

HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA *in vitro* Y MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE LA HARINA HORNEADA Y EXTRUIDIDA DE ARRACACHA¹

In vitro ENZYMATIC HYDROLYSIS AND ELECTRONIC MICROSCOPY OF THE BAKED AND EXTRUDED ARRACACHA FLOUR¹

Auris García* y Emperatriz Pacheco*

¹Trabajo financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela. CDCH-UCV.
* Profesores. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Laboratorio de Bioquímica de Alimentos del Instituto de Química y Tecnología. Maracay, estado Aragua, Venezuela. Código Postal 2105. E-mail: aurisgarcia@hotmail.com.

RESUMEN

Con la finalidad de analizar el efecto de los tratamientos térmicos de secado sobre la hidrólisis enzimática *in vitro* del almidón en las harinas de arracacha, *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft, de los morfotipos blanco y amarillo, se obtuvieron las harinas por los métodos de convección a la temperatura de 70 a 80 °C y en un secador de doble tambor rotatorio a la presión de vapor de 40 Psi. Observando, los cambios en la estructura de los gránulos de almidón a través de micrografías vistas en el microscopio electrónico de barrido (MEB). Los resultados demostraron que las harinas de ambos morfotipos fueron sensibles a la hidrólisis de la enzima α -amilasa pancreática, resultando las obtenidas en doble tambor rotatorio de alta digestión enzimática con respecto a las horneadas por el método de convección, a causa de la mayor incidencia del tratamiento térmico de secado sobre los cambios estructurales a nivel de las regiones amorfas de los gránulos de almidón, que vistos al MEB demostraron la pérdida de birrefringencia del mismo.

Palabras Clave: *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft; arracacha; harinas; hidrólisis enzimática; microscopía electrónica de barrido de gránulos de almidón.

SUMMARY

In order to analyze the effects of the drying thermal treatments, upon the *in vitro* enzymatic hydrolysis of the starch, in the arracacha flours, *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft, of the white and yellow morph types; the flours were obtained using convection methods at 70° - 80 °C temperature, and in a double spinning drum dryer, with a steam pressure of 40 Psi. The changes in the structure of the starch granules were observed through the micrographics seen in the sweeping electronic microscope (MEB). The results showed that the flours of both morph types were sensible to the hydrolysis of the pancreatic α -amylase enzyme; the flours obtained in the double spinning drum dryers, resulted of high enzymatic digestion, in comparison to the baked flours by the convection method, due to the higher incidence of the drying thermal treatment upon the structural changes at the level of the amorphous regions of the starch granules; which as seen under the MEB showed the loss of the birefringence of the same.

Key Words: *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft; arracacha; flours; enzymatic hydrolysis; scanning electronic microscopy of starch granules.

RECIBIDO: enero 19, 2009

ACEPTADO: abril 29, 2009

INTRODUCCIÓN

El estudio de la hidrólisis enzimática del almidón *in vitro* permite obtener una información relativa de la biodisponibilidad del almidón *in vivo*. Por ello, las evaluaciones nutricionales de materiales amiláceos *in vivo*, tienden a ser validadas por ensayos de digestibilidad enzimática *in vitro*, que se refieren al porcentaje (%) de digestibilidad aparente de la materia seca, en la dieta de referencia, siendo diferente el comportamiento según el complejo a tratar, tales como harinas nativas, gelatinizadas, harinas con alto contenido de proteínas o grasas (Hoover, 2001).

En este sentido, se indicó que en función de la susceptibilidad de los almidones a la hidrólisis enzimática por acción de la α -amilasa pancreática, la velocidad de digestión *in vitro*, se clasifica en rápidamente digerible, cuando el sustrato amiláceo en incubación con la enzima a la temperatura de 37 °C, se convierte en maltosa en 20 min, lentamente digerible, si bajo las condiciones anteriores se convierte en glucosa a los 120 min y almidón resistente, si el sustrato amiláceo se resiste a la acción de las enzimas digestivas (Englyst y Cummings, 1985; Englyst *et al.*, 1992).

Con relación a la hidrólisis de diferentes tipos de sustratos, Rodríguez y Silva (2003), Tester *et al.* (2006) señalaron que los gránulos de almidón nativos se caracterizan por resistir a la hidrólisis de las amilasas pancreática. Sin embargo, en almidones gelatinizados o pregelatinizados la acción de la enzima tiende a ser más rápida y eficaz por transformar este sustrato en corto tiempo en azúcares y dextrinas, representando esta respuesta el potencial de energía disponible.

Hung y Morita (2005) demostraron que en materiales amiláceos nativos de yuca, *Manihot esculenta* Crantz y batata, *Ipomoea batata*, se presentó una digestibilidad lenta, dada a la presencia de fracciones de almidón resistentes. Sin embargo, estos autores indicaron que al cabo de 2 horas de acción de la enzima α -amilasa en este mismo sustrato, hubo un aumento de la tasa de hidrólisis hasta un 88,5%. En otras muestras de *canna edulis* y papa, *Solanum tuberosum*, estos investigadores observaron que el tiempo de hidrólisis fue menor mostrando un bajo grado de hidrólisis (51 y 48%, respectivamente), el cual fue atribuido a la posible existencia de una fosforilización o a la formación de complejos.

Con relación a este último aspecto, Tovar *et al.* 1990, Sreenath *et al.* (1992), Planchot *et al.* (1994), Gupta

et al. (2003), Hoover y Zhou (2003) mencionaron que una de las formaciones de complejos más conocidas se establece entre la amilosa y los lípidos (amilosa-lípidos), explicando que el grado de hidrólisis en este complejo tiende a ser menor, debido a la inclusión helicoidal del lípido, que limita el acceso de la enzima α -amilasa a su sitio activo, aunque al parecer esta condición no confiera una resistencia completa a la hidrólisis enzimática. Por otra parte, estos autores al referirse a los almidones químicamente fosforilados, explicaron que tienden a causar una restricción para la acción de la α -amilasa, debido a que los grupos fosfatos en los gránulos de almidón parcial o totalmente hinchados se repelen y promueven un menor grado de hidrólisis enzimática.

Al analizar la secuencia hidrolítica de los polisacáridos de raíces y tubérculos, se señaló que la digestión de estos almidones puede ser variable y al respecto existe controversias, que indican que la digestión tiende a ser lenta, debido a que la hidrólisis ocurre al azar a lo largo de la cadena por la enzima α -amilasa, mientras otros consideran que esta se hace lenta, porque se sucede desde el interior del gránulo de almidón, iniciándose desde el centro y finalizando en la periferia principalmente en las regiones amorfas (Wang *et al.*, 1997; Zhang y Oates, 1999; Serrano y Franco, 2005).

En una experiencia con harina de batata, *Ipomoea batata*, obtenida por dos técnicas de secado, Yadav *et al.* (2006a) determinaron que la hidrólisis del almidón deshidratado en tambor rotatorio fue mayor (66%) al compararlo con el almidón nativo (49%) y con el deshidratado por convección (63,5%), siendo estas variaciones atribuidas a las diferencias genéticas entre cultivares de batata, altos contenidos de almidón resistentes, fibra dietaria y a las modificaciones de la estructura física del gránulo por efecto del tratamiento calórico.

Las experiencias de Tovar *et al.* (2002), Rodríguez y Silva (2003), Polaina (2004), Svihus *et al.* (2005), Hung y Morita (2005) permitieron explicar que existen varias razones del porque de la heterogeneidad en el comportamiento de la digestibilidad de los almidones en los alimentos, entre las que citaron las características estructurales, composicionales y la cantidad de almidón resistente (AR), el cual físicamente puede encontrarse en el almidón dentro de estructuras que lo encapsulan o atrapan, siendo este identificado como del tipo 1 (AR1), mientras los presentados en forma de gránulos no gelatinizados o crudos fueron denominados del tipo B (AR2) y los retrogradados como del tipo AR3.

Las modificaciones por tratamientos térmicos de deshidratación no sólo cambian las propiedades fisicoquímicas del almidón, sino que transforman la estructura granular a un polímero amorfo vítreo, que dependiendo de la intensidad del flujo calorífico se relaciona con algunos eventos de la gelatinización. Siendo estos confirmados al observar en imágenes al microscopio electrónico de barrido (MEB), fragmentos dispersos o la fusión de la forma semicristalina del gránulo y eventualmente películas de masa continuas de forma amorfa (Lynn y Cochrane, 1997; Rao y Tattiyakul, 1999; Tester y Debon, 2000; Karisson y Eliasson, 2003; Rodríguez *et al.*, 2005).

En este sentido, Moorthy (2002) y Espin *et al.* (2002), coincidieron en señalar que las harinas de algunas raíces y tubérculos, obtenidas por convención muestran al MEB, la inexistencia de alteraciones drásticas sobre el gránulo de almidón por efecto de las bajas temperatura (45 °C), así como estructuras con tamaños y formas característicos, según la especie. Al respecto, Bemiller (1997), Buléon *et al.* (1998) y Van Den Einde *et al.* (2003), coincidieron en señalar que al someter a los gránulos de almidón a un proceso de secado por convección usando altas temperaturas (80 °C), se promueve la formación de poros superficiales o internos, fisuras o fractura y ruptura de las lamedas o hilo de unión de las regiones cristalinas y amorfas, vistos al MEB.

Algunas de estas observaciones fueron hechas por Jayakody *et al.* (2007) en muestras de gránulos de almidón en *innala*, *Solenostemon rotundifolius*, obtenidos por secado de convección a 45 °C, quienes visualizaron a los gránulos de manera dispersa y con formas hemisféricas casi intactas. Mientras, Rodríguez *et al.* (2005) en gránulos de almidón de *A. xanthorrhiza*, secados a temperaturas de 60 °C, observaron una superficie estriada y la presencia de una mezcla de formas poliédricas y globulares, considerando Laurentín *et al.* (2003) y Shamai *et al.* (2003), que esta temperatura de secado pareciera alterar un poco la estructura del gránulo, por presentar los mismos un bajo volumen ($2,25 \pm 0,014$ ml g⁻¹), alta porosidad (70,04%) y una reducción de tamaño.

De manera similar, Leonel *et al.* (2004) evidenciaron en gránulos de almidón de batata, *Ipomoea batata*, secado por atomización a la temperatura de 80 a 120 °C con el uso del MEB, la existencia de grumos con alteraciones en la superficie de los gránulos, los cuales desarrollaron una matriz continua en forma de racimos, indicativos del evento de gelatinización, que no fue

detallado en el material secado por convección a temperatura de 50 °C.

Por otro lado, en un estudio realizado por Liu *et al.* (2006), Serrano y Franco (2005) sobre el efecto del tratamiento térmico en gránulos de almidón de yuca, *Manihot esculenta* Crantz, secados por convección a 50 °C y vistos al MEB presentaron una superficie lisa y una gran variedad de tamaños predominando las formas redondas y otros de forma truncada irregular. Mientras a la temperatura de 60 °C detallaron muchos fragmentos de los gránulos con superficies rugosas y pérdida del hilo de ligamento de las regiones amorfas y cristalinas.

Con relación a los cambios estructurales Yadav *et al.* (2006b) y Ruiz (2006) coincidieron en explicar que el secado en tambor rotatorio produce una parcial o completa destrucción de la estructura cristalina de los gránulos de almidón, que se ha corroborado por el patrón de difracción de rayos X (Sandoval *et al.*, 2005). Sobre la base de lo discutido y dado el interés de conocer las potencialidades de algunas tuberosas de producción autóctona en la región de la Cordillera Andina Venezolana para su aprovechamiento agroindustrial, se planteó en esta investigación evaluar la hidrólisis enzimática *in vitro* y la microscopía electrónica de la harina horneada y extrudida de arracacha, *Arracacia xanthorrhiza* Bancroft, dada la respuesta de relevante interés que esta genera aplicable en la formulación de alimentos a partir de este material amiláceo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las materias primas correspondieron a las harinas de arracacha de la variedad Xanthorrhiza, morfotipos blanco y amarillo, fueron obtenidas de raíces procedentes del municipio Tovar, estado Mérida. El acondicionamiento del material vegetal para la obtención de la harina se hizo siguiendo el esquema tecnológico propuesto por Pacheco (2001), que consistió en la selección, lavado, desinfección con jabón cuaternario al 1%, enjuagado con suficiente agua, pelado abrasivo, tratamiento por inmersión con una solución de ácido cítrico al 1% para controlar el oscurecimiento enzimático, escurrido y cubeteado (0,5x0,5cm) para el secado por convección.

Las harinas obtenidas por el método de secado por convección, se procesaron a las temperatura de bulbo seco de 70 y 80 °C con una velocidad fija de flujo de aire seco caliente de 11 m/s, en un equipo secador

industrial de bandejas marca Procter y Swchwartz, SCM Corporation Philadelphia, PA. U.S.A., por un tiempo de 4 y 3 horas, respectivamente.

Mientras las harinas elaboradas por secado en doble tambor rotatorio, se realizaron en un equipo de laboratorio marca Bruflovak de la Food Chemical Equipment Co, a una presión de vapor de saturación de 40 psi, temperatura de secado a 130,47 °C, velocidad de secado de 0,88 rpm, a partir de una mezcla de la harina elaborada por convección a 70 °C acondicionada en una relación de harina: agua de 1: 2. La muestra seleccionada para la comparación de las harinas obtenidas en doble tambor rotatorio, correspondió a la harina instantánea comercial en hojuelas gelatinizadas de arroz (marca Baby Quaker elaborado por Alimentos Polar-Venezuela) por su similitud con la harina en estudio. La enzima usada para las pruebas de digestibilidad *in vitro* fue la alfa amilasa pancreática porcina de actividad 10 000 UI, marca Sigma Chemical Co (A-3176-St. Louis, EEUU).

Plan de muestreo y análisis estadístico

Para la obtención de las harinas horneadas por el método de secado de convección, se tomó de forma aleatoria 3 muestras de raíces frescas de cada morfotipo, siendo conformada cada muestra por un promedio de 10 kg y para elaborar las harinas en tambor rotatorio se uso una muestra total de 8 kg de la harina horneada a 70 °C, asignando 4 kg por morfotipo. Con relación a las pruebas estadísticas se estableció para los datos de digestibilidad *in vitro* del almidón, seguir un modelo completamente aleatorizado aplicando un análisis de varianza de 2 vías para comparar todas las observaciones en función de la media de cada grupo y las pruebas de comparación de medias de Tukey para un nivel de confianza del 95% en los casos donde la varianza detectó diferencias significativas entre las medias comparadas referidas a los niveles de hidrólisis enzimática (Montgomery, 1991). Los análisis se realizaron por el programa computarizado de Statistix para soporte técnico de Windows 2000.

Análisis de la hidrólisis enzimática *in vitro* del almidón en las harinas: se realizó por el método de Holm *et al.* (1985), el cual permitió determinar la tasa de digestión del almidón en los alimentos como se ingieren. El almidón se hidrolizó con α -amilasa pancreática porcina, reduciéndose este en azúcares señalados como equivalentes de maltosa, determinados por espectro-

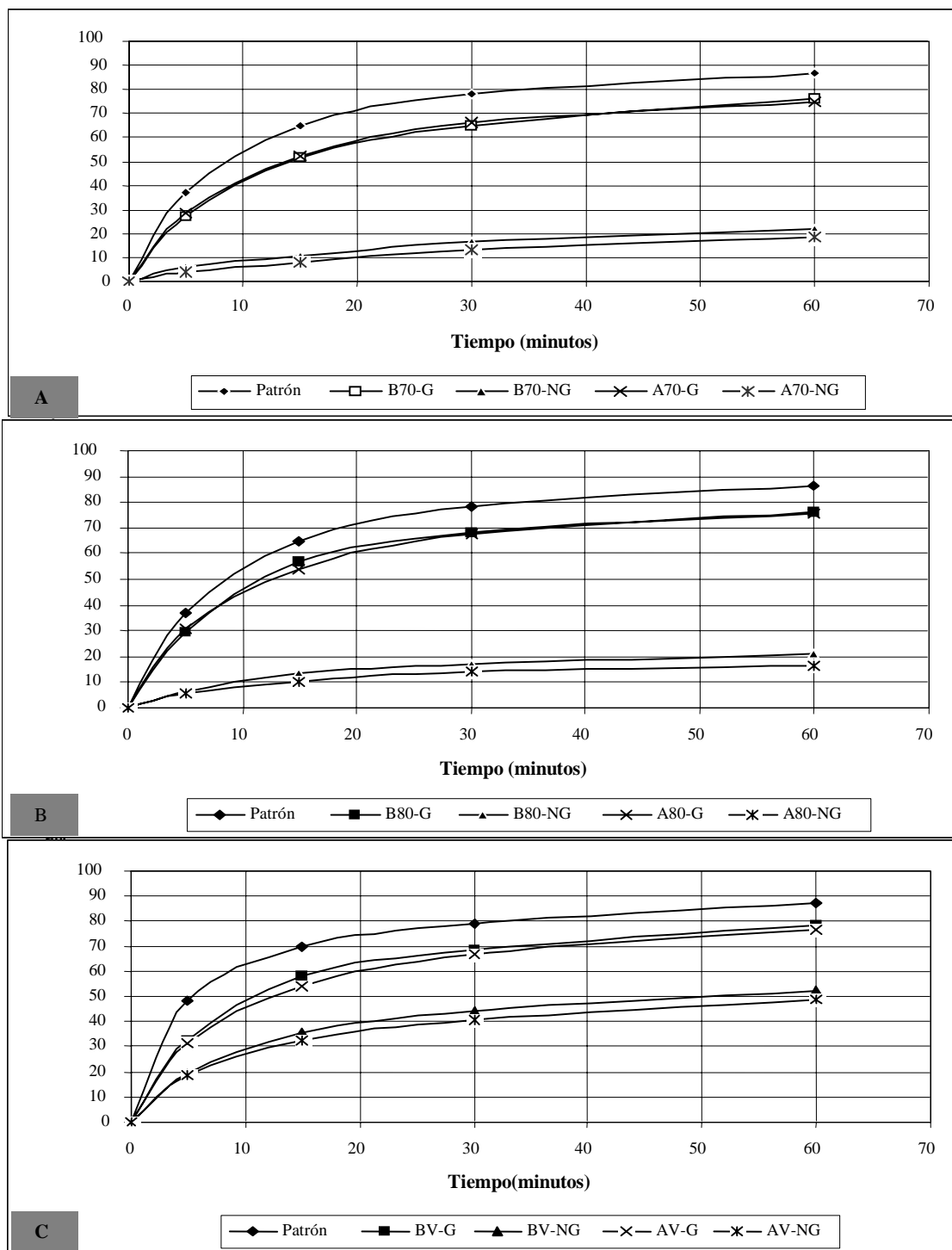
fotometría a una absorbancia de 530 nm. Los resultados se expresaron como porcentaje de hidrólisis enzimática. Para la interpretación de los resultados se tomo como referencia los contenidos de almidón disponible (método multienzimático de Holm *et al.*, 1986), almidón resistente (método de Goñi *et al.*, 1996) y fibra dietaria (método enzimático-gravimétrico de Prosky *et al.*, 1992). Para analizar el comportamiento de los niveles o grados de hidrólisis de las distintas muestras, se compararon estas previamente gelatinizada a la temperatura de 98 °C por 20 min y sin gelatinizar con respecto a la muestra de referencia (hojuelas gelatinizadas de arroz), que fue considerada de mayor digestibilidad enzimática por la acción de la α -amilasa pancreática.

Análisis de MEB: las muestras de las distintas harinas en estudio, se prepararon en los porta-espécimen utilizando un soporte de doble tape de grafito, sometiendo posteriormente la muestra a un cobertor iónico de ~100 A° en un equipo de cobertor iónico EIKO IB3, observando los efectos de la temperatura de deshidratación sobre el material en un rango de 600 a 1500 x en un MEB marca HITACHIS-2300.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1, se observa la velocidad de hidrólisis de la enzima α -amilasa en las harinas horneadas por convección, previamente gelatinizada en medio acuoso, encontrándose que en el tiempo de 5 a 30 min, las harinas blancas tratadas a 70 °C, tienden a incrementar la hidrólisis del almidón desde $27,31 \pm 0,11$ a $65,04 \pm 0,10\%$ y las amarillas de $28,40 \pm 0,07$ a $66,36 \pm 0,10\%$, encontrándose transcurridos 60 min una mayor relación de hidrólisis en la harina de arracacha blanca ($76,30 \pm 0,10\%$) que en la amarilla ($73,84 \pm 0,09\%$) sin que existan diferencias significativas ($P \geq 0,05$) entre ellas.

Estas respuestas al compararla con la muestra estándar (hojuelas gelatinizado de arroz) tomada como referencia por reflejar la máxima hidrólisis de un sustrato amiláceo, se pudo detectar que las harinas en estudio mostraron una menor, pero no baja susceptibilidad a la amilólisis, registrada en función al tiempo. Infiriéndose, que la velocidad de reacción para las muestras gelatinizadas en estudio, tienden a una digestión del almidón disponible intermedia, pero que continua al tiempo de 60 min alcanzando valores máximos promedios entre 76,30 y 73,84%, no siendo más altos estos promedios posiblemente por la presencia de cierta fracción de almidón, que se resiste a esta amilólisis.



A: Harinas de arracacha deshidratadas por convección a 70 °C; **B:** Harinas de arracacha deshidratadas por convección a 80 °C; **C:** Harinas de arracacha deshidratadas en doble tambor rotatorio. Muestra patrón o estándar: almidón de maíz gelatinizado. **A70-G:** harina de arracacha amarillo deshidratada a 70 °C -gelatinizada. **B80-NG:** harina de arracacha blanca deshidratada a 80 °C- no gelatinizada. **AV:** harina de arracacha amarillo deshidratada en tambor rotatorio

FIGURA 1. Velocidad de hidrólisis enzimática por acción de la α -amilasa pancreática en las harinas de arracacha deshidratadas por convección y en tambor rotatorio.

De acuerdo a la clasificación nutricional de los almidones propuesta por Englyst y Cummings (1992) basado en la velocidad con que un alimento libera glucosa bajo las condiciones específicas de estudio, esta respuesta correspondería a un almidón que tiende a ser rápidamente o altamente digerible, ya que la conversión en glucosa ocurre en un tiempo menor a los 120 min, pero no a los 20 min para referirse a los almidones rápidamente digeribles, siendo por esto tentativamente una digestión de tipo intermedia.

En el caso de las harinas sin gelatinizar, se determinó que las muestras de los morfotipos blanco y amarillo horneadas por convección a 70 °C, siguen una tasa de hidrólisis muy lenta, aunque entre ellas pareciera que la enzima en dichas condiciones tiene con más facilidad a interactuar con la harina del morfotipo amarillo. Pero, evidentemente al compararla con las muestras gelatinizadas (73,84-76,30%), la tasa de amilólisis (22,10-18,22%) fue significativamente baja ($\alpha:0,05$), siendo esto posible a la existencia de fibra dietaria o de carbohidratos en una conformación difícil de ser hidrolizada por la enzima, tal vez parecida a los almidones resistentes o debido a la presencia de fracciones formando complejos inaccesibles a la acción de la enzima que en conjunto reducen la acción enzimática de la α -amilasa pancreática.

Esta aseveración se complementa por el comportamiento anterior, de los gránulos de almidón gelatinizados, donde se determinó que este proceso incrementa la disrupción de la estructura del almidón aumentando linealmente la susceptibilidad de los polisacáridos en suspensión a la degradación por la amilasa pancreática en su actividad de liberación de la glucosa.

En el caso de las harinas horneadas por convección a 80 °C previamente gelatinizadas (Figura 1B), se encontró una tasa de hidrólisis más rápida desde la velocidad de inicio de la reacción, tanto en las harinas del morfotipo blanco ($29,98 \pm 0,05\%$) como amarillos ($30,80 \pm 0,11$). Aunque, al compararlas con las muestras obtenidas a 70 °C (Figura 1A), estas mantuvieron incrementos sostenidos de la tasa de amilólisis por el tiempo de exposición de 60 min a la acción de la enzima, alcanzando valores promedios de $29,98 \pm 0,05$ a $76,38 \pm 0,08$ y $30,80 \pm 0,11$ a $75,05 \pm 0,07$, respectivamente.

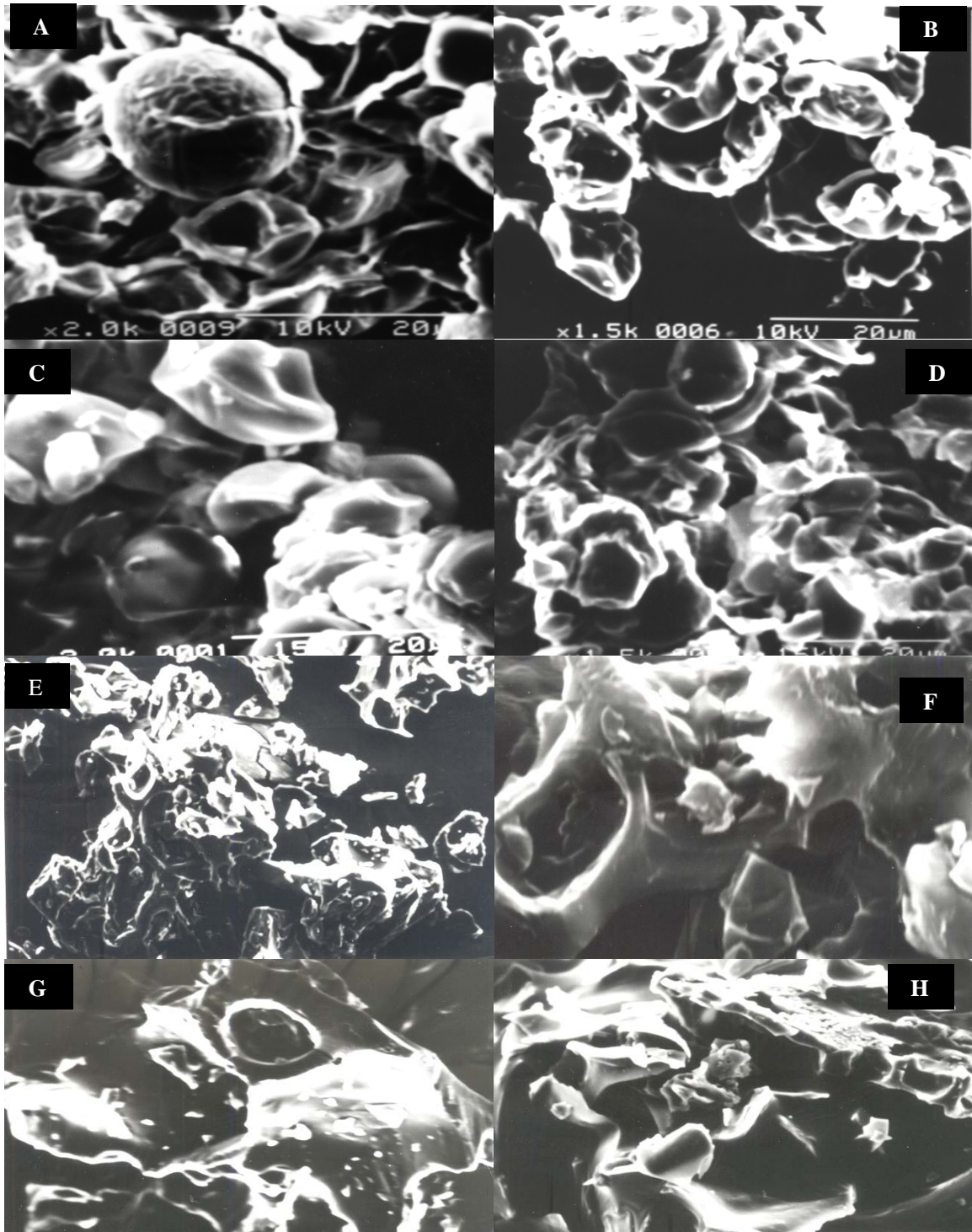
Es probable que las diferencias entre las muestras obtenidas por convección, se debieran a la severidad del tratamiento térmico a la temperatura de 80 °C por 3 h

con respecto a la temperatura de 70 °C sobre el gránulo de almidón. Esto por favorecer la disrupción o liberación de posibles estructuras complejas, alterar su integridad y conformación (tamaño y distribución de las fracciones de amilosa, amilopectina y de otros constituyentes), que reducen cualquier impedimento físico, para la acción consecutiva de la enzima en los puntos activos y específicos a nivel del polisacárido. Esta tendencia fue observada en la muestra vista al MEB (Figura 2A y 2B), donde los gránulos de almidón presentaron alteraciones en su forma de globulares a poliédricas, estructura y tamaño definidos a formas agregadas o de masa continua con un menor grado en los gránulos tratados a la temperatura de 80 °C (Figura 2C y 2D), que mostraron fusión incompleta en la fracción de amilosa y amilopectina, indicativas de la pérdida de la cristalinidad.

Sin embargo, se encontraron diferencias significativas ($P<0,05$) en el grado de hidrólisis de este sustrato al compararlo con la muestra estándar a los 60 min ($85,41 \pm 0,10$ a $86,54 \pm 0,08$), debido a la posible presencia de una fracción que se resiste a la hidrólisis por acción de la enzima en estudio, que representó un promedio de $5,98 \pm 0,08$ g/100g del almidón resistente y de $4,66 \pm 0,03$ a $4,87 \pm 0,03$ g/100g de fibra dietaria, tanto en las harinas del morfotipo blanco y amarillo. Siendo, este material amiláceo considerado de rápido o altamente digerible, ya que la diferencia en la conversión de glucosa con respecto a esta muestra fue aproximadamente un 13,20%.

Al comparar estos resultados con las experiencias de la literatura, se encontró que estos presentaron una tasa de hidrólisis enzimática similar a las descritas para los materiales nativos gelatinizados y aquellos sometidos a severos tratamientos térmicos, donde se evidenció una rápida y alta actividad enzimática, pero con una leve reducción de la digestión del almidón por la presencia de compuestos que limitan la afinidad de la enzima α -amilasa a la hidrólisis progresiva, de acuerdo a lo explicado por Tester *et al.* (2006).

Mientras, el comportamiento de las muestras sin gelatinizar fueron similares a las identificadas por Espín *et al.* (2002), en materiales amiláceos de raíces y tubérculos, al mostrar en el medio de dispersión de la enzima, una velocidad de hidrólisis lenta, el cual se atribuyó a la cantidad de amilosa contenida y a la dificultad de la enzima para actuar sobre la extensa cadena de distribución de la amilopectina ($\alpha 1-6$), ya que esta actúa principalmente sobre la cadena lineal ($\alpha 1-4$).



A: Harina de arracacha blanco deshidratada a 70 °C; **B:** Harina de arracacha amarilla deshidratada a 70 °C; **C:** Harina de arracacha blanco deshidratada a 80 °C; **D:** Harina de arracacha amarilla deshidratada a 80 °C; **E:** Harina de arracacha blanco secado en tambor rotatorio; **F:** Harina de arracacha amarilla secado en tambor rotatorio; **G:** Harina de arracacha blanco secado en tambor rotatorio; **H:** Harina de arroz comercial (marca Baby Quaker).

FIGURA 2. Micrografía electrónica de barrido de la harina de arracacha deshidratada por convección y en doble tambor rotatorio.

La baja tasa de amilólisis que fue observada, se relacionó con la presencia de los contenidos de almidón resistente y fibra dietaria en el medio. Además, de haberse considerado la probable influencia de ciertas cantidades de fosfatos monoésteres, lípidos y fosfolípidos, así como de los gránulos de almidón con cambios estructurales originados por el efecto del tratamiento térmico aplicado (grado de gelatinización del gránulo de almidón). En consecuencia se entendió que las harinas horneadas por convección, mostraran niveles de hidrólisis, muy bajos para describir la velocidad con que el alimento libera glucosa en las condiciones específicas del ensayo. Esta posible respuesta fue discutida por Hung y Morita (2005), quienes concluyeron que estos factores y la retrogradación de los almidones, podrían ser la razón de la limitada acción de la enzima pancreática para generar tal respuesta.

Los valores de velocidad de digestión hidrolítica de los polisacáridos en estudio, determinaron que a los 15 min de acción de la enzima α -amilasa pancreática ocurre una hidrólisis enzimática en más de un 50% y al cabo de los 60 min estos promedios aumentan entre un 73 a 76%. Siendo esta respuesta favorable por permitir recomendar a estas harinas para ser incluidas como ingrediente en la formulación de alimentos, donde su preparación requiera ser sometidos a cocción por corto tiempo (por ejemplo sopas, cremas o productos horneados). Ya que se ha demostrado que los alimentos cocidos u horneados son de más fácil y rápida digestión enzimática, como consecuencia de que el tratamiento calórico produce la ruptura de los gránulos de almidón y un cambio irreversible en la estructura cristalina de la molécula (gelatinización), facilitando de este modo la acción de la enzima α -amilasa pancreática en el proceso de digestión natural (Hung y Morita, 2005; Farhat *et al.*, 2001; Gallant *et al.*, 1992).

Al comparar las harinas horneadas por convección con las obtenidas en doble tambor rotatorio (Figura 1C), se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) por el mayor grado de hidrólisis enzimática, determinada en las harinas no gelatinizadas desde el inicio de la acción de enzima amilasa pancreática (20,41-21,88%), la cual fue incrementando hasta los 60 min a valores promedios de $56,66 \pm 0,12$ a $58,21 \pm 0,10$, lo cual puede representar una velocidad de hidrólisis intermedia y por ello inferir posiblemente un índice glucémico menor. De acuerdo a estos resultados, pareciera que el tiempo de exposición de la muestra a una alta temperatura de secado, influyó en las características de la velocidad de la digestión hidrolítica de las harinas, dadas las modifi-

caciones internas y periféricas que tuvo el gránulo de almidón por efecto del tratamiento hidrotérmico.

Un comportamiento similar, fue encontrado en las muestras previamente gelatinizadas, permitiendo esta respuesta inferir que el tratamiento térmico aplicado para la obtención de las harinas en doble tambor rotatorio, favorecen la velocidad de hidrólisis enzimática de la enzima α -amilasa, dando lugar a que estas sean rápida y altamente digeribles, como la muestra estándar analizada bajo las mismas condiciones.

De acuerdo a estos resultados, se podría considerar que las diferencias en la digestibilidad *in vitro* del almidón entre estas harinas, dependen no sólo de la fuente botánica, sino de las condiciones y la influencia de los factores físico en el proceso de deshidratación del material amiláceo, dadas las modificaciones que este promueve sobre el gránulo de almidón, como por ejemplo en el tamaño granular, área de la superficie del gránulo, proporción de la amilosa/amilopectina, cantidad de complejos que puedan formarse entre la amilosa y los lípidos, regiones cristalinas y extensión de la cadena de amilopectina (Serrano y Franco, 2005; Polaina, 2004; Osorio *et al.*, 2004).

Tal como se observó en la micrografía de MEB (Figuras 2E, 2F y 2G) donde se muestra los cambios del gránulo a formas de escamas y de material agregado sin áreas definidas, tipo masa discontinua, similares a las observadas en la muestra comercial de harina en hojuelas de arroz (Figura 2H) en la harina de yuca obtenida en tambor rotatorio por González y Pérez (2003) y por Leonel *et al.* (2004) en muestras de gránulos de almidón de batata sometidas a deshidratación por atomización con aire caliente a temperatura de 80-120 °C, donde evidenciaron la pérdida de la birrefringencia. Así como las vistas por Yadav *et al.* (2006a) en muestras sometidas al secado en tambor rotatorio, donde detallaron una parcial a completa destrucción de la estructura cristalina de los gránulos de almidón. Indicando Serrano y Franco (2005) que al existir una menor cristalinidad de los gránulos hay una mayor tasa de hidrólisis, dada por la presencia de un gránulo de almidón parcial o completamente gelatinizados.

Por otro lado, esta respuesta permite recomendar el uso de las harinas horneadas por convección, previamente gelatinizadas para incrementar la disponibilidad enzimática del almidón, debido al efecto de este tratamiento sobre los gránulos de almidón. Esta propuesta coincide con lo discutido por Tovar *et al.* (1991), Gunaratne y

Hoover (2002), Tovar *et al.* (2005), quienes explicaron que la susceptibilidad de los almidones aumenta con la temperatura óptima de acción de la enzima α -amilasa, aunque su actividad y velocidad hidrolítica, se vea afectada por la naturaleza de la superficie del gránulo, la cristalinidad, a la presencia de almidón resistente y fibra dietaria, factores importantes para definir la capacidad de la enzima de lograr la disrupción del gránulo y su entrada rápida al interior del mismo (ver Cuadro).

La harina obtenida en doble tambor rotatorio posee un contenido de almidón resistente ($1,53 \pm 0,09$ g/100g) y de fibra dietaria ($9,65 \pm 0,05$ g/100g) mayor que en la muestra estándar o de referencia (hojuelas gelatinizadas de arroz), considerándose que estos contenidos posiblemente influyen en la velocidad de hidrólisis de la enzima (Polaina, 2004; Pandey *et al.*, 2000; Rendleman, 2000). Sin embargo, estas harinas tuvieron una tasa de amilosis más alta que las horneadas por convección, siendo entonces posible que presenten un mayor índice glucémico.

Esta aseveración se sustenta por las experiencias de Islas *et al.* (2006) quienes concluyeron que el almidón potencialmente disponible, el aumento del almidón total resis-

tente y el almidón retrogradado, juegan un papel importante en la reducción de la tasa de digestibilidad del almidón, por efecto de la endoenzima α -amilasa en los alimentos e incluso durante el almacenamiento. Así como que una alta velocidad de amilólisis *in vitro* permite la predicción de una alta respuesta glucémica postprandial de un alimento (Tovar *et al.*, 2005).

CONCLUSIONES

- Las harinas de ambos morfotipos fueron sensibles a la hidrólisis de la enzima α -amilasa pancreática, resultando las obtenidas en doble tambor rotatorio de alta digestión enzimática con respecto a las horneadas por el método de convección (tasa amilolítica intermedia) a causa de la mayor incidencia del tratamiento térmico de secado sobre los cambios estructurales a nivel de las regiones amorfas de los gránulos de almidón, vistos al MEB. Considerándose por ello que estas harinas podrían ser usadas como materia prima alternativa para formular productos instantáneos, como por ejemplo bebidas, papillas o atoles, que usualmente son elaborados con la harina de trigo (*Triticum sativum* L.).

CUADRO. Contenido de almidón, almidón resistente y fibra dietaria en las harinas de arracacha obtenidas por convección y en doble tambor rotatorio.

Harinas	Humedad (g/100g)	Almidón (g/100g)	Almidón resistente (g/100g)	Fibra dietaria (g/100g)
HA70	$9,68 \pm 0,03^a$	$74,36 \pm 0,04^a$	$5,99 \pm 0,03^a$	$4,20 \pm 0,02^c$
HB70	$9,76 \pm 0,04^a$	$74,47 \pm 0,03^a$	$5,97 \pm 0,02^a$	$4,66 \pm 0,03^b$
HA80	$9,66 \pm 0,02^a$	$74,24 \pm 0,02^a$	$5,79 \pm 0,02^b$	$4,72 \pm 0,02^a$
HB80	$9,64 \pm 0,03^a$	$74,38 \pm 0,02^a$	$5,71 \pm 0,03^b$	$4,87 \pm 0,03^a$
HADT	$3,84 \pm 0,06^b$	$68,44 \pm 0,02^a$	$1,49 \pm 0,02^c$	$4,87 \pm 0,03^a$
HBDT	$3,81 \pm 0,04^b$	$68,56 \pm 0,04^b$	$1,53 \pm 0,09^c$	$4,87 \pm 0,03^a$

* Letras iguales no existe diferencias significativas en una misma columna.

**HA70: Harina de arracacha amarilla obtenida por convección a 70 °C.

HB70: Harina de arracacha blanca obtenida por convección a 70 °C.

HA80: Harina de arracacha amarilla obtenida por convección a 80 °C.

HB80: Harina de arracacha blanca obtenida por convección a 80 °C.

HADT: Harina de arracacha amarilla obtenida en doble tambor rotatorio.

HBDT: Harina de arracacha blanca obtenida en doble tambor rotatorio.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de la Planta Piloto de Vegetales- FAGRO-UCV, Planta Piloto de la Fundación CIEPE- Estado Yaracuy, Dr. Olivar Castejón-Director del Centro de Microscopia Electrónica de la Universidad de Carabobo (CIADANA)- Estado Aragua y a la ayuda de la técnica Gloria Betancourt (Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Agronomía-UCV).

BIBLIOGRAFÍA

- Bemiller, J. 1997. Starch modification: challenges and prospects. *Starch/Starke*, 49(4):27-131.
- Buléon, A., P. Colonna, V. Planchot and S. Ball. 1998. Starch granules: Structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 23:85-112.
- Englyst, H. and J. Cummings. 1985. Digestion of the polysaccharides of some cereal foods in the human small intestine. *American Journal of Clinical Nutrition*. 42:778-787.
- Englyst, H., S. Kingman and J. Cummings. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46 (suppl. 2):33-50.
- Espín, S., X. Chiriboga y J. Altamirano. 2002. Caracterización química y digestibilidad de los almidones de siete especies de raíces y tubérculos andinos del Ecuador. **In:** resúmenes XI Congreso Italo-Latinoamericano di Etnomedicina "Alberto Di Capua" Atti_Resumenes. Università degli Studi di Pavia. Pavia, Italia. p.155.
- Farhat, J., A. Becker, B. Valles, R. Neale and S. Hill. 2001. Effect of the extent of conversion and retrogradation on the digestibility of potato starch. *Starch/Stärke*, 53:431-436.
- Gallant, I., A. Bouchet, S. Buleón and S. Pérez. 1992. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. *European Journal Clinical Nutrition*, 46(1):3-16.
- Goñi, I., L. García and F. Saura. 1996. Analysis of resistant starch: a method for foods products. *Food Chemistry*, 56(4):445-449.
- González, Z. y E. Pérez. 2003. Evaluación fisicoquímica y funcional de almidones de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) pregelatinizados y calentados con microondas. *Acta Científica Venezolana*, 54:127-137.
- Gunaratne, A. and R. Hoover. 2002. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydrate Polymers*, 49(4):425-437.
- Gupta, R., G. Paresh, H. Mohapatra, V. Kumar and B. Chauhan. 2003. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 38(11):1 599-1 616.
- Holm, J., I. Bjorck, A. Drews and N. Asp. 1986. A rapid method for the analysis of starch. *Starch/Starke*, 38:224-229.
- Hoover, R. 2001. Composition, molecular, structure and physicochemical properties of tuber and root starches. Review. *Carbohydrate Polymers*, 45:253-267.
- Hoover, R., and Y. Zhou. 2003. *In vitro* and *in vivo* hydrolysis of legume starches by α - amylase and resistant starch formation in legumes. A review. *Carbohydrate Polymers*, 54(4):401-417.
- Hung, P. and N. Morita. 2005. Physicochemical properties and enzymatic digestibility of starch from edible canna (*Canna edulis*) grown in Vietnam. *Carbohydrate Polymers*, 61(3):314-321.
- Islas, J., R. Rendón, E. Agama, F. Gutiérrez, J. Tovar, G. Arámbula and L. Bello. 2006. *In vitro* digestion rate and resistant starch content of tortillas stored at two different temperatures. *Food Science and Technology*. 39(8):947-951.
- Jayakody, L., R. Hoover, Q. Liu and E. Donner. 2007. Studies on tuber starches. II. Molecular structure, composition and physicochemical properties of yam (*Dioscorea* sp.) starches grown in Sri Lanka. *Carbohydrate Polymers*. 69:148-163.
- Karisson, M. and E. Eliasson. 2003. Gelatinization and retrogradation of potato starch in situ as assessed by differential scanning calorimetry. *Lebensm Wiss Technology*. 36:735-741.
- Laurentín, M., J. Cárdenas, E. Ruales, E. Pérez and J. Tovar. 2003. Preparation of indigestible pyrodextrins from different starch sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:5 510-5 515.

- Leonel, M., A. Dal Bianco and M. Reis. 2004. Physicochemical and microscopical characterizations of sweet potato, canna, cassava and cocoyam starches and their expansion properties after photochemical modification. *Brazilian Journal of Food Technology*, 7(2):129-137.
- Liu, Q., E. Donner, Y. Yin, R. Huang and M. Fan. 2006. The physicochemical properties and *in vitro* digestibility of selected cereals, tubers and legumes grown in China. *Food Chemistry*, 99(3):470-477.
- Lynn, A. and M. Cochrane. 1997. An evaluation of confocal microscopy for the study of starch granule enzymic digestion. *Starch/ Stärke*, 49:106-111.
- Montgomery, D. 1991. Diseño y análisis de experimentos. Editorial Iberoamericana. Caracas. 589 p.
- Moorthy, S. 2002. Physicochemical and functional properties of tropical tubers starch. A review. *Starch/ Stärke*, 54:559-564.
- Osorio, P., E. Agama, R. Carmona, J. Tovar, O. Paredes and L. Bello. 2004. Resistant starch and *in vitro* starch digestibility of cooked "ayocote" bean (*Phaseolus coccineus*). *Revista Interciencia*, 29:510-514.
- Pacheco, E. 2001. Evaluación nutricional de sopas deshidratadas a base de harina de plátano verde digestibilidad *in vitro* del almidón. *Acta Científica Venezolana*, 52:278-282.
- Pandey, A., P. Nigam, C. Zoccol, V. Soccol, D. Singht and R. Mohan. 2000. Advances in microbial amylases. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 31(2):135-152.
- Polaina, J. 2004. Structure, function and molecular engineering of enzymes involved in carbohydrate digestion. *Revista Mensaje Bioquímico, México*. 28:61-76.
- Planchot, P., D. Colonna, J. Gallant and B. Bouchet. 1994. Extensive degradation of native starch granules by α -amylase from *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Cereal Science*, 21:163-171.
- Proskey, L., N. Asp, E. Schweiser, J. Devries and Y. Furda. 1992. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food product. Interlaboratory study. *Journal Association Official Analytical Chemistry*, 75:1 017-1 023.
- Rao, M. and J. Tattiyakul. 1999. Granule size and rheological behavior of heated tapioca starch dispersions. *Carbohydrate Polymers*. 38:123-132.
- Rendleman, J. 2000. Hydrolytic action of α -amylase on high amylose starch of low molecular mass. *Biotechnology Applied Biochemistry*. 31:171-178.
- Rodríguez, D., M. Espitia, Y. Caicedo, Y. Cordoba, Y. Baena y C. Mora. 2005. Caracterización de algunas propiedades fisicoquímicas y farmotécnicas del almidón de arracacha (*Arracacha xanthorrhiza*). *Revista Colombiana de Ciencias Químicas y Farmacéuticas*, 34(2):140-146.
- Rodríguez, L. and S. Silva. 2003. Resistant starch and its physicochemical properties. *Revista de Nutrición*, 16(2):219-226.
- Ruiz, G. 2006. Obtención y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. *Revista Ingeniería y Ciencia*, 2(4):5-28.
- Sandoval, A., E. Rodríguez y A. Fernández. 2005. Aplicación del análisis por calorimetría diferencial de barrido para la caracterización de las modificaciones del almidón. *Revista de la Facultad de Minas-Colombia (DYNAS)*, 72(146):45-53.
- Serrano, P. and C. Franco. 2005. Annealing and enzymatic hydrolysis of cassava starch. *Brazilian Journal of Food Technology*, 8(3):220-232.
- Shamai, K., H. Bianco and E. Simón. 2003. Polymorphism of resistant starch type III, *Carbohydrate Polymers*, 54:363-369.
- Sreenath, H. 1992. Studies on starch granules digestion by α -amylase. *Starch/ Stärke*, 44:61-63.
- Svihus, B., A. Uhlen and O. Harstad. 2005. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 122:303-320.
- Tester, R. and S. Debon. 2000. Annealing of starch. a review. *Journal of Biological Macromolecules*, 27:1-12.
- Tester, R., X. Qi and J. Karkalas. 2006. Hydrolysis of native starches with amylases. Review. *Animal Feed Science and Technology*, 130(1-2):39-54.

- Tovar, J., A. de Francisco, I. Bjorck and N. Asp. 1991. Relationship between microstructure and *in vitro* digestibility of starch in precooked leguminous seed flours. *Food Structure*, 10:19-26.
- Tovar, J., C. Melito, E. Herrera, A. Rascón and E. Pérez. 2002. Resistant starch formation does not parallel syneresis tendency in different starch gels. *Food Chemistry*, 76:455-459.
- Tovar, J., I. Bjorck and N. Asp. 1990. Starch content and amylolysis rate in precooked legume flours. *Journal of the Agriculture and Food Chemistry*, 38:1 818-1 823.
- Tovar, J., M. Fernández and A. Blanco. 2005. Digestibilidad *in vitro* del almidón en preparaciones cocidas y molidas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Interciencia*, 30(12):780-783.
- Van Den Eijnde, R., A. Van Der Goot and R. Boom. 2003. Understanding molecular weight reduction of starch during heating-shearing processes. *Journal of Food Science*, 68(8):2 396-2 404.
- Wang, W., J. Powell and A. Oates. 1997. Effect of annealing on the hydrolysis of sago starch granules. *Carbohydrate Polymers*, 33:195-202.
- Yadav, A., M. Guha, R. Tharanathan and S. Ramteke. 2006a. Changes in characteristics of sweet potato flour prepared by different drying techniques. *Food Science and Technology*, 39(1):20-26.
- Yadav, A., M. Guha, R. Tharanathan and S. Ramteke. 2006b. Influence of drying conditions on functional properties of potato flour. *Journal European Food Research and Technology*, 223(4):553-560.
- Zhang, T. and C. Oates. 1999. Relationship between α -amylase degradation and physical-chemical properties of sweet potato starches. *Food Chemistry*, 65:157.