

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Parámetros operativos para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “Oca” (*Oxalis tuberosa*. M.) con enzimas α – amilasa y amiloglucosidasa.
UNSCH – Ayacucho.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO
CON MENCIÓN EN LA ESPECIALIDAD DE BIOTECNOLOGÍA

Presentado por el:

Bach. ESTRADA TOSCANO, Mijael Flavio

AYACUCHO-PERÚ

2017

A Dios.

A mis padres Flavio, Dionisia y hermanas
por su confianza y lealtad.

A mi esposa por fortalecer con una gran
bendición mi razón de vivir.

A la Universidad Nacional de San
Cristóbal de Huamanga.

A la Bella Esmeralda de los Andes, lugar
donde nací y crecí, la cual fue testigo de
mis travesuras, logros y hazañas.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, institución reconocida como el *Alma Mater* de Ayacucho por brindarme su infraestructura, aulas y laboratorios durante mis años de estudiante y por haberme permitido realizar mi tesis.

A la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia, por permitirme el uso de sus laboratorios, equipos y aulas.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, por permitirme el uso de sus laboratorios, equipos y aulas.

Al Msc. Wilfredo Trasmonte Pinday, Co - Asesor, por su amistad incondicional, por brindarme su tiempo, consejo y apoyo en la redacción de este informe.

A la Msc. Vidalina Andía Ayme, asesora, por su amistad incondicional, por sus consejos, por su tiempo y compartir sus experiencias para la realización de este informe.

A la Dra. Roberta Brita Anaya González, por su paciencia y orientación y al Msc. Raúl Antonio Mamani Aycachi, por su tiempo y amistad.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. "Oca" <i>Oxalis tuberosa</i> . M.	6
2.3. Contenido de materia seca en los tubérculos	7
2.4. Contenido de azúcares reductores en el tubérculo	7
2.5. El almidón	8
2.6. Tipos de almidones	9
2.7. Proceso de degradación del almidón	10
2.8. Enzimas	12
2.9. Jarabe de glucosa	13
2.10. Cinética enzimática	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Ubicación de la zona de estudio	17
3.2. Población	17
3.3. Muestra	17
3.4. Metodología	17
3.5. Diseño experimental	20
3.6. Análisis estadístico	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	31
VI. CONCLUSIÓN	35
VII. RECOMENDACIONES	37
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ANEXOS	41

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Características de la α - amilasa	12
Tabla 2. Cinética enzimática de la α – amilasa y glucoamilasa	15
Tabla 3. Datos para el proceso de dextrinización	20
Tabla 4. Datos para el proceso de sacarificación	20
Tabla 4. Preparación de reactivos para la reacción enzimática	43
Tabla 5. Resultados de la prueba con ácido 3, 5 – dinitrosalicílico	54
Tabla 6. Análisis de varianza	55
Tabla 7. Prueba de Tukey	55
Tabla 8. Resultados de la prueba de Tukey	55
Tabla 9. Matriz de consistencia	56

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Curva estándar de glucosa pH 6,2 temperatura 40° C	24
Figura 2. Curva estándar de glucosa pH 6,2 temperatura 50° C	25
Figura 3. Curva estándar de glucosa pH 7 temperatura 40° C	26
Figura 4. Curva estándar de glucosa pH 7 temperatura 50° C	27
Figura 5. Efecto del pH, temperatura y el tiempo de reacción enzimática	28
Figura 6. Determinación de sólidos solubles	29
Figura 7. Diagrama de flujo para la obtención de jarabe de glucosa	42

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo N° 03. Obtención de “oca” (<i>Oxalis tuberosa</i> M.)	43
Anexo N° 04. Proceso de obtención de almidón de “oca”	44
Anexo N° 05. Preparación de la suspensión de almidón, ajuste del pH	45
Anexo N° 06. Adición de α – amilasa	46
Anexo N° 07. Proceso de licuefacción	46
Anexo N° 08. Adición de amilogucosidasa	47
Anexo N° 09. Proceso de sacarificación	47
Anexo N° 10. Proceso de clarificación – centrifugado	48
Anexo N° 11. Proceso de concentración	48
Anexo N° 12. Determinación de grados Brix	49
Anexo N° 13. Equipos y materiales de laboratorio	50

RESUMEN

Con el objeto de evaluar y determinar los parámetros operativos para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “oca” (*Oxalis tuberosa*. M) con enzimas α – amilasa y amiloglucosidasa, se elaboró un protocolo que permitió su obtención. Se trabajó con 7kg de “oca” (*Oxalis tuberosa*. M.) cosechadas del distrito de Uchuraccay y adquiridas en el mercado de abastos de la provincia de Huanta del departamento de Ayacucho, las cuales fueron lavadas, rayadas, extrujadas y sedimentadas con agua de grifo para la obtención del almidón, luego fueron filtradas y secadas en estufa a 60°C por 48 horas. Se trabajó con una suspensión de almidón al 30% (P/V) y se llevó al pH de 6,2 y 7,0 con NaOH (1N) y $C_6H_8O_7$, luego se agregó 40 ppm de $CaCl_2$ y se llevó a baño maría a una temperatura de 40°C y 50° C respectivamente. En el proceso de licuefacción con α – amilasa el valor de dextrosa equivalente obtenido fue de 54,83. Para el proceso de sacarificación con amiloglucosidasa el valor de dextrosa equivalente obtenido fue de 77,75. Los hidrolizados se procedieron a concentrar de manera individual con ayuda de un rotavapor a 50°C por un periodo de 30 – 60 minutos, luego se determinó el porcentaje de sólidos solubles con ayuda de un Refractómetro digital; pH 6,2 T° 40° C = 62%; pH 6,2 T° 50° C = 66%; pH 7 T° 40° C = 63%; pH 7 T° 50° C = 70%.

Palabras clave: *amiloglucosidasa, α – amilasa, sólidos solubles, dextrinización.*

GLOSARIO DE ABREVIACIONES

ANVA	Análisis de varianza
µg	Microgramos
°Brix	Grados Brix
RTAs	Raíces y Tubérculos Andinos
rpm	Revoluciones por minuto
DE	Dextrosa equivalente
AMG	Amiloglucosidasa
cm	Centímetro
SS	Sólidos Solubles
Rx	Reacción
mM	Milimolar
g	Gramos
P/V	Peso sobre volumen
ppm	Partes por millón
DS	Desviación estándar
DNS	Ácido 3,5 - dinitrosalicílico
mg/ml	Miligramos por mililitro
nm	Nanómetros
n	Número de repeticiones
h	Hora
t	Tiempo
%	Porcentaje
NaOH	Hidróxido de sodio
C ₆ H ₈ O ₇	Ácido cítrico
CaCl ₂	Cloruro de calcio
g/L	Gramos por litro
°C	Grados centígrados

I. INTRODUCCIÓN

Las actuales exigencias de los consumidores, constituyen una oportunidad para convertir un cultivo sub-explotado en un producto promisorio, inclusive con perspectivas de exportación, mediante la aplicación de tecnologías como el empleo de enzimas, para conservarlos por largos periodos de tiempo evitando así desecharlos en los campos por el comienzo del proceso de putrefacción y, al ser un producto de insuficiente demanda el desperdicio es aún mayor, provocando el desinterés de cultivar estos tubérculos, delegándolos a la desaparición progresiva de este cultivo.¹

El origen y domesticación de los tubérculos se encuentran en los Andes centrales.

De los cuatro tubérculos andinos (papa, oca, olluco y mashua), solo la papa se ha difundido a nivel mundial, llegando a ocupar el cuarto lugar en importancia después del trigo, arroz y maíz. La “oca” (*Oxalis tuberosa*. M), olluco (*Ullucus tuberosus*) y la mashua (*Tropaeolum tuberosum*) básicamente se han quedado en las alturas de los Andes, cuya conservación y uso se halla relacionado a aspectos socio-culturales de los pobladores andinos. Entre estas especies de tubérculos menores; se muestran altos niveles de nutrición. Sin embargo éstos poseen un valor nutricional tan bueno o mejor que el de la papa (*Solanum tuberosum*).²

Estas especies se asocian con la altitud, se cultivan en pequeñas áreas bajo sistemas de producción tradicionales y en condiciones difíciles, pero es imprescindible para asegurar la diversificación alimentaria y el sustento de las poblaciones que viven en mayor riesgo. Por lo tanto, las razones para promover la producción, conservación y uso de estos tubérculos se basan en fundamentos nutricionales, ecológicos y socio-económicos, que a través de los años continuamente han contribuido a la seguridad alimentaria de los pobladores andinos y son parte de su cultura y expresiones sociales.² Los tubérculos andinos como la oca o hibia (*Oxalis tuberosa* M.), el olluco (*Ullucus tuberosus*) la mashua o cubio (*Tropaeolum tuberosum*) y la papa (*Solanum tuberosum* ssp. andígena), son cultivos de mayor tradición en comunidades altoandinas de Sudamérica. Históricamente los países en donde más recursos se destinan para la

colecta, conservación y utilización de estas plantas tuberosas son Bolivia, Perú y Ecuador; porque se ha considerado que estos países encierran la mayor diversidad de las especies. Las posibilidades de fomentar el uso y el consumo de las Raíces y Tubérculos Andinos (RTAs) va a depender en gran medida del conocimiento que se disponga sobre sus principales componentes químicos y de las características físicas, nutricionales y funcionales que se atribuyen para orientar sus posibles usos y aplicaciones.³ La producción, consumo y utilización de las Raíces y Tubérculos Andinos (RTAs) en el Perú mantienen una tendencia decreciente. En consecuencia, la ampliación de la base alimentaria con las Raíces y Tubérculos Andinos (RTAs) exige la inversión, investigación y extensión, junto con un mejoramiento de los servicios de procesamiento, comercialización y distribución.⁴ A fin de darle un valor agregado a la “oca” (*Oxalis tuberosa* M), se realizó un estudio en la evaluación de parámetros operativos para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “oca”, empleando enzimas α -amilasa y amiloglicosidasa optimizando los parámetros físico-químicos.

Los objetivos del presente trabajo fueron:

Objetivo general

Evaluar y Determinar los parámetros operativos para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “oca” (*Oxalis tuberosa* M.).

Objetivos específicos

1. Determinar el tiempo óptimo de obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “oca” (*Oxalis tuberosa* M.).
2. Determinar el % de jarabe de glucosa obtenida a partir de almidón de “oca” (*Oxalis tuberosa* M.).
3. Determinar la producción de biomasa obtenida a partir de almidón de “oca” (*Oxalis tuberosa* M.).

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

En una investigación realizada sobre la producción de glucosa a partir de almidón utilizando la hidrólisis enzimática, se probaron muchas variables como enzimas obtenidas de *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis* y *Aspergillus oryzae*, a diferentes temperaturas, pH y concentraciones de sustrato, y se estandarizó condiciones de proceso, permitiendo que sirvan como parámetro, para el diseño tanto del proceso como de los equipos necesarios para industrializar la producción de la glucosa, utilizando como sustrato el almidón de yuca producido en el Cauca. Esta hidrólisis de almidón de yuca (*Manihot esculenta Crantz*) producido en el departamento del Cauca por la Cooperativa de Rallanderos (COPRACAUCA), con enzimas comerciales α - amilasa BAN 480 de *Bacillus amyloliquefaciens* y amiloglucosidasa AMG 300 L de *Aspergillus niger*. Después de realizada la hidrólisis completa del almidón el jarabe se filtró para ser sometido a tratamiento térmico de 85 °C por 5 minutos, se concentró y cristalizó obteniéndose un producto con un valor Dextrosa Equivalente (DE) cercano a 90%.⁵

En los laboratorios de la Facultad de Ingeniería Pesquera y de Alimentos de la Universidad Nacional del Callao y en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, se extrajo el almidón y evaluó la hidrólisis química, también la hidrólisis enzimática; con ácido clorhídrico al 1% y α - amilasa al 1%, y a 65 °C y 90 °C; en suspensiones de almidón de maíz morado *Zea mays*. L al 30%. Se logró un mejor resultado, en la hidrólisis enzimática incorporando una pre gelificación del almidón antes de incorporar la enzima α - amilasa, obteniendo una hidrólisis del almidón nativo hasta en 24 % de azúcares solubles para constituir un jarabe a partir del almidón del maíz morado *Zea mays*. L de superior calidad.⁶

En los estudios realizados sobre la utilización del “banano” (*Musa cavendishii*) para la conversión de su almidón en jarabe de glucosa, por medio enzimático. Previo a la

hidrólisis se preparó un sustrato mediante lavado y secado. El proceso de hidrólisis se realizó en dos etapas. En la primera se utilizó α -amilasa proveniente de *Bacillus amyloliquefaciens*; la cual permitió degradar el almidón hasta dextrinas. En esta etapa se realizaron pruebas para calcular el tiempo óptimo de hidrólisis, el cual fue de 2 horas. También se analizaron las dextrinas obtenidas de la hidrólisis mediante cromatografía de permeación en gel, siendo estas de 9, 10 y 11 unidades de glucosa. En la segunda etapa del proceso se utilizó amiloglucosidasa proveniente de *Aspergillus niger*. En esta etapa se realizó un diseño experimental completamente al azar con modelo factorial de 3^2 correspondiente a la combinación de tiempo y cantidad de enzima, con dos repeticiones. Las variables estudiadas fueron rendimiento y cristalinidad. El tratamiento recomendado fue de 1,5 ml de enzima y 14 horas de hidrólisis. Tratamiento que corresponde a un rendimiento de glucosa del 90,14 %.⁷

En otra investigación realizada sobre la obtención de jarabe de glucosa a partir de la hidrólisis enzimática del almidón de chuño y tunta se realizó como una alternativa de edulcorante frente al jarabe comercial de maíz que hoy predomina en el mercado de los edulcorantes. El almidón de chuño y tunta es de gran interés por presentar una fracción considerable de amilosa, proteína y grasa sin necesidad de realizar procesos de desproteinizado y desengrasado del almidón para efectuar la hidrólisis enzimática. Por lo que se determinó la amilosa y amilopectina en el almidón de chuño y tunta con la finalidad de realizar la hidrólisis enzimática del almidón en licuefacción y sacarificación, determinando el mayor grado de hidrólisis expresado en dextrosa equivalente, por otra parte se evaluó sus características de color y viscosidad en comparación al jarabe comercial. El porcentaje de amilosa determinado en el almidón de chuño y tunta fue mayor al del almidón químicamente puro. Sin embargo el mayor grado de hidrólisis en la licuefacción del almidón obtenido del chuño y tunta se dió a través de la medida del porcentaje de azúcares reductores presentes en las maltodextrinas, cuantificada como dextrosa equivalente, la cual es mayor a las maltodextrinas del maíz. Asimismo la mayor eficacia de hidrólisis en la sacarificación de maltodextrina, se obtuvo bajo condiciones dependientes de la enzima glucoamilasa, tiempo y temperatura cuantificado en 40.74% y 38.49% dextrosa equivalente para obtener jarabe de glucosa de chuño y tunta respectivamente, este valor es ligeramente cercano a una conversión normal de jarabe de glucosa. Finalmente los jarabes de glucosa de chuño y tunta presentaron una viscosidad baja y un color en unidades de densidad óptica similar al del jarabe de glucosa de maíz.⁸

En otro trabajo de investigación se planteó el objetivo de determinar el rendimiento de glucosa por hidrólisis enzimática de tres almidones: yuca (*Manihot esculenta*), camote (*Ipomoea batatas*) y papa (*Solanum tuberosum*). Se han empleado 5 Kg de cada tubérculo, se lavaron y pelaron para proceder a extraer el almidón, reportando el rendimiento de almidón obtenido por Kg de materia prima empleada. Las enzimas empleadas fueron: Amylyve A30, una amilasa de origen bacteriano; y Amylyve AG 400L, una glucoamilasa de origen fúngico. Las dosis recomendadas fueron 3 gramos por Kg de almidón para la alfa amilasa, y 2 gramos por Kg de hidrolizado para la glucoamilasa. Los ensayos fueron realizados con 150 gramos de muestra contenidos en una suspensión de 20% de almidón en agua. La hidrólisis enzimática se realizó en tres etapas sucesivas, utilizando para ello un agitador orbital, con regulación de temperatura hasta 150°C. La velocidad de agitación fue 300 rpm. La gelatinización se realizó a 90°C durante 30 minutos. Luego la licuefacción con la enzima alfa amilasa se realizó a 70°C, con ajuste de pH a 6,0 y durante un tiempo de 120 minutos. La sacarificación se realizó con la adición de la enzima glucoamilasa a 65°C, con ajuste de pH a 4,8 y durante un tiempo de 24 horas. Después de la licuefacción y sacarificación se filtró el hidrolizado y se procedió a medir el porcentaje de azúcares reductores y °Brix. Los tres almidones demostraron ser materias primas alternativas para la producción de glucosa, llegando a obtener valores comparables con los obtenidos industrialmente con almidón de maíz, uno de los almidones más empleados. No obstante, el almidón de yuca demostró mayor rendimiento, dando un valor de 91,72% respecto al teórico. Después de la etapa de licuefacción, rindió un Equivalente de Dextrosa promedio de 13,68; y en la etapa de sacarificación el valor de Equivalente de Dextrosa fue de 89,54.⁹

Por otra parte en un estudio sobre la elaboración de jarabe de glucosa partiendo de almidón de camote (*Ipomoea batata* L.), teniendo en cuenta la búsqueda de alternativas de uso mediante su industrialización, produciendo jarabe de dextrina y glucosa con el almidón de camote. Se observó su rendimiento, se comparó el costo de producirlo con el costo de importar el jarabe comercial y se evaluó sus propiedades físicas y químicas. En la Planta de Procesamiento de frutas y hortalizas de la ciudad de Zamorano se realizó la extracción del almidón por el método de Carver modificado y en el Centro de Evaluación de Alimentos se convirtió a jarabe de glucosa por hidrólisis y sacarificación enzimática. Se encontró que se puede extraer almidón de camote con un color muy similar al almidón de maíz, con un rendimiento en base seca de 20%. Se evaluó con el viscosímetro, colorímetro y una prueba Lane-Eynon para determinar su viscosidad, color y contenido de glucosa. El jarabe producido con almidón de camote rinde 15% sobre el

peso inicial de la pasta, tiene menor viscosidad, menor contenido de glucosa y un color más opaco y amarillo que el jarabe de almidón de maíz.¹⁰

2.2. “Oca” *Oxalis tuberosa*. M.

Esta especie es conocida como “oca” en Perú, Bolivia, Ecuador, Chile y Argentina, como “ibia” en Colombia, como “cuiba” “quiba” o “ciuba” en Venezuela y como “papa extranjera” o “papa roja” en México. Su nombre Quechua es “o’qa” y en Aymara “api a”, “apilla”, o “kawi”.¹¹

El padre jesuita Giovanni Ignacio Molina fue quien hizo la primera descripción taxonómica de la “oca” en 1810. La “oca” crece entre los 3000 y 4000 msnm, es originaria del Altiplano peruano – boliviano y crece en ambientes templados – fríos.

La mayor variabilidad se encuentra en los valles de Cusco y Ayacucho en el Perú así como en el altiplano boliviano.¹²

2.2.1. Taxonomía.

El nombre “oca” proviene de la palabra Quechua “Okka”, “oqa” o “uqa”. Según Chase & Raveal (2009) la oca se clasifica de la siguiente manera:

REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Equisetophyta
CLASE	: Equisetopsida
SUBCLASE	: Magnolidae
SUPERORDEN	: Rosanae
ORDEN	: Oxalidales
FAMILIA	: Oxalidaceae
Género	: Oxalis
Especie	: <i>Oxalis tuberosa</i> Molina.

2.2.2. Morfología vegetativa.

La oca es una especie dicotiledónea de hábito vegetativo herbáceo anual. Presenta una reproducción asexual por medio de tubérculos. El tallo es aéreo, herbáceo, cilíndrico y succulento, puede ser simple o ramificado. Comúnmente fasciados, planos y de estrías longitudinales.¹² La epidermis es densamente pubescente. Esta pubescencia se encuentra distribuída uniformemente por toda la planta, aunque aparentemente parece más densa en el ápice por los entre nudos cortos.¹² Las hojas son trifoliadas, alternas y pinnaticompuestas. Presentan pubescencia en la cara superior y el color varía entre verde a púrpura, la parte superior es glabra.^{13,14}

Los tubérculos presentan hojas escamosas que ocultan los ojos que presentan verdaderos meristemas primarios.¹⁴

2.2.3. Morfología floral.

El tipo de inflorescencia es muy variable. En algunos casos es umbeliforme y en otros se presentan cimas irregulares. Cada inflorescencia lleva de 5 a 12 flores pedunculadas. Las flores son pentámeras y bisexuales. Presentan una coloración amarillo-anaranjada pronunciado. El cáliz está constituido de cinco sépalos imbricados y soldados entre sí. La corola está formada por cinco pétalos festoneados de color amarillo-anaranjado, recorridos en todo su largo por delgadas estrías púrpuras.¹⁴ Los estambres se encuentran en número de 10, y son del tipo monadelfo. En la madurez presentan una dehiscencia longitudinal. El gineceo está constituido de un pistilo compuesto de 5 carpelos (pentiloculado) soldado axilarmente. Tiene ovario súpero que aloja en su interior de 20 a más óvulos anátropos sujetos a la placenta central. Las flores de *Oxalis tuberosa* M. presentan heterostilia también llamada hercogamia recíproca, esta es una estrategia que presentan aquellas flores en las cuales las anteras y estigmas están muy separados unos de otros, generalmente reduce la autopolinización intrafloral, tal como la dicogamia. La oca presenta tristilia, es decir tiene tres tipos diferentes de flores según el largo del estilo: longistilias, si el estilo es mayor que la columna estaminal; mesostilias, si el estilo está al mismo nivel de la columna estaminal, y brevistilia si el estilo es menor que la columna estaminal. Se ha comprobado que estas tres formas tienen estrecha relación con el color de los tubérculos: las flores longistilias corresponden a la variedad de tubérculos amarillos; las mesostilias, a los blancos, y las brevistilias, a los rojos.¹⁵

2.2.4. Morfología del fruto.

El fruto es una cápsula con dehiscencia loculicida que a la madurez expele la semilla en forma explosiva, estas semillas se forman en número de uno a tres o más en cada lóculo, son elipsoidales, de superficie granulosa y de color amarillentas. Los tubérculos presentan formas variables pudiendo ser cilíndricos, ovoides, claviformes o elipsoidales.¹⁵

2.3. Contenido de materia seca en los tubérculos.

Existen algunos factores que influyen como: las prácticas de cultivo, clima, tipo de suelo e incidencia de plagas y enfermedades. Varios estudios han demostrado la elevada correlación entre el contenido de la materia seca y gravedad específica del tubérculo¹⁶. Una "oca" con alto contenido de materia seca resulta con una apariencia más harinosa después de cocida.¹⁷

2.4. Contenido de azúcares reductores en el tubérculo.

El contenido de azúcares reductores en el tubérculo al momento de la cosecha dependerá de la madurez del cultivo. Para obtener una instantánea indicación del contenido se puede utilizar cintas de glucosa. El método en laboratorio usa el ácido

pícrico que reacciona con los azúcares reductores, formando un picramato de color rojo intenso que es leído en un colorímetro de 510 nm.¹⁷

2.5. El almidón.

El almidón es el principal polisacárido de reserva de la mayoría de los vegetales, y la fuente de calorías más importante consumida por el ser humano. Es un constituyente imprescindible en los alimentos en los que está presente, desde el punto de vista nutricional.

El almidón está compuesto fundamentalmente por glucosa. Aunque puede contener una serie de constituyentes en cantidades mínimas, estos aparecen a niveles tan bajos, que es discutible si son oligoconstituyentes del almidón o contaminantes no eliminados completamente en el proceso de extracción. Los almidones de los cereales contienen pequeñas cantidades de grasas. Los lípidos asociados al almidón son, generalmente, lípidos polares, que necesitan disolventes polares tales como metanol-agua, para su extracción. Generalmente el nivel de lípidos en el almidón cereal, está entre 0,5 y 1 %. Los almidones no cereales, no contienen esencialmente lípidos. Químicamente es una mezcla de dos polisacáridos muy similares, la amilosa y la amilopectina; contienen regiones cristalinas y no cristalinas en capas alternadas. Puesto que la cristalinidad es producida por el ordenamiento de las cadenas de amilopectina, los gránulos de almidón céreo, tienen parecido grado de cristalinidad que los almidones normales. La disposición radial y ordenada de las moléculas de almidón en un gránulo resulta evidente al observar la cruz de polarización (cruz blanca sobre un fondo negro) en un microscopio de polarización cuando se colocan los polarizadores a 90° entre sí. El centro de la cruz corresponde con el hilum, el centro de crecimiento del gránulo.¹⁸

2.5.1. Amilosa.

Es el producto de la condensación de D-glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$, que establece largas cadenas lineales con 200-2500 unidades y pesos moleculares hasta de un millón; es decir, la amilosa es una α -D-(1,4)-glucana cuya unidad repetitiva es la α -maltosa. Tiene la facilidad de adquirir una conformación tridimensional helicoidal, en la que cada vuelta de hélice consta de seis moléculas de glucosa. El interior de la hélice contiene solo átomos de hidrógeno, y es por tanto lipofílico, mientras que los grupos hidroxilo están situados en el exterior de la hélice. La mayoría de los almidones contienen alrededor del 25% de amilosa. Los dos almidones de maíz comúnmente conocidos como ricos en amilosa que existen comercialmente poseen contenidos aparentes de masa alrededor del 52 % y del 70 - 75 %).¹⁸

2.5.2. Amilopectina.

La amilopectina se diferencia de la amilosa en que contiene ramificaciones que le dan una forma molecular a la de un árbol; las ramas están unidas al tronco central

(semejante a la amilosa) por enlaces α -D-(1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa. Su peso molecular es muy alto ya que algunas fracciones llegan a alcanzar hasta 200 millones de daltones. La amilopectina constituye alrededor del 75 % de los almidones más comunes.

Algunos almidones están constituidos exclusivamente por amilopectina y son conocidos como céreos. La amilopectina de patata es la única que posee en su molécula grupos éster fosfato, unidos más frecuentemente en una posición 0-6, mientras que el tercio restante lo hace en posición 0-3.

El almidón tiene muchas utilidades y se puede diferenciar tanto sus propiedades nutricionales, como sus beneficios en la industria alimentaria. En la industria alimentaria se utiliza el almidón como espesante, gelificante y aglutinante, como conservante de pan, y para elaborar embutidos y fiambres. Por propiedades nutricionales, el almidón es una fuente de energía sumamente importante. El almidón cuando toma contacto con las enzimas del organismo es metabolizado a glucosa (azúcar utilizado por las células y por los órganos para funcionar correctamente) y pasa lentamente a la sangre para ser utilizado como combustible para obtener energía en las células del cuerpo.¹⁸

2.6. Tipos de Almidones.

2.6.1. Almidón resistente.

El almidón resistente es la porción de almidón y los productos de almidón que resisten la digestión. Es la suma de almidones y productos de la digestión de almidones no absorbidos por el intestino delgado. No se trata de un tipo de almidón nuevo. Su interés radica en que podría reducir la curva de glucosa, por lo que podría usarse en enfermedades como la diabetes. El almidón resistente es simplemente un almidón que resiste la digestión, por lo que alcanza el intestino grueso intacto o casi intacto. Allí sirve como sustrato a las bacterias intestinales.¹⁸

2.6.2. Almidón modificado.

Se dan porque, los almidones nativos, no resisten mucho al calentamiento prolongado (esterilización de diversas conservas, platos cocidos con salsas, alimentos infantiles, etc.), se genera un estallido de los gránulos, una solubilización e hidrólisis parcial de las moléculas constitutivas y un descenso de la viscosidad.

Para evitar esto, el almidón es sometido a una modificación química consistente en reticulaciones. Una baja proporción de reticulación estabiliza el estallido de los gránulos hinchados y permite mantener una viscosidad elevada, mientras que una mayor proporción de reticulación, protege al almidón contra un calentamiento prolongado.

Así tenemos que el almidón modificado prolonga la vida útil de los alimentos, garantiza la calidad de los mismos al mejorar la textura, brindar un mayor sabor y resiste a los procesos de cocción o calentamiento. También se fabrican almidones de papa

modificados para aplicaciones específicas que mejoran los rendimientos de papa natural. El almidón modificado es un almidón alterado por procesos mecánicos o químicos para hacerlo más estable y adecuado para su ingesta, por cierto que este no se debe confundir con el almidón modificado genéticamente.¹⁸

2.6.3. Almidón extrusionado.

La extrusión es un proceso que nos permite mejorar la calidad biológica de la mayoría de las materias primas que se utilizan en la elaboración de compuestos mediante la cocción a temperatura, humedad y presión muy altas durante un periodo de tiempo muy corto.

Los efectos de la extrusión y esterilización de los productos, la elevada presión y temperatura permiten destruir los microorganismos.

La gelatinización de los granos de almidón (amilosa + amilopectina) consiste en la alteración de los enlaces de hidrógeno entre las cadenas de polímeros alterando la estructura semi-cristalina de los gránulos de almidón, debilitándolos y convirtiéndolos en más digeribles y eficaces en el sistema digestivo.

Destrucción de las paredes celulares facilitando la disposición de los nutrientes en el intestino y haciendo que sean más disponibles para el ataque enzimático, aumentando pues la digestibilidad de la energía y de las proteínas.¹⁸

2.7. Proceso de degradación del almidón.

2.7.1. Hidrólisis química del almidón.

Los oligosacáridos pueden descomponerse por hidrólisis de los enlaces glucosídicos entre residuos, en oligosacáridos más pequeños, así como en disacáridos o monosacáridos. Su digestión dentro de las células, o en las cavidades digestivas, consiste en una hidrólisis catalizada por enzimas digestivas (hidrolasas) llamadas genéricamente glucosidasas, que son específicas para determinados polisacáridos y, sobre todo, para determinados tipos de enlace glucosídico. Así, por ejemplo, las enzimas que hidrolizan el almidón, cuyos enlaces son del tipo llamado $\alpha(1\sim4)$, no pueden descomponer la celulosa, cuyos enlaces son de tipo $\beta(1\sim4)$, aunque en los dos casos el monosacárido sea el mismo.

La hidrólisis es una reacción química que desdobla cadenas largas de polisacáridos por la acción del agua para producir cadenas más pequeñas o carbohidratos simples. Los productos resultantes son asignados un valor de equivalencia en dextrosa (DE) que está relacionado al nivel de hidrólisis realizado. Un DE con valor de 100 corresponde al almidón completamente hidrolizado, que es la glucosa pura.¹⁹

La modificación por hidrolización y selección de las fracciones de amilopectina sobre las de amilosa, consigue obtener un almidón de especiales características muy ventajosas para su empleo como suplemento dietético deportivo, muy por encima de los

tradicionales suplementos de carbohidratos. Desde hace más de 40 años se han empleado como bebidas de reposición energética e hídrica, carbohidratos de bajo peso molecular por su buena digestibilidad, solubilidad y sabor agradable; estos son la glucosa, la fructosa y la sacarosa, sobre todo. Estos carbohidratos tan simples tienen, sin embargo dos problemas: primero, que su osmolaridad es demasiado alta (no se pueden concentrar demasiado en el agua sin ser indigestos), produciendo diarreas y flatulencia y dificultando su disposición a efectos de recarga energética e hidratación; segundo, que su índice glicémico es demasiado alto, con algunas desventajas consecuentes tales como la hiperglucemia reactiva e incluso la lipogénesis o acúmulo de grasa. Los almidones modificados solucionan estos problemas porque su peso molecular es muy alto (medida de la fuerza que hace sobre el medio en el que se encuentra) está, en el caso del almidón de patata, entre los 500,000 y 700,000 produciendo una presión osmótica baja que facilita el vaciado del estómago y mejora la disponibilidad al intestino y luego al hígado y sangre, hasta llegar al músculo. La elevada cantidad proporcional de amilopectinas tiene mucho que ver con esto.

Así pues, la baja osmolaridad provocada por el alto peso molecular de las fracciones de amilopectina presentes en el almidón de la patata hidrolizado, supone que la mezcla de este carbohidrato con agua consigue un vaciado gástrico rápido que pone dicho nutriente en disposición de ser utilizado por las células, además de evitar las molestias digestivas durante o después del esfuerzo. Es de destacar también que posiblemente otros nutrientes puedan acompañar a esta mezcla, haciéndola más completa.

La mayoría de los pasos de la degradación de almidón a glucosa puede ser catalizado por tres enzimas distintas, si bien hay otras más que se necesitan para completar el proceso.¹⁹

2.7.2. Hidrólisis enzimática del almidón.

Las tres primeras enzimas son una α -amilasa, β -amilasa y almidón fosforilasa, al parecer solo la α -amilasa puede atacar gránulos de almidón intactos, por lo que cuando participan la β -amilasa y la almidón fosforilasa, es probable que actúen sobre los primeros productos liberados por la α -amilasa. La α -amilasa ataca de manera aleatoria enlaces 1,4 en las moléculas de amilosa y amilopectina, al principio creando huecos al azar en los granos de almidón y liberando productos que aún son grandes. En cadenas de amilosa no ramificadas, el ataque repetido por la α -amilasa produce maltosa, un disacárido que contiene dos unidades de glucosa. Sin embargo, la α -amilasa no puede atacar los enlaces 1,6 localizados en los puntos de ramificación de la amilopectina, por lo que la digestión de amilopectina cesa cuando aún quedan dextrinas ramificadas con cadenas de longitud corta. Muchas α -amilasas son activadas por Ca^+ , lo cual es una de las razones por las que el calcio es un elemento esencial. La α -amilasa hidroliza al

almidón en α -maltosa; la enzima actúa primero solo sobre los extremos no reductores. La α -maltosa cambia con rapidez, por mutarrotación, para formar las mezclas naturales de isómeros α y β . La hidrólisis de amilosa por la α -amilasa es casi completa, pero la degradación de amilopectina es incompleta porque no son atacados los enlaces de los puntos de ramificación. La actividad de ambas amilasas implica la incorporación de una molécula de H_2O por cada enlace roto, por lo que son enzimas hidrolasas. Las reacciones hidrolíticas no son reversibles, de modo que no se pueden detectar síntesis de almidón por amilasas. Las amilasas están diseminadas en diversos tejidos pero son más activas en las semillas que están germinando, ricas en almidón. Es probable que la α -amilasa tenga más importancia que la β -amilasa para la hidrólisis de almidón. Gran parte de la α -amilasa se localiza dentro de los cloroplastos, muchas veces unida a los granos de almidón que atacara. Actúa tanto en el día como por la noche aunque, por supuesto, durante la luz del día hay producción neta de almidón por la fotosíntesis. La amilopectina solo es degradada parcialmente por la acción del almidón fosforilasa. La reacción procede de manera consecutiva a partir del extremo no reductor de cada cadena principal o cadena ramificada hasta a unos residuos de glucosa de las uniones α -1,6 de las ramificaciones, por lo que de nuevo quedan dextrinas. La amilosa, que tiene pocas ramificaciones, se degrada por completo, por eliminación repetida de unidades de glucosa a partir del extremo no reductor de la cadena.

La almidón fosforilasa está ampliamente distribuida en la planta y a veces resulta difícil determinar la enzima que digiere la mayor parte del almidón en las células de interés.¹⁹

2.8. Enzimas

2.8.1. La α – amilasa.

Las α – amilasas hidrolizan los enlaces α – 1,4 del interior del almidón (tanto en amilosa como en amilopectina), del glucógeno y de las ciclodextrinas, manteniendo la configuración α del carbono anomérico. Dado que es una enzima “endo”, su acción tiene un gran efecto sobre la viscosidad de los alimentos que tienen el almidón como base. Algunas α – amilasas microbianas tienen temperaturas altas de inactivación y si no se han inactivado, pueden tener efectos muy indeseables sobre la estabilidad de los alimentos cuya base sea el almidón.²⁰

CARACTERÍSTICA	ACCIÓN
Especificidad	Enlace 1 – 4 glucosídico
Mecanismo	Endoamilasas
Principal producto de la hidrólisis	Dextrinas
Disminución de la viscosidad	Rápida

Pérdida del color del yodo	Rápida
Aumento del poder reductor	Lenta
Producción de glucosa	Lenta
Producción de maltosa	Lenta
Producción de dextrinas	Rápida

La acción de las enzimas amilasas sobre una sustancia se cuantifica en unidades de actividad amilolítica, la cual se define como la cantidad de enzima que se requiere para hidrolizar 1g de almidón en solución para que llegue a dextrinas a 30°C por un tiempo de una hora. Esta actividad se expresa en unidades de enzima por gramo de almidón preparado.²⁰

2.8.2. La Amiloglucosidasa.

Las glucoamilasas (α - 1,4 glucan - glucanohidrolasas) actúan sobre el almidón cortando unidades de glucosa a partir del extremo no reductor. La maltosa se degrada solo lentamente, mientras que los polisacáridos ramificados con uniones 1,6 muy lentamente son atacados. Por tanto glucosa, maltosa y dextrinas límite son los productos finales de la acción de la glucoamilasa.

Esta enzima, también llamada glucoamilasa, tiene la capacidad de hidrolizar tanto los enlaces α (1,4) y α (1,6) de las glucanas; su acción prolongada puede causar la ruptura total del almidón, por lo que se emplea en la fabricación de los jarabes de glucosa. Es un reactivo desarrollado para la determinación de almidones. Se comercializa en suspensión.²¹

Características de la amiloglucosidasa

La glucoamilasa presenta baja especificidad de sustrato, además de su cadena de corte de la llave terminal no reductor del almidón a α - 1,4, también puede ralentizar o cortar en α - 1,6. Por lo tanto, se puede poner rápidamente amilosa desde el extremo no reductor donde no se cortaron las unidades, frente a 1,6 trino, la primera de un trino - 1,6, a continuación, un 1,4 trino, de modo que ramifica la hidrólisis del almidón en glucosa. Valor óptimo de pH alrededor de 4,0 - 4,5 y de temperatura 60°C.²¹

2.9. Jarabe de Glucosa.

La definición técnica de jarabe de glucosa es, solución acuosa concentrada y purificada de sacáridos nutritivos con dextrosa equivalente (D.E) de 20 a más, obtenido por hidrólisis de almidón, la caracterización de los jarabes de glucosa es de cuatro tipos:

- Jarabes de tipo I con D.E de 20 - 38.
- Jarabes de tipo II con D.E de 38 - 58.
- Jarabe de tipo III con D.E de 58 - 73.

- Jarabe de tipo IV con D.E superior a 73.

Teniendo presente que la dextrosa equivalente viene a ser el índice de los azúcares reductores totales calculados como D – glucosa; la glucosa se produce fundamentalmente por la hidrólisis enzimática del almidón de acuerdo con la siguiente reacción:



Comúnmente los jarabes de glucosa se producían por hidrólisis ácida, lamentablemente este método no generaba gran rendimiento debido a que no era posible alcanzar equivalentes de dextrosa superiores a 55 sin que aparecieran sabores desagradables. La α – amilasa y la glucoamilasa (amiloglucosidasa) son probablemente las enzimas más usadas en la industria del almidón, siendo además relativamente de costo promedio bajo.

La dextrosa equivalente (D.E) se define como el índice de los azúcares reductores totales, calculados como D – glucosa en base a peso seco. El valor de D.E. está relacionado inversamente en base al grado de polimerización. Un almidón no hidrolizado tiene un D.E. virtualmente igual a cero, mientras que la D.E. de la glucosa anhidra está definida como 100.²²

2.9.1. Usos y aplicaciones de los jarabes de glucosa.

Existen dos aplicaciones para los hidrolizados de alta conversión; uno es como fuente de D – glucosa para la manufactura de jarabe y el segundo es como una fuente de dextrosa cristalina. En ambas aplicaciones son económicas y funcionalmente ventajosas para proveer el contenido de sustancia seca más alta y el más alto grado de conversión de D – glucosa sin la formación de impurezas tales como ácidos orgánicos, cenizas y productos coloreados.

El jarabe de conversión regular es un producto que no se cristaliza, con sabor ligeramente dulce y suave. Es particularmente útil porque evita y controla la cristalización de azúcar en dulces y helados, retiene la humedad, exalta sabores, contribuye a dar cuerpo o aumentar la viscosidad y proporcionar calorías en forma de carbohidratos. Además de sus aplicaciones el jarabe de glucosa tiene varios usos industriales siendo los más prominentes adhesivos, curtiembre, plateado de metales y tabaco.

En la confitería, la utilización es muy extensa; se usan desde los pasteles hasta los bombones, en los caramelos que son esencialmente soluciones sólidas de

carbohidratos casi puros, aportan resistencia a la decoloración térmica y evitan la cristalización de la sacarosa y la pegajosidad.²²

En las industrias conserveras, estos jarabes sirven para evitar la cristalización de la sacarosa, para dar cuerpo, acentuar los verdaderos sabores a frutas y mejorar el color y la textura; asimismo en la industria de bebidas, el uso predominante está en las áreas de la cerveza y el licor de malta, su importancia radica en el contenido de azúcares no fermentables, así como en la contribución de sacáridos no fermentables.²³

En la panadería se incorpora a las galletas, bizcochos, etc. Para aumentar la cantidad de humedad retenida, para retardar el crecimiento de cristales de sacarosa.²³

2.10. Cinética Enzimática

En estos parámetros se ven pequeñas diferencias no muy significativas de la afinidad de la enzima por su sustrato, así como la velocidad máxima de reacción, dependiendo del lugar donde procede la enzima amilasa, al igual que el sustrato de almidón al cual este pertenece.

	α – amilasa	Glucoamilasa
pH	6,0	5,5
Temperatura	70° C	60° C
Concentración	0,1%	0,25%
Enzima	g enz./g sust.	g enz./g sust.

Teniendo en cuenta el sustrato disponible en todo momento para la hidólisis, se efectuó el análisis de la reacción de la hidrólisis siguiendo la teoría de Michaelis-Menten.

Para aplicar la teoría cinética de Michaelis-Menten es necesario presuponer que nada del producto se revierte al sustrato inicial.

La velocidad catalítica es igual al producto de la concentración del complejo; la velocidad de formación de la enzima-sustrato (ES) es igual al producto (ES). Bajo condiciones de estado estacionario, se igualan las expresiones.

Se determinó entonces, que la reacción es de primer orden, donde la velocidad es exactamente proporcional a la concentración de un reaccionante. De acuerdo con esto, se estableció que el tiempo de reacción adecuado es de dos horas para obtener una concentración de almidón remanente del 9,1% del almidón inicial.²⁴

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de la zona de estudio.

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Análisis y Control de Calidad Sensorial de alimentos de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, departamento de Ayacucho a una altitud de 2761 msnm y latitud 13°10'09s.

3.2. Población.

La población de estudio comprendió 7 Kg de "Oca" (*Oxalis tuberosa*. M) variedad amarilla, que fueron adquiridos en el mercado de abastos de la provincia de Huanta del departamento de Ayacucho, (cabe mencionar que la "oca" adquirida es oriunda del distrito de Uchuraccay).

3.3. Muestra.

Se trabajó con un total de 300 g de almidón de "oca" (*Oxalis tuberosa*. M) extraído de los 7kg de "oca" previamente por lavado, rayado, estrujado, sedimentación, filtrado y deshidratación en estufa a 60°C por 48 horas.

Las muestras fueron obtenidas en las mejores condiciones de asepsia,(se trabajó en ambientes previamente desinfectados y se priorizó la desinfección y lavado de los materiales empleados en su obtención).

3.4. Metodología.

Preparación de la suspensión del almidón. Se trabajó con una suspensión de almidón al 30 % (P/V) y se llevó al pH de 6,2 y pH 7,0 con NaOH 1N y $C_6H_8O_7$ para cada muestra, luego se agregó 40 ppm de $CaCl_2$ y se llevó rápidamente a la temperatura de 40 °C y 50 °C. Es decir se obtuvo las siguientes muestras pH = 6,2 y temperatura 40°C, pH = 6,2 y temperatura 50°C, pH = 7 y temperatura 40°C, pH = 7 y temperatura 50°C.

Adición de alfa amilasa. Una vez estandarizado el sistema se procedió a adicionar la alfa amilasa en un porcentaje del 0,01% respecto al peso del almidón y se elevó rápidamente la temperatura a 92 °C (temperatura de reacción).

Liquefacción. Una vez adicionada la enzima y llegada a la temperatura de la reacción (92°C), se procedió a tomar 3 mL de muestra al tiempo: 0, 15, 30, 45, 60 min., las

muestras fueron analizadas y se determinó azúcares reductores por el método de ácido 3,5-dinitrofenilsalicílico (DNS) para luego hallar el valor de dextrosa equivalente (g azúcares reductores/g de maltosa x 100) en función del tiempo. Esta prueba concluyó al obtener un DE cercano a 20 o mayor.

Adición de glucoamilasa. Una vez licuefactado el medio se ajustó los pH de las suspensiones a 6,2 y 7 para cada pH y temperatura respectivamente para evitar variaciones, luego se enfrió las muestras hasta los 60°C, bajo estas condiciones se adicionó la glucoamilasa en un porcentaje del 0,01% respecto al volumen de la solución obtenida. Es decir se adicionó 1ml de glucoamilasa a cada una de las muestras: pH = 6,2 y temperatura 40°C; pH = 6,2 y temperatura 50°C; pH = 7 y temperatura 40°C; pH = 7 y temperatura 50°C.

Sacarificación. Una vez alcanzada la temperatura de 60°C, se procedió a tomar muestras de 2ml de cada una de las suspensiones: pH = 6,2 y temperatura 40°C, pH = 6,2 y temperatura 50°C, pH = 7 y temperatura 40°C, pH = 7 y temperatura 50°C a los tiempos: 0, 24, 48 y 72 horas para hallar los valores de Dextrosa Equivalente (DE) y hallar la cinética de la reacción. A las 72 horas se espera tener un valor de dextrosa equivalente (DE) aproximadamente de 90.

Clarificación – centrifugado. Se realizó con el fin de eliminar los sólidos que otorguen a la solución el color y la turbidez que pudiera presentar, esto se llevó a 5000 rpm por 20 min para cada muestra por separado.

Decoloración. Se sometió el líquido a un tratamiento con carbón activado en la proporción de 1% (respecto al volumen del líquido). Se pesó 1gramo de carbón activado para cada muestra: pH = 6,2 y temperatura 40°C, pH = 6,2 y temperatura 50°C, pH = 7 y temperatura 40°C, pH = 7 y temperatura 50°C. Luego se llevó a baño maría a 55°C por 30 minutos y bajo agitación constante. Posteriormente se procedió a filtrar cada muestra por separado.

Concentración. Los hidrolizados se procedieron a concentrar con ayuda de un rotavapor a 50 – 55°C cada muestra por separado y se controló el tiempo, ello se hizo hasta obtener un porcentaje mayor a 55% en sólidos solubles.

3.4.1. Análisis físico-químico del jarabe de glucosa.

a. Humedad: El método se basó en la pérdida de masa que sufren las muestras al eliminarse la humedad por secado en estufa.

b. pH: Se determinó con ayuda de un pH-metro digital.

c. Biomasa. Se empleó una balanza digital para determinar el peso seco luego del secado en estufa por espacio de 72h.

d. Determinación de sólidos solubles: Se determinó con el empleo de un refractómetro digital.

e. Dextrosa equivalente (D.E): El porcentaje de azúcares reductores se determinó por el método de ácido 3,5-dinitrofenilsalicílico (DNS), los resultados de cada muestra obtenida se dividieron entre el porcentaje de materia seca de la muestra, obteniéndose así la dextrosa equivalente en mg/ml para cada muestra.

f. Determinación de azúcares reductores: La determinación de azúcares reductores se realizó por el método de DNS, el cual se basa en que el ácido 3,5 – dinitrofenilsalicílico en medio alcalino reacciona con el grupo reductor de la glucosa, formando un compuesto amarillo cuya intensidad es proporcional a la cantidad de azúcares presentes. El método (DNS) es una técnica colorimétrica que emplea un procedimiento que se basa en una reacción redox que ocurre entre el 3,5 – dinitrofenilsalicílico (DNS) y los azúcares reductores presentes en la muestra, seguido de la determinación espectro fotométrica a 540nm de los azúcares reductores. Esta técnica sirve para cuantificar los azúcares reductores producidos durante una fermentación o para cuantificar los productos de una reacción enzimática.²⁵

Materiales

- Muestra
- Matraz
- Embudo Buchner
- Erlenmeyer
- Fiola
- Kitasato
- Tubos de prueba
- Bomba de vacío o rotavapor
- Espectrofotómetro
- SOLUCION DE DNS: Disolver 11 g de hidróxido de sodio, 10 g de DNS, 2 g de fenol y 0,5 g de bisulfito de sodio llevar a un litro y conservar en refrigeración en botella oscura.
- SAL DE ROCHELLE: Preparar una solución al 40 % de tartrato de sodio y potasio y refrigerar.
- SOLUCIÓN ESTANDAR DE GLUCOSA: preparar 6 soluciones entre 1,5 a 7,5 x 10⁻⁴ g de glucosa anhidra/0,5 mL de solución.

Preparación de la curva estándar

- Pesar exactamente 30 g de almidón.
- Colocar en una fiola de 100 mL y enrasar con agua destilada previamente hervida y fría.
- Tomar alícuotas de 7, 9, 11, 14.5, 18 y 22 mL; y colocarlas en fiolas de 25 mL enrasar.
- Colocar en un tubo de prueba 3 mL de la muestra, adicionar 3 mL de la solución de DNS; calentar a ebullición durante 5 minutos.
- Adicionar 1 mL de Sal de Rochelle, seguido de 10 mL de agua destilada, mezclar.
- Leer la absorbancia a 550 nm.
- Para realizar la curva se toma por triplicado cada solución y se incluye un blanco; estos puntos se someten a un análisis de regresión lineal.

- Graficar la absorbancia en el eje de las ordenadas y la concentración en el eje de las abscisas.

Análisis de la muestra

La muestra a analizar deberá ser diluida usando agua destilada. La muestra es diluida para dar una concentración final de $2,5$ a 9×10^{-4} g de glucosa/0,5 mL de solución y se procede al igual que para las soluciones de la curva estándar. Con la D.O. obtenida se va a la curva estándar y se determina la concentración de azúcares reductores expresados como glucosa.

Reacción de reducción del ácido 3,5 dinitrosalicílico

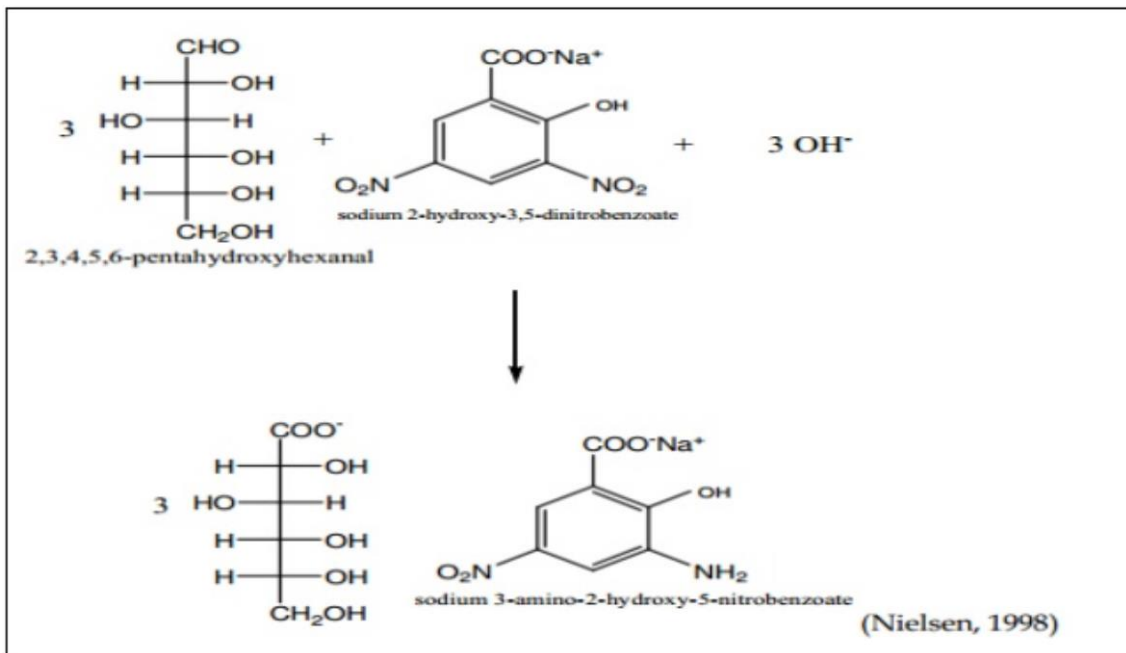


Tabla 03. Datos para la dextrinización a una concentración, dosis de enzima y tiempo de reacción enzimática.

Concentración de Sustrato (P/V)	30%				
Dosis de Enzima (%)	0,01% respecto al peso de almidón				
Tiempo Reacción Enzimática (min)	0	15	30	45	60

Tabla 04. Datos para la sacarificación a una concentración, dosis de enzima y tiempo de reacción enzimática.

Concentración de Sustrato (P/V)	30%				
Dosis de Enzima (%)	0,01% respecto al vol. de solución				
Tiempo Reacción Enzimática (hora)	0	24	48	72	

3.5. Diseño experimental.

El diseño del experimento fue un DCA modificado, comparando el producto final de la hidrólisis de las muestras (pH = 6,2 temperatura 40°C ; pH = 6,2 temperatura 50°C; pH = 7 temperatura 40°C; pH = 7 temperatura 50°C). A los jarabes de glucosa se les midió el % de glucosa y la cantidad de dextrosa equivalente (DE).

3.7. Análisis estadístico.

Se trabajó con 2 factores (pH y T°) con 2 niveles cada uno (pH = 6,2 y pH = 7) y (T° = 40°C y 50°C), se obtuvo 2x2 = 4 tratamientos completamente al azar con 5 repeticiones cada uno.

Los resultados obtenidos de cada una de las muestras analizadas en el Laboratorio se sometieron a un Análisis de Varianza. Luego se realizó una comparación de medias para determinar diferencias significativas con una prueba de Tukey a una probabilidad del 95%.

Además se hicieron pruebas de regresión y correlación para saber las interacciones que tienen los diferentes parámetros entre sí. La prueba aplicada es no paramétrica.

$$\text{Prueba de Tukey} = | Y_i - Y_j | \geq q_{\alpha; a; a(n-1)} \sqrt{CMD/n}$$

Donde:

a = Número de tratamientos

n = Número de repeticiones.

CM_b = Cuadrado medio dentro de tratamientos

α = Nivel de significación

Se emplea cuando dos muestras tienen resultados iguales para determinar las diferencias significativas comparando sus medias.

IV. RESULTADOS

Se trabajó con 7kg de “Oca” (*Oxalis tuberosa*. M.) cosechadas del distrito de Uchuraccay y adquiridas en el mercado de abastos de la provincia de Huanta del departamento de Ayacucho, las cuales fueron lavadas, rayadas, estrujadas, sedimentadas con agua de grifo y filtradas, luego fueron deshidratadas en estufa a 60°C por 48 horas para la eliminación de la humedad, finalmente se obtuvo el almidón de “oca”.

En el proceso de licuefacción luego de que cada muestra: pH 6,2 T° 40° C; pH 6,2 T° 50° C; pH 7 T° 40° C y pH 7 T° 50° C elevadas a la temperatura de reacción (92°C) y sometidas a la prueba de ácido 3,5-dinitrosalicílico y llevadas al espectrofotómetro a 550nm a los tiempos (0, 15, 30, 45 y 60 minutos) respectivamente, el valor de dextrosa equivalente fue de 54,83.

Para el proceso de sacarificación se ajustó las muestras para evitar variaciones de pH y temperatura de cada una: pH 6,2 T° 40° C; pH 6,2 T° 50° C; pH 7 T° 40° C y pH 7 T° 50° C, luego se agregó 1ml de amiloglucosidasa (glucoamilasa) a cada una de las muestras y luego fueron llevadas al espectrofotómetro a 550 nm a los tiempos (0, 24, 48 y 72 horas) respectivamente, se obtuvo un valor de dextrosa equivalente de 77,75. Los hidrolizados se procedieron a concentrar de manera individual con ayuda de un rotavapor a 50°C por un periodo de tiempo entre 30 – 60 minutos, luego se determinó el porcentaje de sólidos solubles con ayuda de un Refractómetro digital; pH 6,2 T° 40° C = 62%; pH 6,2 T° 50° C = 66%; pH 7 T° 40° C = 63%; pH 7 T° 50° C = 70%.

La producción de biomasa obtenida fue de 0,495 gramos/mililitro. Lo cual indica que a una mayor cantidad de biomasa en la muestra se producirá mayor cantidad de azúcares.

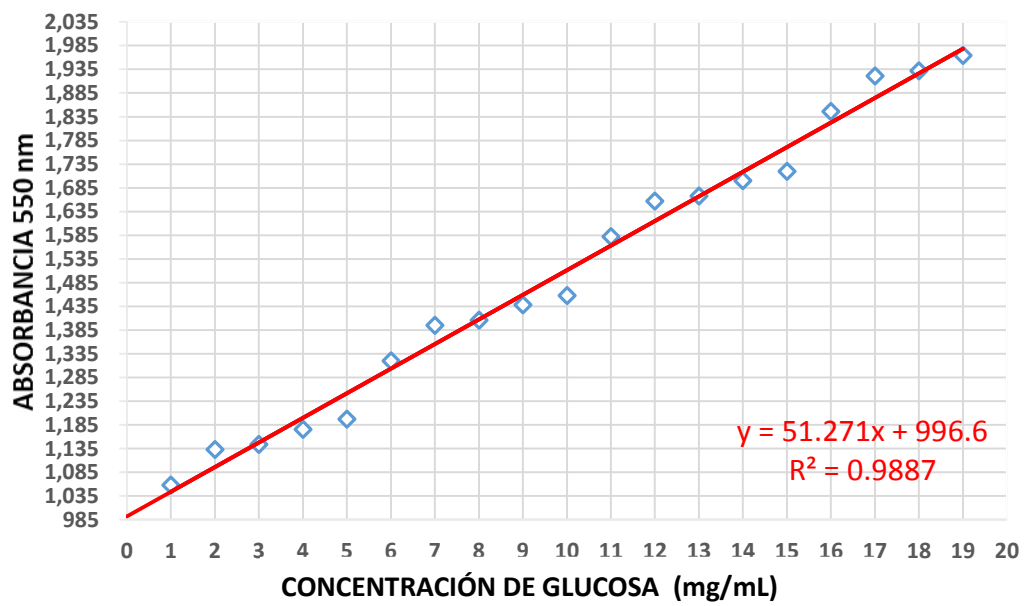


Figura 1. Curva estándar de glucosa pH 6,2 temperatura 40° C.

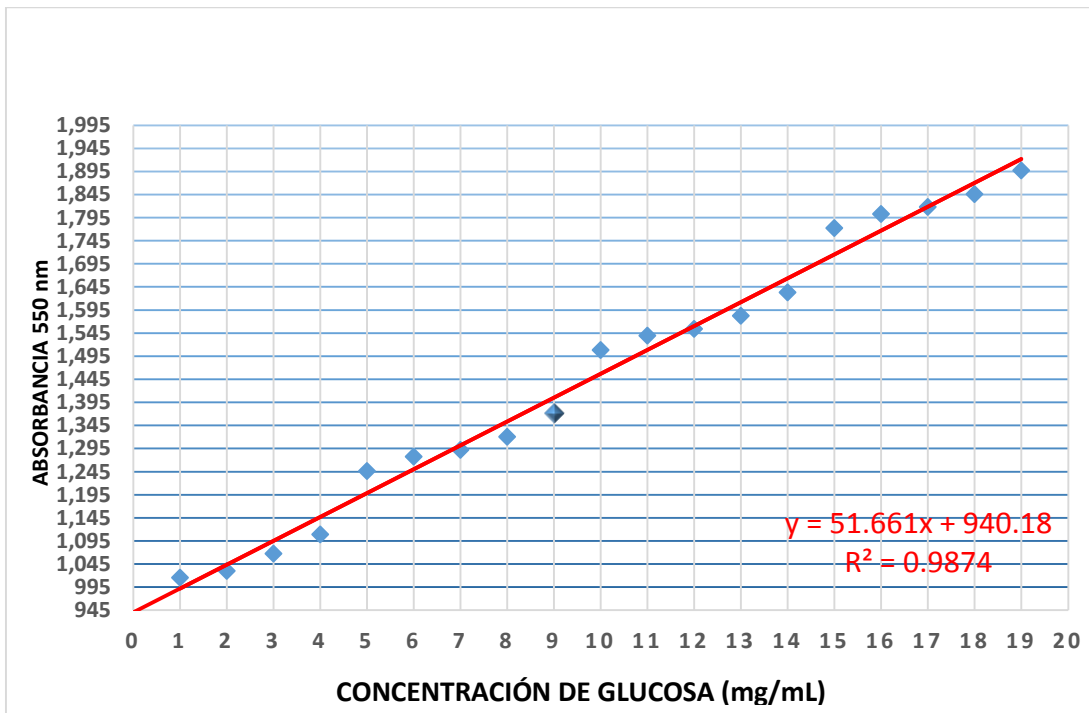


Figura 2. Curva estándar de glucosa pH 6,2 temperatura 50° C.

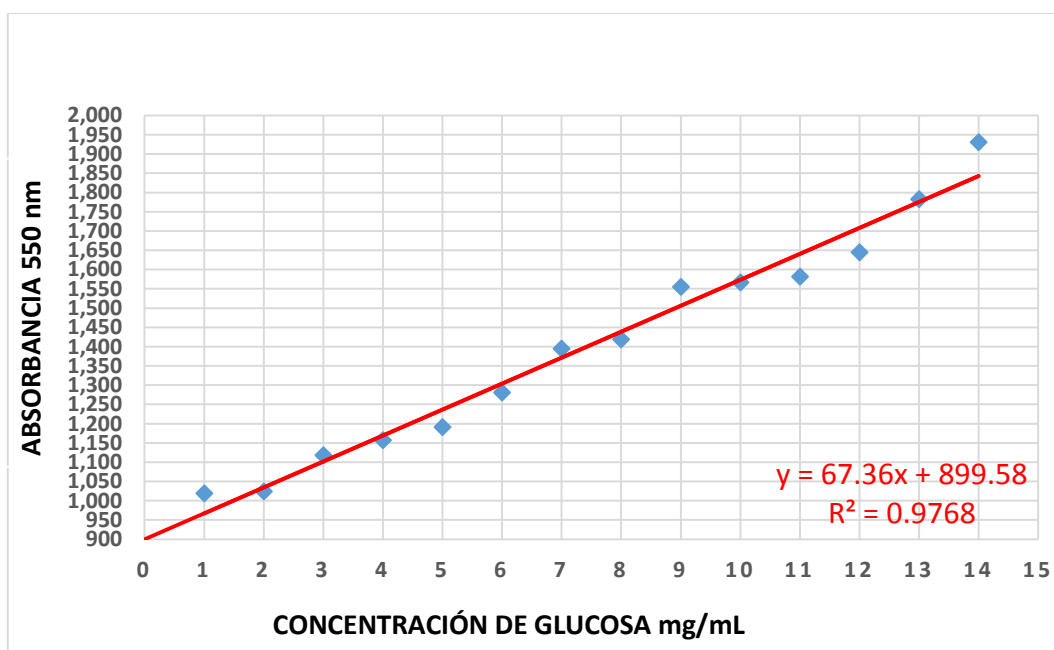


Figura 3. Curva estándar de glucosa pH 7 temperatura 40° C

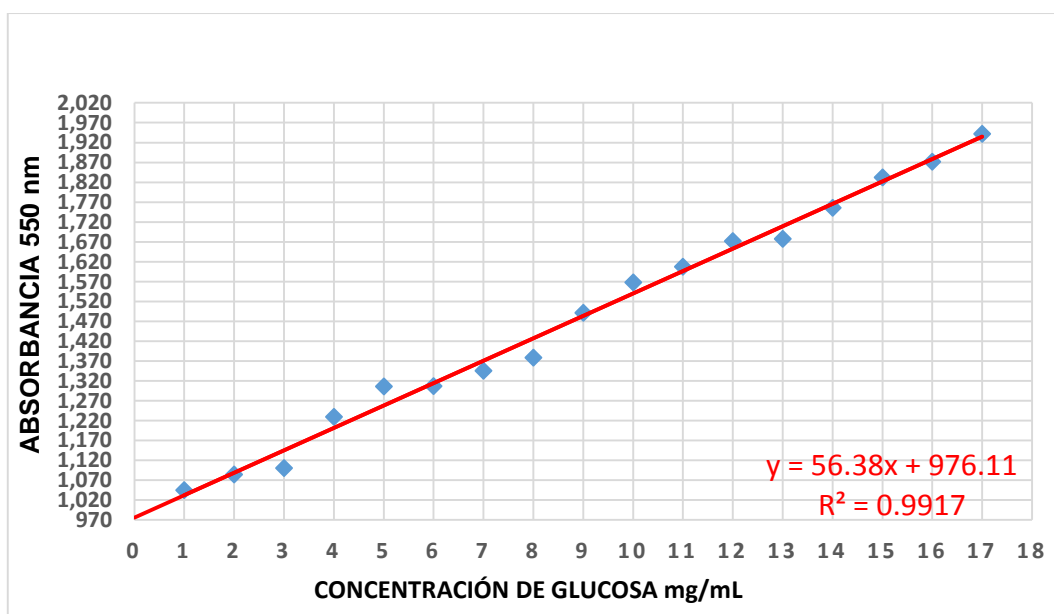


Figura 4. Curva estándar de glucosa pH 7 temperatura 50° C

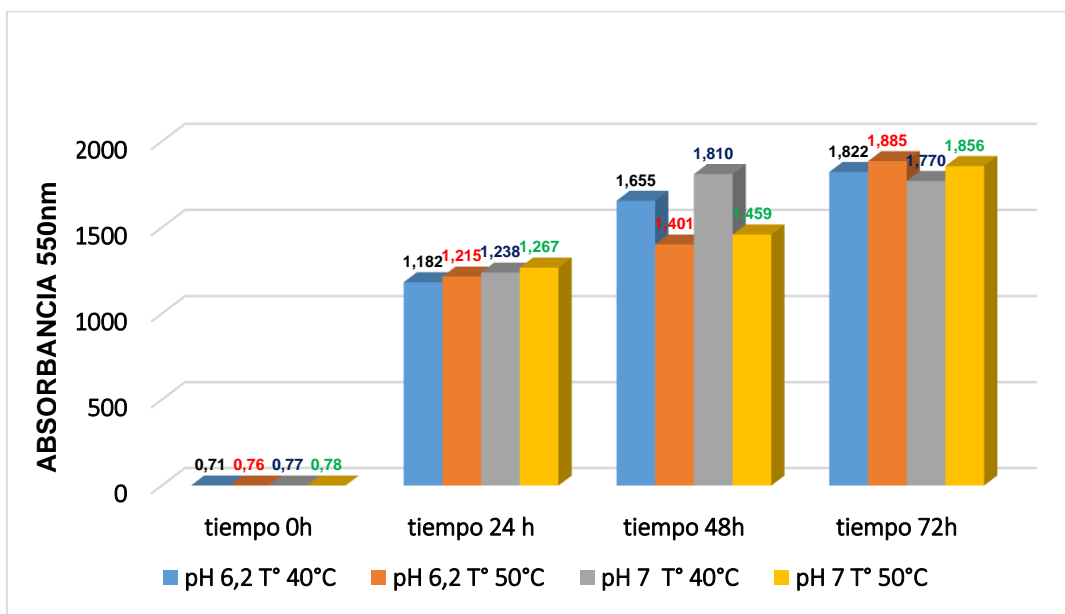


Figura 5. Efecto del pH, temperatura y el tiempo de reacción enzimática para la obtención de jarabe de glucosa.

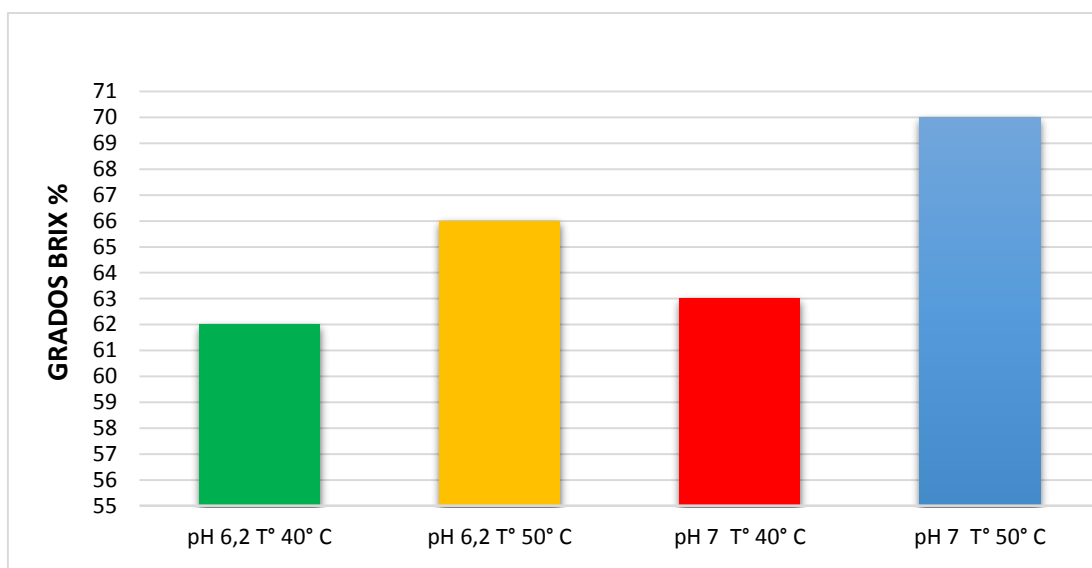


Figura 6. Determinación de sólidos solubles % de grados Brix.

V. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluaron y determinaron los Parámetros operativos para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “oca” (*Oxalis tuberosa* M.) con enzimas α – amilasa y amiloglicosidasa UNSCH – Ayacucho, no existiendo diferencias significativas a una probabilidad del 95%; es decir los parámetros operativos de pH y temperatura permiten la obtención de jarabe de glucosa.

En la figura 01, los resultados obtenidos sobre la curva estándar de glucosa a un pH 6,2 y temperatura 40°C donde el valor mínimo de concentración de glucosa fue de 0,1 mg/ml a una absorbancia de 1,035 y el valor máximo de concentración de glucosa fue de 1,9 mg/ml a una absorbancia de 1,980. La ecuación de la recta fue de $Y = 51,271X + 996.6$ y $R^2 = 0,9887$, el coeficiente de correlación es positivo y muy alto e indica la alta afinidad de las variables, se encuentra cercano a 1 que sería una correlación positiva grande y perfecta.

En la figura 02, los resultados obtenidos sobre la curva estándar de glucosa a un pH 6,2 y temperatura 50°C donde el valor mínimo de concentración de glucosa fue de 0,1 mg/ml a una absorbancia de 0,995 y el valor máximo de concentración de glucosa fue de 1,9 mg/ml a una absorbancia de 1,895. La ecuación de la recta fue de $Y = 51,661X + 940.18$ y $R^2 = 0,9874$, el coeficiente de correlación es positivo y muy alto e indica la alta afinidad de las variables, se encuentra cercano a 1 que sería una correlación positiva grande y perfecta.

En la figura 03, los resultados obtenidos sobre la curva estándar de glucosa a un pH 7 y temperatura 40°C donde el valor mínimo de concentración de glucosa fue de 0,1 mg/ml a una absorbancia de 1,000 y el valor máximo de concentración de glucosa fue de 1,3 mg/ml a una absorbancia de 1,775. La ecuación de la recta fue de $Y = 67,361X + 899.58$ y $R^2 = 0,9768$, el coeficiente de correlación es positivo y muy alto e indica la alta afinidad de las variables, se encuentra cercano a 1 que sería una correlación positiva grande y perfecta.

En la figura 04, los resultados obtenidos sobre la curva estándar de glucosa a un pH 7 y temperatura 50°C donde el valor mínimo de concentración de glucosa fue de 0,1 mg/ml

a una absorbancia de 1,030 y el valor máximo de concentración de glucosa fue de 1,7 mg/ml a una absorbancia de 1,935. La ecuación de la recta fue de $Y = 56,381X + 976.11$ y $R^2 = 0,9917$, el coeficiente de correlación es positivo y muy alto e indica la alta afinidad de las variables, se encuentra cercano a 1 que sería una correlación positiva grande y perfecta.

En la figura 05 sobre los Parámetros operativos para la obtención de jarabe de glucosa, la evaluación del efecto del pH, temperatura y el tiempo de reacción enzimática en el proceso de sacarificación, se obtuvieron los siguientes resultados al tiempo de reacción de 72h: pH 6,2 y temperatura 50°C el valor máximo que resulta de la absorbancia a 550nm fue de 1,885 mg/ml y, para el pH 7 y temperatura 50° fue de 1,856 mg/ml; para el pH 6,2 y temperatura 40°C el valor máximo que resulta de la absorbancia a 550nm fue de 1,822 mg/ml y finalmente para el pH 7 y temperatura 40° C el valor máximo que resulta de la absorbancia a 550nm fue de 1,770 mg/ml.

En la figura 06; Los resultados obtenidos sobre la determinación de sólidos solubles para la elaboración de jarabe de glucosa a partir de almidón de “oca” (*Oxalis tuberosa* M.) con enzimas α – amilasa y amiloglucosidasa son: pH 6,2 y temperatura 40°C = 62 % grados Brix; pH 6,2 y temperatura 50°C = 66 % grados Brix ; pH 7 y temperatura 40°C = 63 % grados Brix pH 7 y temperatura 50°C = 70 % grados Brix.

En una investigación similar realizada sobre la producción de glucosa a partir de almidón, utilizando la hidrólisis enzimática, con enzimas comerciales α - amilasa BAN 480 de *Bacillus amyloliquefaciens* y amiloglucosidasa AMG 300 L de *Aspergillus niger*. Después de realizada la hidrólisis completa del almidón el jarabe se filtró para ser sometido a tratamiento térmico de 85 °C por 5 minutos, se concentró y cristalizó obteniéndose un producto con un valor Dextrosa Equivalente (DE) cercano a 90%.⁵

Por otra parte en otra investigación, se extrajo el almidón y se evaluó la hidrólisis química, también la hidrólisis enzimática; con ácido clorhídrico al 1% y α - amilasa al 1%, y a 65 °C y 90 °C; en suspensiones de almidón de maíz morado *Zea mays*. L al 30%. Se logró un mejor resultado, en la hidrólisis enzimática incorporando una pre gelificación del almidón antes de incorporar la enzima α - amilasa, obteniendo una hidrólisis del almidón nativo hasta en 24 % de azúcares solubles para constituir un jarabe a partir del almidón del maíz morado *Zea mays*. L de superior calidad.⁶

En el estudio sobre la utilización del “banano” (*Musa Cavendish*) para la conversión de su almidón en jarabe de glucosa, por medio enzimático. El tratamiento recomendado fue de 1,5 ml de enzima y 14 horas de hidrólisis. Tratamiento que corresponde a un rendimiento de glucosa del 90,14 %.⁷

Similar estudio realizado sobre la obtención de jarabe de glucosa a partir de la hidrólisis enzimática del almidón de chuño y tunta, la mayor eficacia de hidrólisis en la

sacarificación de maltodextrinas, se obtuvo bajo condiciones dependientes de la enzima glucoamilasa, tiempo y temperatura cuantificado en 40.74% y 38.49% dextrosa equivalente para obtener jarabe de glucosa de chuño y tunta respectivamente, este valor es ligeramente cercano a una conversión normal de jarabe de glucosa.⁸

Por consiguiente en otra investigación se planteó el objetivo de determinar el rendimiento de glucosa por hidrólisis enzimática de tres almidones: yuca (*Manihot esculenta*), camote (*Ipomoea batatas*) y papa (*Solanum tuberosum*). No obstante, el almidón de yuca demostró mayor rendimiento, dando un valor de 91.72% respecto al teórico. Después de la etapa de licuefacción, rindió un Equivalente de Dextrosa promedio de 13.68; y en la etapa de sacarificación el valor de Equivalente de Dextrosa fue de 89.54.⁹

Asimismo en un estudio sobre la elaboración de jarabe de glucosa partiendo de almidón de camote (*Ipomoea batata* L.). Se encontró que se puede extraer almidón de camote, con un rendimiento en base seca de 20%. El jarabe producido con almidón de camote rinde 15% sobre el peso inicial de la pasta.¹⁰

VI. CONCLUSIÓN

1. Los parámetros operativos para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “oca” (*Oxalis tuberosa*. M.) con enzimas α -amilasa y amiloglucosidasa. Fueron: pH 6,2 T° 40° C = 62%; pH 6,2 T° 50° C = 66%; pH 7 T° 40° C = 63%; pH 7 T° 50° C = 70%. DE (licuefacción) fue de 54,83 y DE (sacarificación) fue de 77,75.
2. El tiempo óptimo de obtención de jarabe de glucosa fue de 45 minutos.
3. El mayor porcentaje de jarabe de glucosa obtenida fue de 70% grados Brix.
4. La producción de biomasa obtenida fue de 0,495 gramos/ml.

VII. RECOMENDACIONES

1. Optimizar los parámetros operativos de pH y temperatura para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “oca” (*Oxalis tuberosa*. M.)
2. Probar distintas concentraciones de enzimas empleadas en la elaboración de jarabe de glucosa para mejorar la calidad y aumentar su producción.
3. Trabajar en ambientes desinfectados y libres de contaminantes químicos para evitar la contaminación y alteración de las reacciones enzimáticas.
4. Mantener las enzimas empleadas en refrigeración a 5° C para evitar cambios físico – químicos al momento de ser utilizadas.
5. Rotular las muestras para evitar confusiones y generar alteraciones en los resultados obtenidos.
6. Tener los cuidados necesarios al momento de usar el rotavapor debido a que a una mayor temperatura y sin un control constante las muestras se pueden evaporar por completo y generar la pérdida de las muestras.
7. Optimizar un protocolo adecuado para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “oca”.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

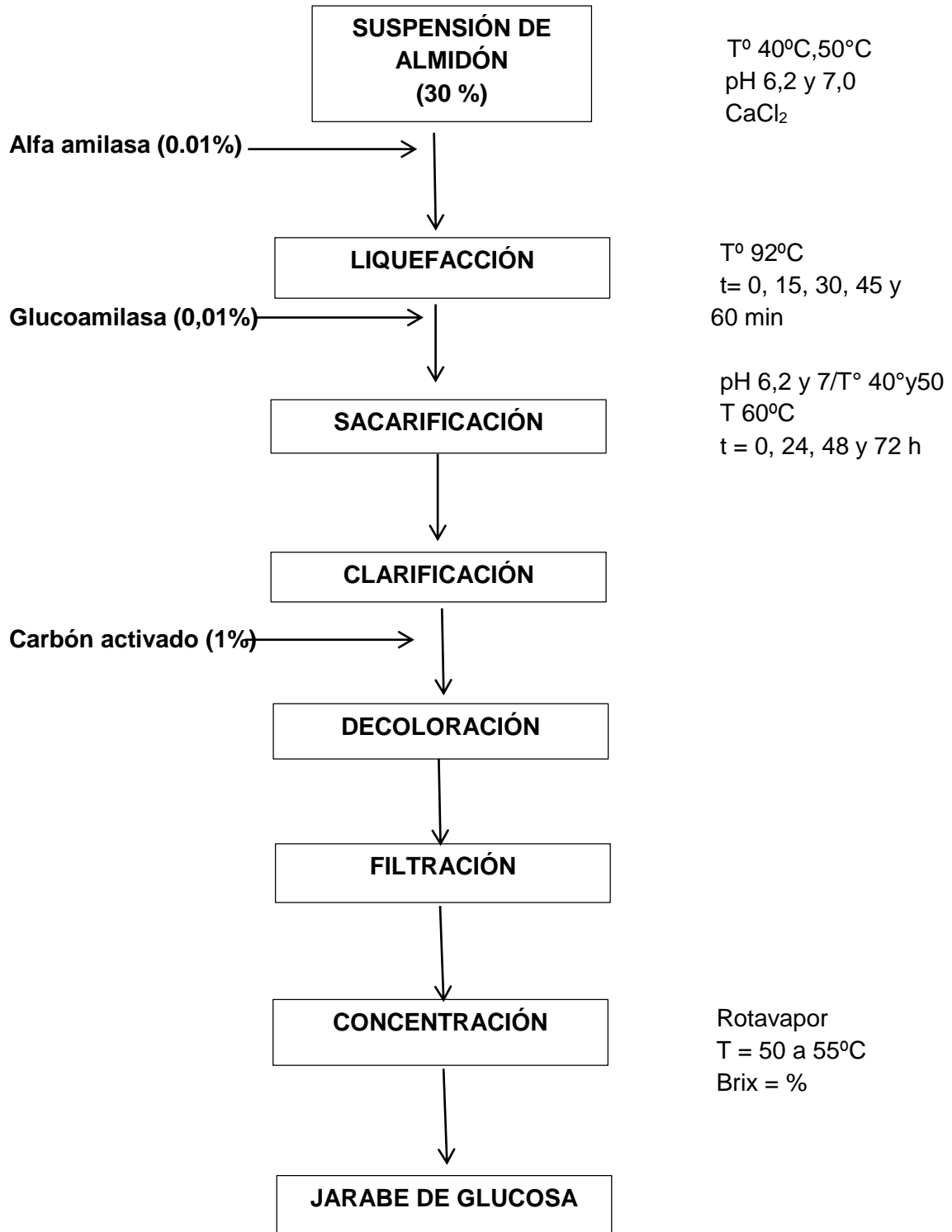
1. Orbegoso A. Estudio sobre la estructura y variabilidad de la oca (*Oxalis tuberosa* Molina.). Instituto Interoamericano de Ciencias Agrícolas. Turrialba, Costa Rica. 1957.
2. Hermann, M. Raíces y Tubérculos Andinos: Centro Internacional de la papa: Lima – Perú; 1992.
3. INIAP: Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Hojas divulgativas de los cultivos nativos del Perú. 2° ed. Lima – Perú; 2006.
4. Arbo, M.; Ferrucci, M.; Gonzales, A.; Cáceres, A.; Peichoto, M.; Popoff, O.; Salgado, C. (2001 – 2008). Botánica Morfológica. Corrientes: Universidad Nacional del Noroeste.
5. Mera, P. y Carrera, J. Obtención de glucosa a partir de almidón de “yuca” *Manihot sculenta*. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad del Cauca. Grupo de investigación ASUBAGROIN; 2005.
6. Lancho, A. "Obtención de jarabe a partir del almidón del maíz morado *zea mays* L." Laboratorio de la Facultad de Ingeniería Pesquera y de Alimentos de la Universidad Nacional del Callao; 2015.
7. Quitiguiña, C; y Santacruz, S. Obtención de jarabe de glucosa a partir de la hidrólisis enzimática de almidón de “banano”, *Musa cavendishii*. CAAN. Ingeniería de Alimentos, Universidad San Francisco de Quito (USFQ), Quito – Ecuador; 2012.
8. Yuri, L. y Mónica, M. Hidrólisis enzimática del almidón de chuño y tunta para la obtención de jarabe de glucosa. Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Formación Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Puno – Perú. 2013.
9. Eduarda, R y Henry, Z. Determinación del rendimiento de glucosa por hidrólisis enzimática de almidones de yuca (*Manihot esculenta*), camote (*Ipomoea batatas*) y papa (*Solanum tuberosum*). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias – Escuela Profesional de Ingeniería Química. Lambayeque – Perú. 2017.
10. Daniel, Ch. Elaboración de jarabe de glucosa partiendo del almidón de camote (*Ipomoea batata* L.). Proyecto de graduación del Programa de Ingeniería Agroindustrial – Zamorano, Honduras. 2002.19pp.
11. Mayal, O. Nutrición del Antiguo Perú. Lima - Perú: Banco Central de Reserva del Perú; 2011.
12. Cárdenas, F. Manual de Plantas económicas. Editorial los amigos del Libro. Werner Guttentag. La paz-Cochabamba. 1989; Pp.333.
13. Lescano, R. Genética y Mejoramiento de Cultivos Altoandinos. INADE/PELT – COTESU. Lima – Perú. 1994.
14. Cárdenas, M. Manual de plantas económicas de Bolivia. Imprenta Ictchus. Cochabamba, Bolivia. 1969.421 p
15. Robles, F. Origen y Evolución de la oca, olluco y mashua. UNALM. Centro de Informática para la Investigación Agrícola. Lima-Perú. 1981; Pp. 29.
16. Fairlie, T.; Morales, M. y Holle. Raíces y Tubérculos Andinos. CIP, Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú; 2009.
17. Areizaga, J.; Cortázar, M.; y Elorza, J. POLÍMEROS. Madrid: Editorial Síntesis; 2002
18. Lancho, A. Extracción y caracterización fisicoquímica del almidón. Universidad Nacional del Callao, Lima. Callao. 2007; CDTTE. 57.

19. Prieto, L. Determinación de cinética enzimática y fenómenos de transporte y de la fermentación sumergida para la producción y aislamiento de la α – amilasa. Departamento de investigación. Universidad de la Salle; 2007
20. Gomez, G. Enzimas en la industria alimentaria. Zaragoza, ACRIBIA S.A; 1998.
21. Chica, N. Sacarificación del almidón de papa. Trabajo de final de tesis. Ciencia y Tecnología de alimentos. Universidad Nacional de Colombia; 1996.
22. Bermudes, J. y Casquete, J. Elaboración de Edulcorantes a partir de almidones a partir de almidones aplicando enzimas alfa y beta amilasas de origen vegetal. Tesis de Grado, Universidad de Guayaquil, Facultad de Ingeniería Química, Guayaquil. 2011.
23. Adrianzen, P. Análisis de la Diversidad Genética de ocas cultivadas (*Oxalis tuberosa* Molina.) de Cuatro comunidades Campesinas del Cuzco. Usando marcadores moleculares AFLP. Tesis para optar el Grado de Magister Scientiae. Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Lima-Perú. 2007.97p.
24. Guzmán, P. Determinación de azúcar reductor Método DNS Informe de Laboratorio de Bioprocesos. Universidad de América Campus de los Cerros. Bogotá. Colombia; 2013.
25. Esperanza, E. Purificación y Caracterización de α – amilasa de *Penicillium commune* producida mediante fermentación en fase sólida. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Edición tesis, 2009. Rev. Colomb.Quim.vol.38 no.2.Bogotá.

ANEXOS

ANEXO N° 01

Diagrama de flujo para la obtención del jarabe de glucosa a partir de almidón mediante hidrólisis enzimática UNSCH – Ayacucho 2017.



ANEXO N° 02
Preparación de Reactivos empleados en la reacción enzimática. UNSCH -
Ayacucho 2017.

Reactivo	Preparación
Solución de DNS	Se disolvió 11 g de hidróxido de sodio, 10 g de DNS, 2 g de fenol y 0,5 g de bisulfito de sodio, en un litro de agua destilada y se conservó en refrigeración en botella oscura.
Sal de Rochelle	Se preparó una solución al 40 % de tartrato de sodio y potasio y se refrigeró.
CaCl₂ 40 ppm	Se disolvió 10 g de CaCl ₂ en 100 ml de agua destilada.
NaOH 1N	Se disolvió 8 g de NaOH en 200ml de agua destilada.
Ácido cítrico 1%	Se disolvió 24 g de ácido cítrico en 50 ml de agua destilada.

ANEXO N° 03



Compra de “oca” *Oxalis tuberosa*. M.
 (procedente del Distrito de Uchuraccay) en
 la Provincia de Huanta - 2017.

ANEXO N° 04
Proceso de obtención de almidón de “oca”



Lavado de “oca” con agua de grifo



“oca” rayada



Mezclado con agua de grifo



Estrujado y colado



Sedimentación



Obtención de almidón de “oca”



Filtrado



Deshidratación a 60°C



Obtención de almidón de "oca"

ANEXO Nº 05

Preparación de la suspensión de almidón y ajuste de los pH



Obtención de las muestras



Ajuste del pH

ANEXO Nº 06
Adición de α - amilasa



Adición de α -amilasa 0,01%



Elevación de Temperatura a 92°C

ANEXO Nº 07
Proceso de liquefacción



Toma de muestra en tubos de ensayo



Método de DNS''



Lectura de muestras al Espectrofotómetro a 550 nm

ANEXO N° 08
Adición de Glucoamilasa



Enfriamiento de las muestras



Adición de Amiloglucosidasa 0.01%

ANEXO N° 09
Proceso de sacarificación



Llevar a temperatura de 60°C



Toma de muestras (t: 0; 24; 48; 72)h



Dilución de las muestras



Lectura de las muestras a 550 nm

ANEXO Nº 10 Proceso de Clarificación – Centrifugado



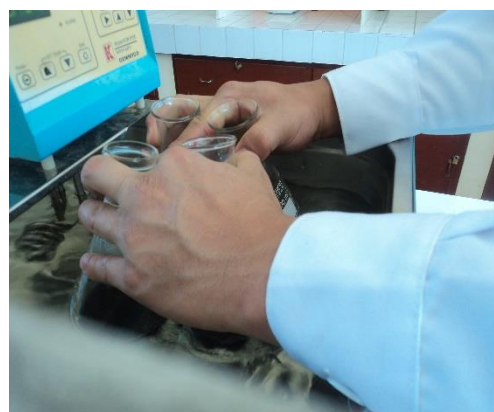
Centrifugado a 5000 rpm por 20 min.



Recojo del sobrenadante de cada muestra



Tratamiento con carbón activado



Llevar a Temperatura de 55° C por 30 minutos bajo agitación constante

ANEXO Nº 11 Proceso de Concentración



Obtención de muestras filtradas



Concentración de las muestras en el Rotavapor a 55° C



Proceso de concentración de la muestra



Obtención de Jarabe de Glucosa

ANEXO N° 12 Determinación de grados Brix



Jarabe de glucosa obtenida de cada muestra



Determinación de Grados Brix en el Refractómetro digital



pH 6,2 T° 40°C



pH 6,2 T° 50°C



pH 7 T° 40°C



pH 7 T° 50°C

ANEXO Nº 13
Equipos y materiales de Laboratorio



Rayador y bandeja metálica



Balanza analítica



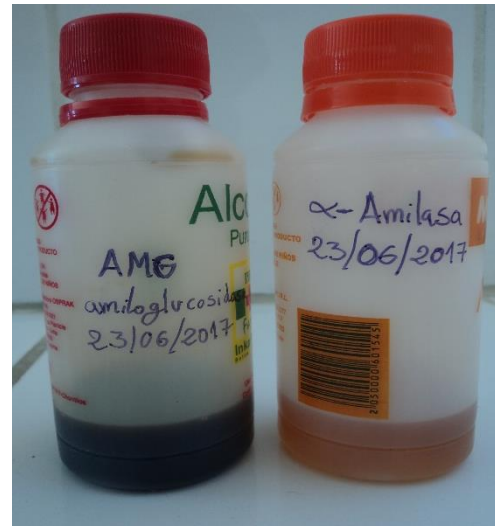
Colador de 0,5 mm



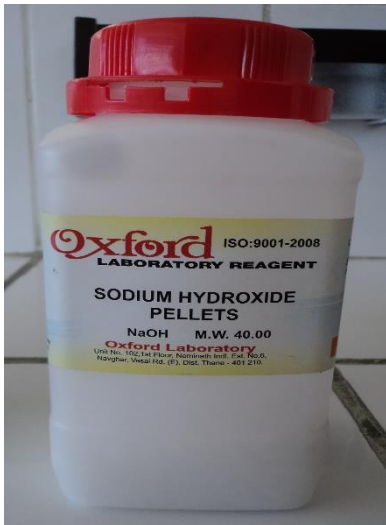
Espátula



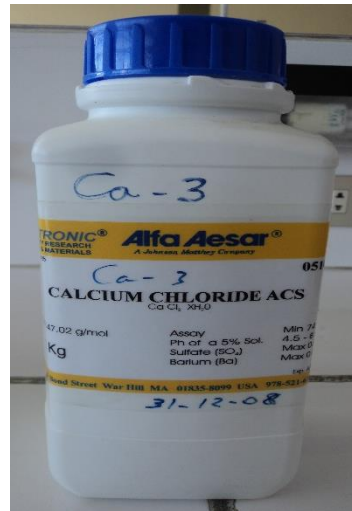
Portaviendas



Enzimas α – amilasa y amiloglucosidasa



Hidróxido de Sodio



Cloruro de Calcio



Ácido cítrico



Baño maría



Reactivo DNS



pH-metro



Estufa



Cronómetro



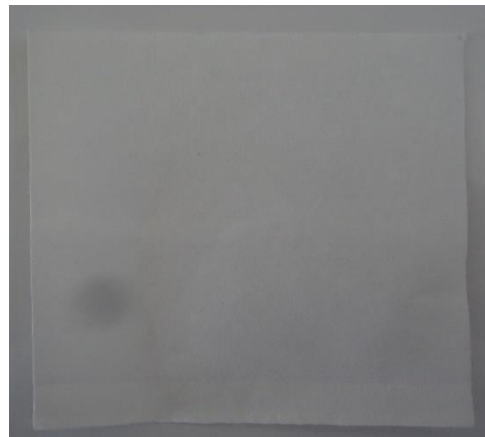
Espectrofotómetro



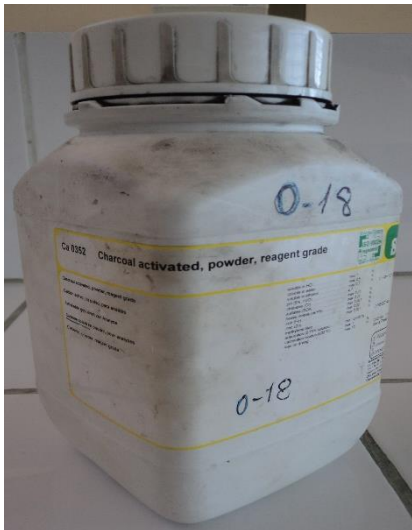
Centrífuga



Estufa



Papel filtro



Carbón activado



Embudos de vidrio



Frascos para toma de muestra



Refrigeradora



Rotavapor



Refractómetro

ANEXO Nº 14

Resultados de la Prueba de DNS a una Absorbancia de 550 nm, efecto del pH y Temperatura para la obtención de jarabe de glucosa

	pH 6,2 T 40°C			pH 6,2 T 50°C			pH 7 T 40°C			pH 7 T 50°C		
	[] Glucosa mg / mL	Absorbancia 550nm	Y = A + BX	[] Glucosa mg / mL	Absorbancia 550nm	Y = A + BX	[] Glucosa mg / mL	Absorbancia 550nm	Y = A + BX	[] Glucosa mg / mL	Absorbancia 550nm	Y = A + BX
Tiempo 0 minutos	0,31	0,732	0,136	0,37	0,857	0,162	0,28	0,644	0,124	0,26	0,602	0,115
	0,40	0,944	0,174	0,37	0,857	0,162	0,22	0,505	0,098	0,37	0,880	0,162
	0,34	0,806	0,149	0,34	0,806	0,149	0,27	0,643	0,119	0,36	0,832	0,157
	0,39	0,924	0,170	0,31	0,732	0,136	0,18	0,415	0,082	0,31	0,716	0,136
	0,37	0,880	0,162	0,33	0,778	0,145	0,37	0,880	0,162	0,23	0,531	0,103
	0,38	0,892	0,165	0,32	0,763	0,140	0,15	0,342	0,069	0,34	0,792	0,149
Tiempo 15 minutos	0,31	0,733	0,136	0,37	0,858	0,162	0,28	0,644	0,124	0,26	0,602	0,115
	0,51	1,197	0,220	0,47	1,109	0,204	0,32	0,757	0,141	0,47	1,101	0,204
	0,45	1,058	0,195	0,45	1,067	0,195	0,38	0,895	0,166	0,46	1,085	0,199
	0,50	1,176	0,216	0,42	0,984	0,183	0,29	0,667	0,128	0,41	0,968	0,178
	0,48	1,133	0,208	0,44	1,030	0,191	0,44	1,024	0,191	0,34	0,784	0,149
	0,49	1,144	0,212	0,43	1,015	0,187	0,26	0,595	0,115	0,44	1,045	0,191
Tiempo 30 minutos	0,31	0,734	0,136	0,37	0,858	0,162	0,28	0,644	0,124	0,26	0,603	0,115
	0,62	1,458	0,267	0,58	1,371	0,250	0,43	1,019	0,187	0,58	1,379	0,250
	0,56	1,320	0,241	0,56	1,320	0,241	0,49	1,157	0,212	0,57	1,346	0,246
	0,61	1,438	0,263	0,53	1,246	0,230	0,39	0,929	0,170	0,52	1,230	0,225
	0,59	1,395	0,254	0,55	1,292	0,237	0,59	1,395	0,254	0,44	1,045	0,191
	0,60	1,406	0,258	0,54	1,277	0,233	0,36	0,856	0,157	0,55	1,306	0,237
Tiempo 45 minutos	0,31	0,735	0,136	0,37	0,859	0,162	0,28	0,645	0,124	0,26	0,604	0,115
	0,73	1,720	0,313	0,69	1,633	0,296	0,54	1,281	0,233	0,71	1,678	0,305
	0,67	1,582	0,288	0,67	1,582	0,288	0,60	1,419	0,258	0,68	1,608	0,292
	0,72	1,700	0,310	0,64	1,508	0,275	0,51	1,191	0,220	0,63	1,492	0,271
	0,70	1,657	0,300	0,66	1,554	0,284	0,66	1,567	0,283	0,56	1,307	0,242
	0,71	1,668	0,305	0,65	1,539	0,279	0,47	1,118	0,204	0,66	1,568	0,284
Tiempo 60 minutos	0,31	0,735	0,136	0,37	0,859	0,162	0,27	0,645	0,119	0,26	0,604	0,115
	0,84	1,984	0,360	0,80	1,897	0,343	0,69	1,645	0,296	0,82	1,942	0,351
	0,78	1,846	0,334	0,78	1,846	0,334	0,76	1,783	0,326	0,79	1,872	0,338
	0,83	1,964	0,355	0,75	1,772	0,322	0,66	1,555	0,284	0,74	1,756	0,317
	0,81	1,921	0,347	0,77	1,818	0,330	0,82	1,931	0,351	0,71	1,672	0,305
	0,82	1,932	0,351	0,76	1,803	0,326	0,67	1,582	0,288	0,77	1,833	0,330

ANEXO N° 15
Análisis de Varianza sobre el efecto del pH y Temperatura en la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “oca”.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>Fc</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre Tratamientos	2,61	3	0,87	0,134	3,773
Dentro de Tratamientos	94,48	12	7,87	1,216	
Total	97,09	15	8,74		

ANEXO N° 16
Prueba de Tukey sobre el efecto del pH y temperatura en la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “oca”.

PRUEBA DE TUKEY
$ Y_i - Y_j \geq q \alpha; a; a(n - 1) \sqrt{CMD / n}$
$ Y_i - Y_j \geq q 0,05; 4; 4(3) \sqrt{7,87/4}$
$ Y_i - Y_j \geq q 0,05; 4; 12 \sqrt{7,87/4}$
$ Y_i - Y_j \geq q 4,199 \sqrt{1,9675}$
$ Y_i - Y_j \geq 5,89$

ANEXO N° 17
Resultados de la Prueba de Tukey sobre el efecto del pH y temperatura en la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “oca”.

	1,23	1,58	1,83	
0,75	0,48	0,83	1,08	N.S
1,23		0,35	0,6	N.S
1,58			0,25	N.S

ANEXO N° 18 MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO: Parámetros operativos para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de "Oca" (*Oxalis tuberosa*. M.) con enzimas α -amilasa y amilogucosidasa. UNSCH - Ayacucho.

AUTOR: Mijael Flavio Estrada Toscano.

ASESORA: M.Sc. Vidalina Andia Ayme

Co - ASESOR: M.Sc. Wilfredo Trasmonte Pinday

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
Parámetros operativos para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de "Oca" (<i>Oxalis tuberosa</i> . M.) con enzimas α -amilasa y amilogucosidasa. UNSCH - Ayacucho.	¿Cuáles son los parámetros operativos para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de "oca" (<i>Oxalis tuberosa</i> . M.)?	<p>Objetivo general.</p> <p>1. Evaluar y Determinar los parámetros operativos para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de "oca" (<i>Oxalis tuberosa</i>. M)</p> <p>Objetivos específicos.</p> <p>1. Determinar el tiempo óptimo de obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de "oca" (<i>Oxalis tuberosa</i> M.)</p> <p>2. Determinar el % de jarabe de glucosa obtenida de almidón de "oca" (<i>Oxalis tuberosa</i> M.)</p> <p>3. Determinar la producción de biomasa obtenida de almidón de "oca" (<i>Oxalis tuberosa</i> M.)</p>	<p>2.1. Antecedentes</p> <p>2.2. <i>Oxalis tuberosa</i> Mol. "oca"</p> <p>2.2.1. Taxonomía</p> <p>2.2.2. Morfología vegetativa.</p> <p>2.2.3. Morfología floral</p> <p>2.2.4. Morfología del fruto</p> <p>2.3. Contenido de materia seca en los tubérculos.</p> <p>2.4. Contenido de Azúcares reductores en el tubérculo.</p> <p>2.5. El almidón</p> <p>2.5.1. Amilosa</p> <p>2.5.2. Amilopectina</p> <p>2.6. Tipos de almidones</p> <p>2.6.1. Almidón resistente</p> <p>2.6.2. Almidón modificado</p> <p>2.6.3. Almidón extrusionado</p> <p>2.7. Proceso de degradación del almidón</p> <p>2.7.1. Hidrólisis química del almidón</p> <p>2.7.2. Hidrólisis enzimática del almidón.</p> <p>2.8. Enzimas.</p> <p>2.8.1. La α – amilasa</p> <p>2.8.2. La amilogucosidasa.</p> <p>2.9. Jarabe de glucosa.</p> <p>2.9.1. Usos y aplicaciones de los jarabes de glucosa.</p> <p>2.10. Cinética enzimática.</p>	Los parámetros operativos de pH y Temperatura permiten la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de "oca" (<i>Oxalis tuberosa</i> . M) con enzimas α – amilasa y amilogucosidasa.	<p>Variables.</p> <p>Variable independiente: tiempo y temperatura</p> <p>Variable dependiente % Jarabe de glucosa a partir de almidón de "oca"..</p> <p>Indicadores</p> <p>Indicador independiente: mg de enzima/g de almidón</p> <p>Indicador dependiente: min y °C de la reacción enzimática.</p>	<p>Tipo de investigación Básica- experimental.</p> <p>Muestra</p> <p>-Población Estará conformado por la cantidad en kg de <i>Oxalis tuberosum</i> Mol. "oca" las cuales serán empleados para la obtención de almidón.</p> <p>-Muestra El modelo aditivo lineal para este diseño responde al de un DCA modificado a un α= 0,05. Se trabajará con 2 factores (pH y T°) con 2 niveles cada uno (pH = 6,2 y 7,0) y (T° = 40° C y 50° C). Se realizará la Prueba de Tukey a una probabilidad del 95% α= 0,05.</p>