATTOS, C; BLOCH, C; CAMPOS, L. 2004. Identification and characterization of a novel cassava *Manihot esculenta* Crantz clone with high free sugar content and novel starch. *Plant Mol Biol* 56: 643-659.

CEPEDA, I.; DURANGO, A. 1999. Caracterización de almidones oxidados de yuca (*Maniot esculenta crantz*) utilizando hipoclorito de sodio. Trabajo de grado. Universidad de Córdoba. Montería.

CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.; DEMIATE, I.M. 2001. Tecnología, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas. Landi Franco, C.M. y Col. Fundação Cargill. Pp. 246-332.

CHARLEY, H. 1997. Tecnología de Alimentos. Procesos Químicos y Físicos en la Preparación de Alimentos. México. Limusa.

CHEFTEL, J.C.; CHEFTEL, H. 1996. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. Vol. 1.. Ed. Acribia S. A. Zaragoza. España.

DEGRAS, L. 1993, The yam -a tropical root crop, 2nd eds. The Macmillan Press, Ltd, London and Basingstoke, XV + 408 p.

DÍAZ, M.A.; FILELLA, M.I.; VELÁSQUEZ, M.E. 2000. Estudio de la modificación vía enzimática del almidón de yuca para la obtención de maltodextrinas. Biotecnología Colombiana. Universidad Nacional de Colombia.

DUFOUR, D. & HURTADO, J.J. 1999. Análisis Comparativo de las Propiedades Funcionales de Diversos Almidones de Raíces y Tubérculos Autóctonos de Colombia: Potencialidades de Uso.

DURANGO, R.; PADILLA, A. 1998. Caracterización Morfológica de un Banco de Germoplasma de Ñame. Dioscorea spp. Recolectado en la Costa Norte Colombiana. Trabajo de Grado. Universidad de Córdoba. Montería.

EASTMAN, J.E.; MOORE, C.O. 1984. Cold water soluble granular starch for gelled food composition. U.S. Patent 4465702.

ELIASSON, A. & KIM, H.R. 1992. Chnages in rheological properties of hydroxypropyl potato starch pastes during freeze-thaw treatments. I. A rheological approach for evaluation of freeze-thaw stability. PhD Thesis, Department of Food Technology Chemical Center, University of Lund, Sweden, pp 1-19.

ESPITIA, R.; GÓMEZ, F.; SALCEDO, J. 2004. Caracterización y evaluación de las propiedades tecnofuncionales de los almidones de ñame a partir de tres especies (*Dioscorea bulbifera, Dioscorea trifida y Dioscorea esculenta).* Proyecto de Grado. Universidad de Córdoba. Montería.

FANG, J.M.; FOWLER, P.A; TOMKINSON, J.; HILL, C.A.S. 2002. The preparation and characterization of series of chemically modified potato starches. Carbohydr. Polym., Vol. 47, pp. 431-436.

FAO/Fida, 2000. La economía mundial de la yuca: hechos, tendencias y perspectivas. Roma. 60 p.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations)**.** 2005. Estadísticas de producción de cultivos a nivel mundial.

FERRERO, C.; MARTINO, M.N. & ZARITZKY, E. 1993. Stability of frozen starch pastes: effect of freezing, storage and xanthan gum addition. Journal of Food Processing and Preservation. 17: 191-211.

FERRERO, C.; MARTINO, M.N. & ZARITZKY, N.E. 1994. Corn starch-xanthan gum interaction and its efect on the stability during storage of frozen gelatinized suspensions. Starch/Stärke 46(8): 300-308.

FERRIS, S.; MUGANGA, A.; MATOVU, R.; KOLIIJN, S.; HAGENIMANA, V.; KARUNI, E. 2001. Marketing opportunities for Starch and High Quality Flour production from Cassava and Sweetpotato in Uganda. International Institute of Tropical Agriculture (IITA). Resource and Crop Management Research Monograph. 29: pp 88.

FIGUEROA, C.; SÁNCHEZ, C.P. 2004. Producción de maltodextrinas a partir de almidón de yuca utilizando α-amilasa. Ingeniería química, ISSN 0210-2064, Nº. 416, 2004 , pags. 218-220.

FLINT, O. 1996. Microscopía de los Alimentos. Manual de Métodos Prácticos Utilizando de Microscopía Óptica. Ed. Acribia S. A. Zaragoza. España.

GALLANT, D.J.; BOUCHET, B.; BULÉON, A. & PÉREZ, S. 1992. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. Eur. J. Clin. Nutr., Vol. 46, pp. 3-16.

GIDLEY, M.J. 1987. Factors affecting the crystalline type (A-C) of native starches and model compounds: A rationalization of observed effects in terms of polymorphic structures. Carbohydrates Research 161: 301-304.

GORDON, M. Methods of Starch Analysis En: Starch. Vol. 42, No 4. 1990.

HENRISSAT, B. 1991. A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similiarities, *Biochem. J. 280:* 309–316.

HOWLING, D. 1992. Glucose syrup: production, properties and applications. In: SCHENK F.W.; HEBEDA R.E. *Starch hydrolysis products.* New York: VCH Publishers. p. 277-275.

HSU, C.L.; CHEN, W.; WENG, Y.M.; TSENG, C.Y. 2003. Chemical composition, physical properties, and antioxidant activies of yam flours as affected by different drying methods. Food Chemistry. 83, p.85-92.

HURTADO, J.; RODRÍGUEZ, B; DUFOUR, D. 1999. Procesamiento de dos especies de ñame (*Dioscorea alata, D. rotundata*): estudio de la factibilidad técnica y económica para la producción de almidón y harina.

IAL. 1985. Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos. IAL, São Paulo. 371p.

IWUOHA, C.I. 2003. Comparative evaluation of physicochemical qualities of flours from steam-processed yam tubers. Department of Food Science and Technology, Federal University of Technology, Owerri, P.M.B. 1526, Owerri, Imo State, Nigeria. Food Chemistry 85 (2004) 541–551.

JOBLING, S. 2004. Improving starch for food and industrial applications. *Curr Opinion Plant Biol*. 7:210- 218.

KILARA, A.; DESAI, M. 2002. Enzymes. In: *Food Additives*, A.L. Branen, P.M. Davidson, S. Salminen, J.H. Thorngate III (Eds.), Marcel Dekker Inc., New York, USA. pp. 661–706.

KORDYLAS, J.M., 1990, Traditional and industrial processing of tubers. *In*: Processing and preservation of tropical and subtropical foods. Macmillan. Education Ltd. London, pp 34-48, 74-108.

KURIKI, T; IMANAKA, T. 1999. The concept of the α-amylase family: structural similarity and common catalytic mechanism. J. Biosci. Bioeng. 87, 557–565.

LAURO, M., POUTANEN, K. & FORSSELL, P. 2000. Effect of partial gelatinisation and lipid addition on alpha-amylase of barley starch granules. *Cereal Chemistry* 77: 595-601.

LEÓN, J. 1976. Origin, evolution and early dispenal of root and tuber crops. In Symposium of the International Society for Tropical Crops, 4th., 1-7 Aug., Cali, Colombia. Proceedings. Cali, Colombia, ClAT. pp. 20-36.

LESS, R. 1982. Análisis de los Alimentos. Métodos Analíticos y de Control de Calidad. Ed. Acribia. Zaragoza. España.

MADHUSUDHAN, B. & THARANATHAN, R.N. 1995. legume and cereal starches-why differences in digestibility? Carbohydr. Polym., Vol. 28, pp. 153-158.

MARTÍN, J.M.; ORGILÉS, A.C. 1992. *"Adhesión. Tecnología y Fundamentos".* EDITORIAL: INESCOP & Universidad de Alicante.

MESTRES, C.; MOUQUET, C. 1996. Principios fisico-quimicos de la viscosidad de suspensions de almidon. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DE ALMIDÓN. Quito. Anais…Quito. P.23-39.

MILES, M.; MORRIS, V.; ORFORD, P. & RING, S. 1985a. The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrate Research 135*, 271-278.

MILES, M,; MORRIS, V,; ORFORD, P. & RING, S. 1985b. Gelation of amylose. *Carbohydrate Research 135*, 257-269.

MILLER, G.L. 1959. “Dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar”. Analytical Chemistry 31, 426-428.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 2004. Evaluaciones Agropecuarias URPA´s, UMATA´s. - Dirección de Política Sectorial - Grupo Sistemas de Información.

MOORTHY, S.N. 1991. Extraction of Starches from Tuber Crops Using Ammonia. Carbohydrate Polymers 16.

MOURANCHE, A. 1985. Mode d´action des hydrolases. In: MOURANCHE, A; COSTES, C. Hydrolases et dépolymérases. Enzymes d´ interet industriel. Paris:Ed. Gauthier-Villars-Bordas, pp. 13 – 45.

NARAYANA, K.; NARASINGA-RAO, N. S. 1982. Functional properties of raw and processed winged bean (Psophocarpus tetragonolobus) flours. Journal of Food Science, 47, 1534–1538.

NATIONAL STARCH & CHEMICAL INDUSTRIAL Ltda. 1997. Como escolher: um guia professional para amidos alimentícios. São Paulo. 8p

NOVOZYMES A/S. 2002. Ficha técnica Termamyl 120L, tipo L.

OKADA, M.; NAKAKUKI, T. 1992. Oligosaccharides: production, properties and applications. In: SCHENK F.W.; HEBEDA R.E. *Starch hydrolysis products.* Worldwide technology, production, and applications.New York: VCH Publishers. p. 335-366.

OUTTRUP, H.; JORGENSEN, S.T. 2002. The importance of *Bacillus* species in the production of industrial enzymes. *In* Applications and systems of *Bacillus* and relatives. *Edited by* R. Berkley. Blackwell Science Inc., Malden, Mass. pp.206–218.

PANDEY, A.; NIGAM, P.; SOCCOL, C.R.; SOCCOL, V.Y.; SINGH, D.; MOHAN, R. 2000. Advances in microbial amylases. Biotechnol. Appl. Biochem. 31, 135–152.

PEREA, M.; BUITRAGO, G. 2000. Aplicaciones de la Biotecnología Agrícola al cultivo del Ñame. En: Guzmán, M. y Buitrago, G. (Ed). Ñame Producción de semillas por Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia, Santa fe de Bogotá, p.17-32.

PLANCHOT, V.; COLONNA, P.; GALLANT, D,J.; BOUCHET, B. 1995. Extensive degradation of native, granules by alpha-amylasa from *Aspergillus fumigatus.* J. Cereal Sci, Vol. 21, pp. 163-171.

RIEGAL, E.R.; BISSINGER, H.G. 2003. Industrial Fermentation: Principles, Processes and Products. In: *Riegal's Handbook of Industrial Chemistry*, J.A. Kent, (Ed.), Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA. pp. 963–1045.

RODRÍGUEZ, G. 2003. Concepción de un modelo de agroindustria rural para la elaboración de harina y almidón a partir de raíces y tubérculos promisorios, con énfasis en los casos de achira (*Canna edulis*), arracacha (*Arracacia xanthorriza*) y ñame (*Dioscorea spp.*). CORPOICA, Tabaitata. Colombia.

SAMEJIMA, M.; IRATE, G. H.; KOIDA, Y. 1982. Studies on microcapsules. I. Role and effect of coactivation inducing agent in the microcapsule of ascorbic acid by a phase separation method. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 30, 2894–2899.

SCHOCH, T.J. 1968. Effect of freezing and cold storage on pasted starches. In: The Freezing Preservation of Food, D.K. Tressler, W.B. Van Arsdel and M.J. Copley (Eds.), The AVI publishing Co., Westport, Connecticut. Vol. 4, pp. 45 - 56.

SMITH, A. 2005. How plants make and degrade starch granules. In Proceedings Starch Update 2005: The third conference on Starch Technology: 7-13 p. 4-5 november- 2005 Bankok, Thailand.

SOSULSKI, F.W. 1962. The centrifuge methods for determining flour absorption in hard red spring wheat. Cereal Chem. 39, 344.

STEPHENS, J.M. 1994. Cushcush - *Dioscorea trifida* L. Horticultural Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville FL 32611.

SURMELY, R. 1996. Determinación de parámetros experimentales para la conversión enzimática rápida de fécula de mandioca en xirope de maltosa de bajo costo con un perfil adecuado para cervecería. Botucatu: Centro de Raíces y almidones tropicales, universidad Estatal Paulista. Pp. 20.

SURMELY, R. 1997. Producción de hidrolizados a partir de mandioca por proceso enzimatico. Botucatu: Centro de Raíces y almidones tropicales, universidad Estatal Paulista. 125 p. (Velatorio de actividades- programa de recursos humanos con apoyo de empresas- Ministerio de Ciencia y tecnología).

SURMELY, R., ALVAREZ, H.; CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.; 2002. Hidrólise do amido. En: Tecnología, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas. Landi Franco, C.M. y Col. Fundação Cargill. Pp. 377-448.

SWINKELS, J.J.M. 1985. Sources of starch, its chemistry and physic. In: Vanbeynum, G.M.A, Roels, J.A. Starch, sources, chemistry and physics. New York: Marcel Dekker. Pp. 15 – 46.

SWINKELS, J.J.M. 1996. *Industrial starch chemistry*: Properties, modifications and applications of starches. Veedam: AVEBE. 48p.

TEAGUE, W.M.; BRUMM, P.J. 1992. Commercial enzymes for starch hydrolysis products. Pages 45-78 en: *Starch Hydrolysis Products*. Schenk F.W.; Hebeda R.E., Eds. VCH Publishers, New York.

TÉLLEZ, O. & SHUBERT, B.G. 1994. Dioscoreaceae. 251. *In*: G. Davidse, M. Sousa y A. Charter (eds.) Flora Mesoamericana. Universidad Nacional Autonoma de México. México DF. Pp. 53-65.

TESTER, R.F. & KARKALAS, J. 2002. In Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes (De Baets, S., Vandamme, E.J. and Steinbuechel, A., eds.), pp. 381–438, Wiley-VCH, Weinheim.

TESTER, R.F.; KARKALAS, J. & QI, X. 2004. Starch structure and digestibility Enzyme-Substrate relationship. *World's Poul Sci J*, Vol. 60: 186-196.

TETLOW, I; MORELL, M; EMES, M. 2004. Recent developments in understanding the regulation of starch metabolism in higher plants. *J Exp Bot* Vol 55 N° 406 pp 2131- 2145.

THIEBAULT, J.F; COLONNA, P. 1988. Propriétés fontionnelles: pectines et amidon, dans Propriétés fontionnelles des macromoleculas alimentaires. Les cahiers del ´ENSBANA, pp. 157 – 171.

UKPABI U.J.; NDIMELE C. 1990, Evaluation of the quality of gari produced in Imo State. Nigerian Food J. 8, 105-110.

VAN DER BIJ, J. 1976. The analysis of starch derivatives. *In*: Examination and Analysis of Starch. Radley, J. A. (ed.). Applied Science Publishers, Ltd., London, England. pp: 189-213.

WURZBURG, O.B. 1986. Modified starches: properties and uses. Boca Raton: CRC Pres. 277p.

WURZBURG, O.B. 1995. Modified starches. In: Stephen, A.M. (ed.). Food Polysaccharides and their Applications. New York, Marcel Dekker. Pp. 121-145.

ZHENG, B.L, HAN, H.L. & BHATTY, R.S. 1999. Functional properties of cross-linked and hydroxypropylated waxy hull-less barley starches. Cereal Chem. Vol. 76, pp. 182-188.

ANEXOS

## ANEXO 1

Análisis de la Varianza para Equivalente de Dextrosa.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 17780,3 | 1 | 17780,3 | 3610,82 | 0,0000 |
| B | 0,17499 | 1 | 0,17499 | 0,04 | 0,8510 |
| C | 957,834 | 1 | 957,834 | 194,52 | 0,0000 |
| AA | 4146,51 | 1 | 4146,51 | 842,07 | 0,0000 |
| AB | 3,93626 | 1 | 3,93626 | 0,80 | 0,3744 |
| AC | 1163,2 | 1 | 1163,2 | 236,22 | 0,0000 |
| BB | 15,7847 | 1 | 15,7847 | 3,21 | 0,0778 |
| BC | 0,57684 | 1 | 0,57684 | 0,12 | 0,7332 |
| CC | 0,365513 | 1 | 0,365513 | 0,07 | 0,7861 |
| BLOQUES | 0,366777 | 2 | 0,183389 | 0,04 | 0,9635 |
| ERROR TOTAL | 339,768 | 69 | 4,92417 | | |
| TOTAL (CORR) | 24408,8 | 80 | | | |

$R^2$ = 98,608%
$R^2$ (ajustado para g.l.) = 98,4316%
Error Estándar de Est. = 2,21905
Error absoluto de la media = 1,66864
Estadístico Durbin-Watson = 2,29969 (P=0,0558)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,153624

## ANEXO 2

Análisis de la Varianza para Capacidad de Retención de Agua.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 241884,0 | 1 | 241884,0 | 3052,88 | 0,0000 |
| B | 1024,43 | 1 | 1024,43 | 12,83 | 0,0006 |
| C | 422,241 | 1 | 422,241 | 5,33 | 0,0240 |
| AA | 43542,0 | 1 | 43542,0 | 549,56 | 0,0000 |
| AB | 1,91361 | 1 | 1,91361 | 0,02 | 0,8770 |
| AC | 150,063 | 1 | 150,063 | 1,89 | 0,1732 |
| BB | 589,389 | 1 | 589,389 | 7,44 | 0,0081 |
| BC | 664,78 | 1 | 664,78 | 8,39 | 0,0050 |
| CC | 11,8422 | 1 | 11,8422 | 0,15 | 0,7002 |
| BLOQUES | 112,083 | 2 | 56,0415 | 0,71 | 0,4965 |
| ERROR TOTAL | 5466,96 | 69 | 79,2314 | | |
| TOTAL (CORR) | 293869,0 | 80 | | | |

$R^2$ = 98,1397%
$R^2$ (ajustado para g.l.) = 97,9038%
Error Estándar de Est. = 2,21905
Error Estándar de Est. = 8,9012
Error absoluto de la media = 6,62021
Estadístico Durbin-Watson = 1,80371 (P=0,1296)
Autocorrelación residual Lag 1 = 0,0945866

## ANEXO 3

Análisis de la Varianza para Solubilidad a 30ºC.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 36141,1 | 1 | 36141,1 | 9322,99 | 0,0000 |
| B | 2,5992 | 1 | 2,5992 | 0,67 | 0,4242 |
| C | 22,4897 | 1 | 22,4897 | 5,80 | 0,0276 |
| AA | 10959,1 | 1 | 10959,1 | 2827,02 | 0,0000 |
| AB | 1,36013 | 1 | 1,36013 | 0,35 | 0,5614 |
| AC | 24,5388 | 1 | 24,5388 | 6,33 | 0,0222 |
| BB | 0,00358519 | 1 | 0,00358519 | 0,00 | 0,9761 |
| BC | 0,00213333 | 1 | 0,00213333 | 0,00 | 0,9816 |
| CC | 4,6699 | 1 | 4,6699 | 1,20 | 0,2877 |
| ERROR TOTAL | 65,9014 | 17 | 3,87655 | | |
| TOTAL (CORR) | 47221,7 | 26 | | | |

$R^2$ = 99,8604%
$R^2$ (ajustado para g.l.) = 97,9038%
Error Estándar de Est. = 1,9689
Error absoluto de la media = 1,12447
Estadístico Durbin-Watson = 2,4006 (P=0,1328)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,209883

Análisis de la Varianza para Solubilidad a 50ºC.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 37304,6 | 1 | 17780,3 | 5938,30 | 0,0000 |
| B | 5,55556 | 1 | 0,17499 | 0,88 | 0,3602 |
| C | 12,4334 | 1 | 957,834 | 1,98 | 0,1775 |
| AA | 11475,6 | 1 | 4146,51 | 1826,74 | 0,0000 |
| AB | 0,136533 | 1 | 3,93626 | 0,02 | 0,8845 |
| AC | 18,75 | 1 | 1163,2 | 2,98 | 0,1022 |
| BB | 0,00426667 | 1 | 15,7847 | 0,00 | 0,9795 |
| BC | 0,27 | 1 | 0,57684 | 0,04 | 0,8382 |
| CC | 15,8763 | 1 | 0,365513 | 2,53 | 0,1303 |
| ERROR TOTAL | 106,794 | 17 | 4,92417 | | |
| TOTAL (CORR) | 48940,0 | 26 | | | |

$R^2$ = 99,7818%
$R^2$ (ajustado para g.l.) = 99,6663%
Error Estándar de Est. = 2,5064
Error absoluto de la media = 1,39786
Estadístico Durbin-Watson = 2,45415 (P=0,1049)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,229927

Análisis de la Varianza para Solubilidad a 70ºC.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 36659,1 | 1 | 36659,1 | 354,55 | 0,0000 |
| B | 386,42 | 1 | 386,42 | 3,74 | 0,0700 |
| C | 8,79202 | 1 | 8,79202 | 0,09 | 0,7741 |
| AA | 909,381 | 1 | 909,381 | 8,80 | 0,0087 |
| AB | 40,9221 | 1 | 40,9221 | 0,40 | 0,5376 |
| AC | 8,80653 | 1 | 8,80653 | 0,09 | 0,7739 |
| BB | 123,428 | 1 | 123,428 | 1,19 | 0,2898 |
| BC | 17,0408 | 1 | 17,0408 | 0,16 | 0,6898 |
| CC | 136,645 | 1 | 136,645 | 1,32 | 0,2662 |
| ERROR TOTAL | 1757,72 | 17 | 103,396 | | |
| TOTAL (CORR) | 40048,3 | 26 | | | |

$R^2$ = 95,611%
$R^2$ (ajustado para g.l.) = 93,2874%
Error Estándar de Est. = 10,1684
Error absoluto de la media = 6,13457
Estadístico Durbin-Watson = 2,36297 (P=0,1549)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,196026

## ANEXO 4

Análisis de la Varianza para pH.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 0,000474074 | 1 | 0,000474074 | 0,03 | 0,8581 |
| B | 0,156817 | 1 | 0,156817 | 10,65 | 0,0017 |
| C | 0,0170667 | 1 | 0,0170667 | 1,16 | 0,2855 |
| AA | 0,533889 | 1 | 0,533889 | 36,25 | 0,0000 |
| AB | 0,453378 | 1 | 0,453378 | 30,78 | 0,0000 |
| AC | 0,0128444 | 1 | 0,0128444 | 0,87 | 0,3536 |
| BB | 0,0460056 | 1 | 0,0460056 | 3,12 | 0,0816 |
| BC | 0,00321111 | 1 | 0,00321111 | 0,22 | 0,6420 |
| CC | 0,0272222 | 1 | 0,0272222 | 1,85 | 0,1784 |
| BLOQUES | 0,00548889 | 2 | 0,00274444 | 0,19 | 0,8304 |
| ERROR TOTAL | 1,01623 | 69 | 0,0147279 | | |
| TOTAL (CORR) | 2,27262 | 80 | | | |

$R^2$ = 55,284%
$R^2$ (ajustado para g.l.) = 49,6158%
Error Estándar de Est. = 0,121359
Error absoluto de la media = 0,0849611
Estadístico Durbin-Watson = 2,041 (P=0,3453)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,0244059

## ANEXO 5

Análisis de la Varianza para Conductividad Eléctrica.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 187031,0 | 1 | 187031,0 | 408,45 | 0,0000 |
| B | 0,0 | 1 | 0.0 | 0,00 | 1,0000 |
| C | 411,13 | 1 | 411,13 | 0,90 | 0,3467 |
| AA | 28587,1 | 1 | 28587,1 | 62,43 | 0,0000 |
| AB | 13845,4 | 1 | 13845,4 | 30,24 | 0,0000 |
| AC | 747,111 | 1 | 747,111 | 1,63 | 0,2058 |
| BB | 251,877 | 1 | 251,877 | 0,55 | 0,4608 |
| BC | 608,444 | 1 | 608,444 | 1,33 | 0,2530 |
| CC | 73,3395 | 1 | 73,3395 | 0,16 | 0,6902 |
| BLOQUES | 726,247 | 2 | 363,123 | 0,79 | 0,4566 |
| ERROR TOTAL | 31595,6 | 69 | 457,907 | | |
| TOTAL (CORR) | 263877,0 | 80 | | | |

$R^2$ = 88,0264%
$R^2$ (ajustado para g.l.) = 86,5086%
Error Estándar de Est. = 21,3988
Error absoluto de la media = 15,8084
Estadístico Durbin-Watson = 2,47008 (P=0,0089)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,266404

## ANEXO 6

Análisis de la Varianza para Acidez Titulable.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 7,48167 | 1 | 7,48167 | 328,61 | 0,0000 |
| B | 0,00666667 | 1 | 0,00666667 | 0,29 | 0,5902 |
| C | 0,0054 | 1 | 0,0054 | 0,24 | 0,6278 |
| AA | 3,96994 | 1 | 3,96994 | 174,37 | 0,0000 |
| AB | 0,0036 | 1 | 0,0036 | 0,16 | 0,6921 |
| AC | 0,0106778 | 1 | 0,0106778 | 0,47 | 0,4957 |
| BB | 0,0845062 | 1 | 0,0845062 | 3,71 | 0,0582 |
| BC | 0,0711111 | 1 | 0,0711111 | 3,12 | 0,0816 |
| CC | 0,0182617 | 1 | 0,0182617 | 0,80 | 0,3736 |
| BLOQUES | 0,0296395 | 2 | 0,0148198 | 0,65 | 0,5247 |
| ERROR TOTAL | 1,57097 | 69 | 457,907 | | |
| TOTAL (CORR) | 13,2524 | 80 | 0,0227676 | | |

$R^2$ = 88,1458%
$R^2$ (ajustado para g.l.) = 86,6432%
Error Estándar de Est. = 0,150889
Error absoluto de la media = 0,111866
Estadístico Durbin-Watson = 1,78414 (P=0,1098)
Autocorrelación residual Lag 1 = 0,101797

## ANEXO 7

Porcentaje de Sinéresis de los Almidones Modificados de *D. trifida.* a 4ºC.

| % DE SINERESIS a 4ºC | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **MUESTRAS** | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 |
| 503020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 533040 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 503060 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 504020 | 20 | 19 | 19 | 14 | 18 | 18 | 21 | 20 |
| 504040 | 22 | 20 | 25 | 19 | 30 | 28 | 26 | 15 |
| 504060 | 16 | 20 | 29 | 26 | 26 | 22 | 26 | 22 |
| 505020 | 20 | 19 | 15 | 16 | 15 | 15 | 21 | 27 |
| 505040 | 22 | 20 | 18 | 19 | 30 | 28 | 26 | 25 |
| 505060 | 25 | 33 | 30 | 23 | 23 | 18 | 19 | 22 |
| 723020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 723040 | 37 | 46 | 51 | 25 | 42 | 33 | 30 | 34 |
| 723060 | 12 | 32 | 25 | 19 | 17 | 22 | 33 | 16 |
| 724020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 724040 | 19 | 20 | 22 | 18 | 17 | 19 | 19 | 21 |
| 724060 | 37 | 41 | 47 | 36 | 37 | 33 | 31 | 35 |
| 725020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 725040 | 43 | 49 | 62 | 44 | 39 | 20 | 41 | 50 |
| 725060 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 933020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 933040 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 933060 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 934020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 934040 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 934060 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 935020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 935040 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 935060 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Porcentaje de Sinéresis de los Almidones Modificados de *D. trifida* a -20ºC

| % DE SINERESIS a -20ºC | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **MUESTRAS** | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 |
| 503020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 533040 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 503060 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 504020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 504040 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 504060 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 505020 | 9 | 7 | 4 | 9 | 6 | 4 | 6 | 7 |
| 505040 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 505060 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 723020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 723040 | 38 | 41 | 35 | 42 | 33 | 42 | 39 | 34 |
| 723060 | 23 | 28 | 22 | 25 | 24 | 22 | 22 | 25 |
| 724020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 724040 | 2 | 11 | 13 | 5 | 13 | 13 | 10 | 12 |
| 724060 | 45 | 46 | 42 | 53 | 45 | 37 | 23 | 42 |
| 725020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 725040 | 44 | 46 | 42 | 57 | 45 | 42 | 44 | 38 |
| 725060 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 933020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 933040 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 933060 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 934020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 934040 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 934060 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 935020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 935040 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 935060 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

## ANEXO 8

Análisis de la Varianza de la Sinéresis

| FUENTE | SUMAS DE CUAD. | GL | CUADRADO MEDIO | COCIENTE - F | P - VALOR |
|---|---|---|---|---|---|
| Entre grupos | 1898,66 | 15 | 86375,3 | 0,62 | 0,8563 |
| Intra grupos | 84476,7 | 416 | 203,069 | | |
| Total (Corr.) | 86375,3 | 431 | | | |

## ANEXO 9

Análisis de la Varianza para Resistencia a la Esterilización.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 0,5408 | 1 | 0,5408 | 17,46 | 0,0006 |
| B | 0,00142222 | 1 | 0,00142222 | 0,05 | 0,8329 |
| C | 0,0227556 | 1 | 0,0227556 | 0,73 | 0,4032 |
| AA | 0,593252 | 1 | 0,593252 | 19,16 | 0,0004 |
| AB | 0,00520833 | 1 | 0,00520833 | 0,17 | 0,6868 |
| AC | 0,0161333 | 1 | 0,0161333 | 0,52 | 0,4802 |
| BB | 0,0284741 | 1 | 0,0284741 | 0,92 | 0,3510 |
| BC | 0,0408333 | 1 | 0,0408333 | 1,32 | 0,2667 |
| CC | 0,0224074 | 1 | 0,0224074 | 0,72 | 0,4068 |
| ERROR TOTAL | 0,52641 | 17 | 0,0309653 | | |
| TOTAL (CORR) | 1,7977 | 26 | | | |

$R^2$ = 70,7175 %
$R^2$ (ajustado para g.l.) = 55,215%
Error Estándar de Est. = 0,17597
Error absoluto de la media = 0,100453
Estadístico Durbin-Watson = 2,7655 (P=0,0146)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,407568

## ANEXO 10

Análisis estadístico de la estabilidad y claridad de las pastas.

Contraste de Múltiple Rango

| MÉTODO: 95,0 % LSD | FRECUENCIA. | MEDIA | GRUPOS HOMOGÉNEOS |
|---|---|---|---|
| %T a 72h TA | 81 | 36,2691 | X |
| %T a 48h TA | 81 | 39,7605 | XX |
| %T a 72h 4ºC | 81 | 42,9284 | XXX |
| %T a 24h TA | 81 | 43,0222 | XXX |
| %T a 48h 4ºC | 81 | 44,9617 | XXX |
| %T a 24h 4ºC | 81 | 47,4025 | XX |
| %T a 0h TA | 81 | 49,7136 | XX |
| %T a 0h 4ºC | 81 | 50,7136 | X |

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior de la salida muestra la diferencia estimada entre cada para de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 9 pares, indica que éstos muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza 95,0%. En la parte superior de la página, se identifican 4 grupos

homogéneos según la alineación del signo X en la columna. Dentro de cada columna, los niveles que tienen signo X forman un grupo de medias entre las cuales no hay diferencias estadísticamente significativas.

El método actualmente utilizado para discernir entre las medias es el procedimiento de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD). Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar cada par de medias como significativamente diferentes cuando la diferencia real es igual a 0.

| CONTRASTE | DIFERENCIAS | +/- LÍMITES |
|---|---|---|
| %T a 0h 4ºC - %T a 0h TA | 1,0 | 6,96624 |
| %T a 0h 4ºC - %T a 24h 4ºC | 3,31111 | 6,96624 |
| %T a 0h 4ºC - %T a 24h TA | *7,69136 | 6,96624 |
| %T a 0h 4ºC - %T a 48h 4ºC | 5,75185 | 6,96624 |
| %T a 0h 4ºC - %T a 48h TA | *10,9531 | 6,96624 |
| %T a 0h 4ºC - %T a 72h 4ºC | *7,78519 | 6,96624 |
| %T a 0h 4ºC - %T a 72h TA | *14,4444 | 6,96624 |
| %T a 0h TA - %T a 24h 4ºC | 2,31111 | 6,96624 |
| %T a 0h TA - %T a 24h TA | 6,69136 | 6,96624 |
| %T a 0h TA - %T a 48h 4ºC | 4,75185 | 6,96624 |
| %T a 0h TA - %T a 48h TA | *9,95309 | 6,96624 |
| %T a 0h TA - %T a 72h 4ºC | 6,78519 | 6,96624 |
| %T a 0h TA - %T a 72h TA | *13,4444 | 6,96624 |
| %T a 24h 4ºC - %T a 24h TA | 4,38025 | 6,96624 |
| %T a 24h 4ºC - %T a 48h 4ºC | 2,44074 | 6,96624 |
| %T a 24h 4ºC - %T a 48h TA | *7,64198 | 6,96624 |
| %T a 24h 4ºC - %T a 72h 4ºC | 4,47407 | 6,96624 |
| %T a 24h 4ºC - %T a 72h TA | *11,1333 | 6,96624 |
| %T a 24h TA - %T a 48h 4ºC | -1,93951 | 6,96624 |
| %T a 24h TA - %T a 48h TA | 3,26173 | 6,96624 |
| %T a 24h TA - %T a 72h 4ºC | 0,0938272 | 6,96624 |
| %T a 24h TA - %T a 72h TA | 6,75309 | 6,96624 |
| %T a 48h 4ºC - %T a 48h TA | 5,20123 | 6,96624 |
| %T a 48h 4ºC - %T a 72h 4ºC | 2,03333 | 6,96624 |
| %T a 48h 4ºC - %T a 72h TA | *8,69259 | 6,96624 |
| %T a 48h TA - %T a 72h 4ºC | -3,1679 | 6,96624 |
| %T a 48h TA - %T a 72h TA | 3,49136 | 6,96624 |
| %T a 72h 4ºC - %T a 72h TA | 6,65926 | 6,96624 |

* Indica una diferencia significativa.

## ANEXO 11

Análisis de la Varianza para Índice de Hinchamiento.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 56,2224 | 1 | 56,2224 | 12696,04 | 0,0000 |
| B | 0,0668519 | 1 | 0,0668519 | 15,10 | 0,0002 |
| C | 0,00296296 | 1 | 0,00296296 | 0,67 | 0,4162 |
| AA | 11,6806 | 1 | 11,6806 | 2637,68 | 0,0000 |
| AB | 0,00111111 | 1 | 0,00111111 | 0,25 | 0,6180 |
| AC | 0,00111111 | 1 | 0,00111111 | 0,25 | 0,6180 |
| BB | 0,000555556 | 1 | 0,000555556 | 0,13 | 0,7243 |
| BC | 0,01 | 1 | 0,01 | 2,26 | 0,1375 |
| CC | 0,00222222 | 1 | 0,00222222 | 0,50 | 0,4811 |
| BLOQUES | 0,00666667 | 2 | 0,00333333 | 0,75 | 0,4749 |
| ERROR TOTAL | 0,305556 | 69 | 0,00442834 | | |
| TOTAL (CORR) | 68,3 | 80 | | | |

R-cuadrado = 99,5526 por ciento
R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 99,4959 por ciento
Error Estándar de Est. = 0,0665458
Error absoluto de la media = 0,0471879
Estadístico Durbin-Watson = 1,80157 (P=0,1229)
Autocorrelación residual Lag 1 = 0,0966891

## ANEXO 12

Temperaturas de gelatinización y viscosidades reportadas por el Viscoamilógrafo Brabender en los almidones modificados de *D. trifida*

| Identificación | $T_{gel}$ (ºC) | | $F_{Cocc}$ | | $V_{max}$ | | $V_{final}$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | U.B | URV | U.B | URV | U.B | URV | U.B | URV |
| 723040 | 79.75 | 81.60 | 19.50 | | 1090 | | 1060 | 217.67 |
| 724040 | 80.50 | 75.15 | 5.00 | 2.22 | 8 | 33.17 | 0 | -2.42 |
| 724060 | 80.20 | 81.05 | 19.20 | | 910 | | 920 | 155.25 |
| 725020 | 77.20 | 81.65 | 2.20 | 0.68 | 90 | 41.08 | 0 | 0.58 |
| 725040 | 77.20 | 82.70 | 1.20 | 0.65 | 12 | 31.00 | 0 | -2.75 |
| 503020 | 74.50 | 76.75 | 2.50 | 0.72 | 12 | 28.42 | 0 | 0.92 |
| 504040 | 72.25 | 76.55 | 3.50 | 0.85 | 100 | 36.00 | 0 | -2.17 |
| 505020 | 75.25 | 75.40 | 3.50 | 1.11 | 257 | 90.67 | 0 | 2.25 |
| 505060 | 79.00 | 75.65 | 3.00 | 0.98 | 62 | 64.08 | 0 | 0.42 |

## ANEXO 13

Análisis Estadístico de la Temperatura de Gelatinización.

SnapStapt del Análisis de la temperatura de gelatinización.

Media = 76,7778
Mediana = 76,5
Desviación típica = 2,39007
Mínimo = 74
Máximo = 80
Asimetría típica = 0,209363
Curtosis tipificada = - 1,59052

## ANEXO 14

Análisis de la Varianza para Densidad Promedio.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 0,0001805 | 1 | 0,0001805 | 0,75 | 0,3982 |
| B | 0,00143648 | 1 | 0,00143648 | 5,98 | 0,0257 |
| C | 5,E-9 | 1 | 5,E-9 | 0,00 | 0,9964 |
| AA | 0,00789163 | 1 | 0,00789163 | 32,83 | 0,0000 |
| AB | 0,0 | 1 | 0,0 | 0,00 | 1,0000 |
| AC | 0,000609187 | 1 | 0,000609187 | 2,53 | 0,1298 |
| BB | 0,000478827 | 1 | 0,000478827 | 1,99 | 0,1762 |
| BC | 0,00157323 | 1 | 0,00157323 | 6,55 | 0,0204 |
| CC | 0,000539602 | 1 | 0,000539602 | 2,25 | 0,1524 |
| ERROR TOTAL | 0,00408607 | 17 | 0,000240357 | | |
| TOTAL (CORR) | 0,0167955 | 26 | | | |

$R^2$ = 75,6717 %
$R^2$ (ajustado para g.l.) = 62,792%
Error Estándar de Est. = 0,0155035
Error absoluto de la media = 0,00893374
Estadístico Durbin-Watson = 1,94811 (P=0,4533)
Autocorrelación residual Lag 1 = 0,0168237

## Análisis de la Varianza para Densidad Verdadera.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 0,0227556 | 1 | 0,0227556 | 13,08 | 0,0021 |
| B | 0,00568889 | 1 | 0,00568889 | 3,27 | 0,0883 |
| C | 0,0002 | 1 | 0,0002 | 0,11 | 0,7388 |
| AA | 0,0427852 | 1 | 0,0427852 | 24,58 | 0,0001 |
| AB | 0,00154133 | 1 | 0,00154133 | 0,89 | 0,3598 |
| AC | 0,00000533333 | 1 | 0,00000533333 | 0,00 | 0,9565 |
| BB | 0,00371674 | 1 | 0,00371674 | 2,14 | 0,1621 |
| BC | 0,000012 | 1 | 0,000012 | 0,01 | 0,9348 |
| CC | 0,000106963 | 1 | 0,000106963 | 0,06 | 0,8072 |
| ERROR TOTAL | 0,0295856 | 17 | 0,00174033 | | |
| TOTAL (CORR) | 0,106398 | 26 | | | |

$R^2$ = 72,1933 %
$R^2$ (ajustado para g.l.) = 57,4722%
Error Estándar de Est. = 0,0417173
Error absoluto de la media = 0,0263374
Estadístico Durbin-Watson = 2,31166 (P=0,2128)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,162053

## Análisis de la Varianza para Porosidad.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado medio | F-Ratio | P-Valor |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 0,0032805 | 1 | 0,0032805 | 12,89 | 0,0023 |
| B | 0,00000138889 | 1 | 0,00000138889 | 0,01 | 0,9420 |
| C | 0,000174222 | 1 | 0,000174222 | 0,68 | 0,4195 |
| AA | 0,000516463 | 1 | 0,000516463 | 2,03 | 0,1724 |
| AB | 0,0003 | 1 | 0,0003 | 1,18 | 0,2928 |
| AC | 0,000252083 | 1 | 0,000252083 | 0,99 | 0,3336 |
| BB | 0,0000689074 | 1 | 0,0000689074 | 0,27 | 0,6096 |
| BC | 0,000352083 | 1 | 0,000352083 | 1,38 | 0,2558 |
| CC | 0,000249185 | 1 | 0,000249185 | 0,98 | 0,3363 |
| ERROR TOTAL | 0,00432746 | 17 | 0,000254557 | | |
| TOTAL (CORR) | 0,0095223 | 26 | | | |

$R^2$ = 54,5544 %
$R^2$ (ajustado para g.l.) = 30,495%
Error Estándar de Est. = 0,0159548
Error absoluto de la media = 0,0102476
Estadístico Durbin-Watson = 2,20506 (P=0,3028)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,110749