

Hidrólisis enzimática del almidón presente en la pulpa de chayota (*Sechium edule*) para la obtención de un jarabe glucosado

Enzymatic hydrolysis of the starch present in the chayote pulp (*Sechium edule*) to obtain of a glucose syrup

Curvelo –Vidal, Nervis^{1*}; Pérez, Luis¹; Flores, Claudio¹; Moreno, Wilmer²

¹Laboratorios de Investigación de Lácteos y Vegetales. Universidad Nacional Experimental “Simón Rodríguez”, Núcleo Canoabo -Venezuela

²Laboratorio de Investigación Bioprocesos. Universidad Nacional Experimental “Simón Rodríguez”, Núcleo Canoabo Venezuela

*ncurvelo07@yahoo.es

Resumen

*La hidrólisis enzimáticamente del almidón presente en la pulpa de chayota (*Sechium edule*) para la obtención de un jarabe glucosado; fue realizada en dos etapas. En la primera se utilizó α -amilasa proveniente del Hongo *Aspergillus oryzae*, 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 1 hora. Los jarabes obtenidos presentaron grados de conversión de ED; 23 % y 27 %, el cual se encuentran en un rango superior a 20 ED, lo que significa que se clasifican como glucosas líquidas de baja conversión.*

Palabras clave: *Sechium edule*, chayota, hidrólisis, enzimas, jarabe glucosado.

Abstract

*The enzymatic hydrolysis of the starch present in the pulp of chayote (*Sechium edule*) to obtain a glucose syrup; It was carried out in two stages. In the first, α -amylase from the *Aspergillus oryzae* fungus was obtained, which allowed the degradation of starch to dextrins. In this stage, tests were carried out to calculate the optimal hydrolysis time, which was 1 hour. The obtained syrups appeared ED conversion degrees; 23% and 27%, which is in a range greater than 20 DE, which means that they are classified as low-conversion liquid glucose.*

Keywords: *Sechium edule*, chayote, hydrolysis, enzymes, glucose syrup.

1 Introducción

La industria de alimentos representa un sector económico importante a nivel mundial. Dentro de los insumos relacionados con dicha industria se encuentran los jarabes que son utilizados como aditivos para la preparación de formulaciones alimenticias. La utilización de materias primas ricas en carbohidratos, tanto para la producción de biocombustibles, como para la producción de edulcorantes, propone buscar fuentes alternativas de materias primas. Surge entonces, la necesidad de evaluar otras especies y de gran potencial para la

alimentación que constituyan alternativas viables y económicas tanto por su valor nutritivo como por su fácil manejo y adaptación al medio (Fernández y col., 2018).

La Chayota (*Sechium edule*) es ampliamente cultivada en América. El cultivo fue introducido en América del Sur durante los siglos XVIII y XIX. El género *Sechium* pertenece a la familia de las cucurbitáceas. El *Sechium edule* es una planta vivaz, trepadora, monoica y vivípara. Asimismo, es una hortaliza muy versátil, ya que de ella se aprovechan las raíces, los tallos, las hojas, los zarcillos, la semilla, los frutos. Además, el fruto y la semilla contienen varios

aminoácidos, entre los cuales se encuentran la lisina, histidina, arginina, cisteína, valina, isoleucina, serina, alanina y tirosina (Gamboa, 2015).

La Chayota (*Sechium edule*), es una hortaliza que representa un cultivo de bajo consumo en el país, crece prácticamente de manera silvestre. A pesar de que su fruto no presenta características muy destacables, se considera que tiene un rol importante en la dieta de los habitantes de América Central, debido a su uso generalizado como alimento bajo diferentes formulaciones (Fernández y col., 2018). La Chayota como hortaliza, representa un interesante potencial aún fuera de las zonas en que son producidas, ya que puede formar parte de un grupo muy variado de alimentos, constituyendo además una fuente importante de vitaminas. En Venezuela, la utilización de esta hortaliza no ha sido difundida como tal, sin embargo, su uso está limitado al consumo familiar empleándose como complemento en platos, hervidas, en conservas agrídulce, dulces, en ensaladas crudos y pelados entre otros.

La modificación química de los almidones ayuda a mejorar las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los almidones. Esto permite que sean utilizados como aditivos o ingredientes funcionales, en el procesamiento de los alimentos. Un método de modificación es la hidrólisis ácida, en donde las moléculas de almidón se despolimerizan o se rompen los enlaces de forma más o menos al azar, produciendo inicialmente fragmentos de gran tamaño, lo cual reduce su viscosidad (Torres, 2006). El uso de enzimas que hidrolizan carbohidratos para convertir el almidón de edulcorantes nutritivos, no es una nueva tecnología. Durante siglos, la malta se ha utilizado para producir un jarabe de dulce a partir de almidón, aunque no se conoce en el momento en que las enzimas de malta eran responsables de la reacción. A partir del almidón se obtienen distintos derivados, como la glucosa, las dextrinas y los almidones modificados, todos ellos ampliamente usados en la elaboración de un gran número de alimentos e incluso en muchas otras industrias de productos no comestibles.

Según Bettín y col, (2021); El jarabe glucosado es una alternativa económica y accesible al azúcar. El jarabe es utilizado principalmente como un edulcorante en productos horneados, cerveza, gaseosas, bebidas deportivas, jaleas, helado, salsas, así como industriales y farmacéuticos en proceso de fermentación. La producción de jarabes glucosados y/o fructosados, se basa en la degradación del almidón, y ha sido empleada industrialmente desde la década del 70. Desde entonces, se han venido desarrollando procesos enzimáticos que permiten transformar el almidón en los llamados jarabes con alto contenido de glucosa y/o fructosa, dando origen a nuevos productos con mayor poder edulcorante y menor costo en relación con el azúcar de caña. Considerando cada uno de estos aspectos, se plantea como

propósito de esta investigación, hidrolizar enzimáticamente el almidón presente en la pulpa de Chayota (*Sechium edule*) para la obtención de un jarabe glucosado.

2. Generalidades de los Jarabes glucósidos

Los jarabes glucosados, son soluciones de glucosa en alta concentración que se utilizan en diversas aplicaciones de la industria alimenticia y biotecnológica (Blanco, 2002). Los jarabes de glucosa, se obtienen por hidrólisis enzimática del almidón. Este proceso requiere dos etapas, la primera etapa, denominada de licuefacción, que consiste en una hidrólisis de las largas cadenas de almidón para obtener maltodextrinas (cadenas más cortas de almidón), esta es llevada a cabo por la enzima α -amilasa que corta los enlaces glucosídicos α -1,4 internos en forma aleatoria del almidón. En la segunda etapa, denominada sacarificación se hidrolizan los enlaces α -1,4 y/o α -1-6 del terminal no reductor de la cadena de dextrina, por la enzima amiloglucosidasa, liberando glucosa (Sánchez y Col; 2004). Las propiedades fundamentales en las que se basa su utilización, se relacionan con su poder anticristalizante, higroscopicidad, cuerpo, textura y poder humectante.

Los jarabes con un equivalente de dextrosa (DE) mayor del 55%, se obtienen exclusivamente por hidrólisis enzimática utilizando las enzimas alfa amilasa y amiloglucosidasas. Se han llevado a cabo, un gran número de estudios empleando glucoamilasa para obtener jarabes glucosados de almidón con enzimas comerciales y enzimas de cepas aisladas; igualmente se han probado sistemas de inmovilización, sistemas de retención por membrana, entre otros (Agudelo y col; 2020).

Los edulcorantes, son aditivos que le confieren el sabor dulce a los alimentos. Dentro de los edulcorantes destacan los jarabes de glucosa que pueden ser obtenidos con diferentes composiciones y propiedades físicas (Aguilar, 2008). En la tabla 6 se presenta la composición típica de un jarabe de glucosa. Durante el proceso de obtención del jarabe de glucosa se involucran dos etapas enzimáticas: La licuefacción del almidón por la enzima α – amilasa; y La sacarificación, donde se emplea la glucoamilasa.

Las propiedades funcionales, más importantes de los jarabes de glucosa, son su poder edulcorante, viscosidad, higroscopicidad y regulación de la actividad de agua, temperatura de cristalización, pardeamiento, efecto en el punto de congelación o en el de ebullición y fermentación. Generalmente, los jarabes de glucosa no son cristalizables a temperatura ambiente si los contenidos de dextrosa son inferiores a 40%. La calidad de los jarabes de glucosa se determina por el factor DE (Dextrosa Equivalente), el cual indica el porcentaje de azúcar reductor que se encuentra en la materia

seca de cada tipo de jarabe de glucosa (Belloda y Bernal, 2004). El jarabe de glucosa se clasifica de la siguiente forma por su valor de Dextrosa Equivalente: DE: 20 – 38 de baja conversión, DE: 39 – 43 de conversión normal, DE: 44 – 58 de conversión media, DE: 59 – 67 de conversión alta y DE: 68 o más, de conversión extrema. La tabla 1, muestra una composición típica de un jarabe glucosado.

Tabla 1. Composición estándar de un jarabe de glucosa obtenido mediante hidrólisis enzimática del almidón.
Standard composition of a glucose syrup obtained through enzymatic hydrolysis of starch

COMPONENTE	% EN BASE SECA
Glucosa	94 – 96
Maltosa	2 – 3
Maltotriosa	0,3 – 0,5
Oligosacáridos	1 – 2
Materia seca en jarabe	35 – 37

Nota. Datos tomados de López Munguía, (2002).

El almidón, en su forma nativa se encuentra formado por dos constituyentes, la, amilosa y la amilopectina. La amilosa está constituida por cadenas largas no ramificadas de D – glucosa que se hayan unidas mediante enlaces α -(1,4), las cadenas son polidispersas y varían en peso molecular no es verdaderamente soluble en agua pero forma micelas hidratadas, que le confieren un enrollamiento helicoidal. La amilopectina está muy ramificada, la longitud media de las ramificaciones es de 24 a30 residuos de glucosa que varían según la especie. Los enlaces glucosídicos son α -(1,4) pero en los puntos de ramificación son enlaces α -(1,6). La amilopectina produce disoluciones coloidales o micelas que dan una coloración rojo violácea con el yodo y su peso molecular puede llegar hasta 100 millones (Vargas y Silver, 2018). En la amilosa las unidades de D-glucosa, se presentan como anillos de piranos unidos en α -1,4, la unidad de disacárido que se repite es la maltosa (Figura 1). Es un polímero de cadena lineal o recta. El peso molecular de la amilosa varía según su clase botánica, el cuidado puesto en su aislamiento y el método utilizado.

La amilopectina, con mayor peso molecular, es un polímero de unidades de D- glucosa de cadenas ramificadas de longitud mediana (24 a 30 unidades por ramificación) con enlaces glucosídicos en la cadena principal del tipo α -1,4 y con enlaces en los puntos de ramificación del tipo α -1,6 formando de esta manera una estructura ramificada.

En este mismo orden de ideas, Badui (2006), señala que el almidón desde el punto de químico es una mezcla de polisacáridos muy similares, la amilosa y la amilopectina, donde la amilosa es producto de la condensación de

D–glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos α – 1,4; que establece largas cadenas lineales con 200 – 2500 unidades y pesos moleculares de hasta un millón, es decir, la amilosa es una α – D – glucana, cuya unidad repetitiva es la α – maltosa. Tiene la facilidad de adquirir una conformación helicoidal tridimensional, en la que cada vuelta de la hélice consta de seis moléculas de glucosa.

Por su parte, la amilopectina se diferencia de la amilosa en que contiene ramificaciones que le dan una forma molecular similar 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 (Figura 3). En términos generales, los almidones contienen aproximadamente 17 – 27 % de amilosa y el resto de amilopectina.

La hidrólisis del almidón, se puede hacer por dos vías: ácida o enzimática. La hidrólisis ácida del almidón a glucosa es una técnica que tiene muchas desventajas: formación de productos no deseables y flexibilidad muy pobre (el producto final sólo se puede modificar cambiando el grado de hidrólisis), por último es necesaria que el equipo resista el ácido y las temperaturas requeridas durante el este proceso. La hidrólisis enzimática en los últimos 30 años ha desplazado la hidrólisis ácida, debido a que se dispone de nuevas enzimas. Hoy en día, la mayor parte de la hidrólisis de almidón se realiza usando enzimas, ya que esta técnica presenta ventajas como: control de la formación de productos no deseables y mayor flexibilidad del producto (Vargas y Silver, 2018). La alfa-amilasa (Alfa 1,4-D- Glucan Glucano - hidrolasa) hidroliza los enlaces glucosídicos alfa-1,4 de los polisacáridos que poseen 3 o más unidades de D-glucosa en unión alfa-1,4. El ataque se hace en forma no selectiva (tipo endoenzima) sobre varios puntos de la cadena simultáneamente, aunque los primeros productos de la hidrólisis son siempre oligosacáridos de 5-7 unidades de glucosa, o un número múltiplo.

La amiloglucosidasa (Alfa-1,4- D-Glucan glucohidrolasa), es una exohidrolasa también conocida como glucoamilasa, que hidroliza los enlaces glucosídicos alfa-1,4 y alfa-1,6 de la amilosa y la amilopectina separando unidades de glucosa a partir del extremo no reductor de la cadena (Carrera, 2002). La glucoamilasa (glucano 1,4- α -glucosidasa), es una enzima fúngica, extracelular, producida comercialmente con *Aspergillus niger* o *Rhizopus sp.*, que libera unidades de D-glucosa de los extremos no reductores del almidón y de oligosacáridos como las maltodextrinas.

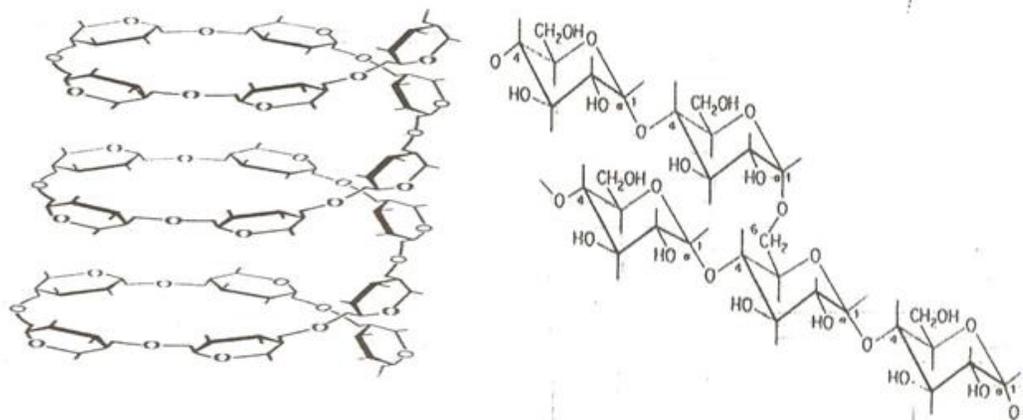


Fig.1. Moléculas de amilosas y amilopeptinas
Amylose and amylopectin molecules.

Esta habilidad de degradación del almidón a glucosa tiene una gran aplicación industrial en el proceso de producción de jarabes de glucosa, materia prima en panadería, en la industria de bebidas y en infinidad de procesos biotecnológicos de los cuales los más representativos son la producción de fructosa y etanol.

El proceso de conversión de almidón gelatinizado a un jarabe glucosado generalmente está representado en 2 etapas: licuefacción y sacarificación. La licuefacción se presenta cuando se emplea la enzima α -amilasa (durante o después de gelatinizar el almidón), cortando las cadenas de los polímeros amilosa y amilopeptina en cadenas de tamaño regular, dando como resultado dextrinas, maltosa, maltotriosa y maltopentosa. Para la producción de glucosa, se requiere de una segunda etapa consecutiva a la licuefacción denominada sacarificación, adicionando la enzima amiloglucosidasa (AMG) dando como principal producto la glucosa.

La α -amilasa, también conocida como α -1,4glucanohidrolasa; EC 3.2.1.1 es una glucanasa endoactiva que catalizan la hidrólisis al azar de los enlaces α -(1,4) glucosídicos de la región central de las cadenas de amilosa y amilopeptina excepto en las proximidades de los puntos de ramificación. La velocidad de hidrólisis, es más lenta en los enlaces cercanos a los puntos de ramificación.

La hidrólisis de la amilopeptina por esta enzima produce glucosa, maltosa y una serie de dextrinas que contienen enlaces ramificados conformados por 4 o más residuos de moléculas de glucosa que presentan enlaces α -1,6 provenientes de las uniones glucosídicas de la estructura original. Los productos obtenidos en mayor concentración son maltosa, maltotriosa y maltopentosa, hidrolizando completamente la maltohexosa.

El peso molecular reportado para las α -amilasas provenientes de *Bacillus Licheniformis* se encuentra alrededor de los 60 kDa (Cruz, 2012). En la tabla 2, se puede observar la acción que ejerce sobre el almidón de la fosforilasa, α -glucosidasa, α -amilasa, β -amilasa y enzimas desramificadoras (pululanasa), así como los microorganismos productores de dichas enzimas.

Tabla 2. Acción que ejerce sobre el almidón de la fosforilasa, α -glucosidasa, α -amilasa, β -amilasa y enzimas desramificadoras (pululanasa).
Action exerted on starch by phosphorylase, α -glucosidase, α -amylase, β -amylase, and debranching enzymes (pulullanases).

Enzima	Acción	Microorganismos productores
α -glucosidasa	Necesita agua para la hidrólisis, ataca enlaces α -1,4 ó α -1,6 con menos frecuencia. Exoenzimas que acortan las cadenas de almidón en una unidad, a partir del extremo no reductor, libera glucosa.	<i>Aspergillus Niger</i> <i>Rizhopus niveus</i> <i>Aspergillus oryzae</i>
β -amilasa	Necesita agua para la hidrólisis, ataca enlaces α -1,4. Acorta las cadenas de almidón en dos unidades, a partir del extremo no reductor, libera como maltosa.	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Streptomyces sp.</i>
α -amilasa	Necesita agua para la hidrólisis, ataca enlaces α -1,4. Endoenzimas que rompen las cadenas al azar generando una mezcla de maltosa y oligosacáridos.	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Bacillus polymixa</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>
Enzimas desramificadoras (Pululanasa)	Necesita agua para la hidrólisis, ataca enlaces α -1,4. Desramificación de la amilopeptina produciendo una mezcla de dextrinas y unos pocos azúcares.	<i>Clostridium thermodyrosulfurico</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>aerogenes</i> , <i>Bacillus polymixa</i>

Nota. Datos tomados de Espitia, (2009)

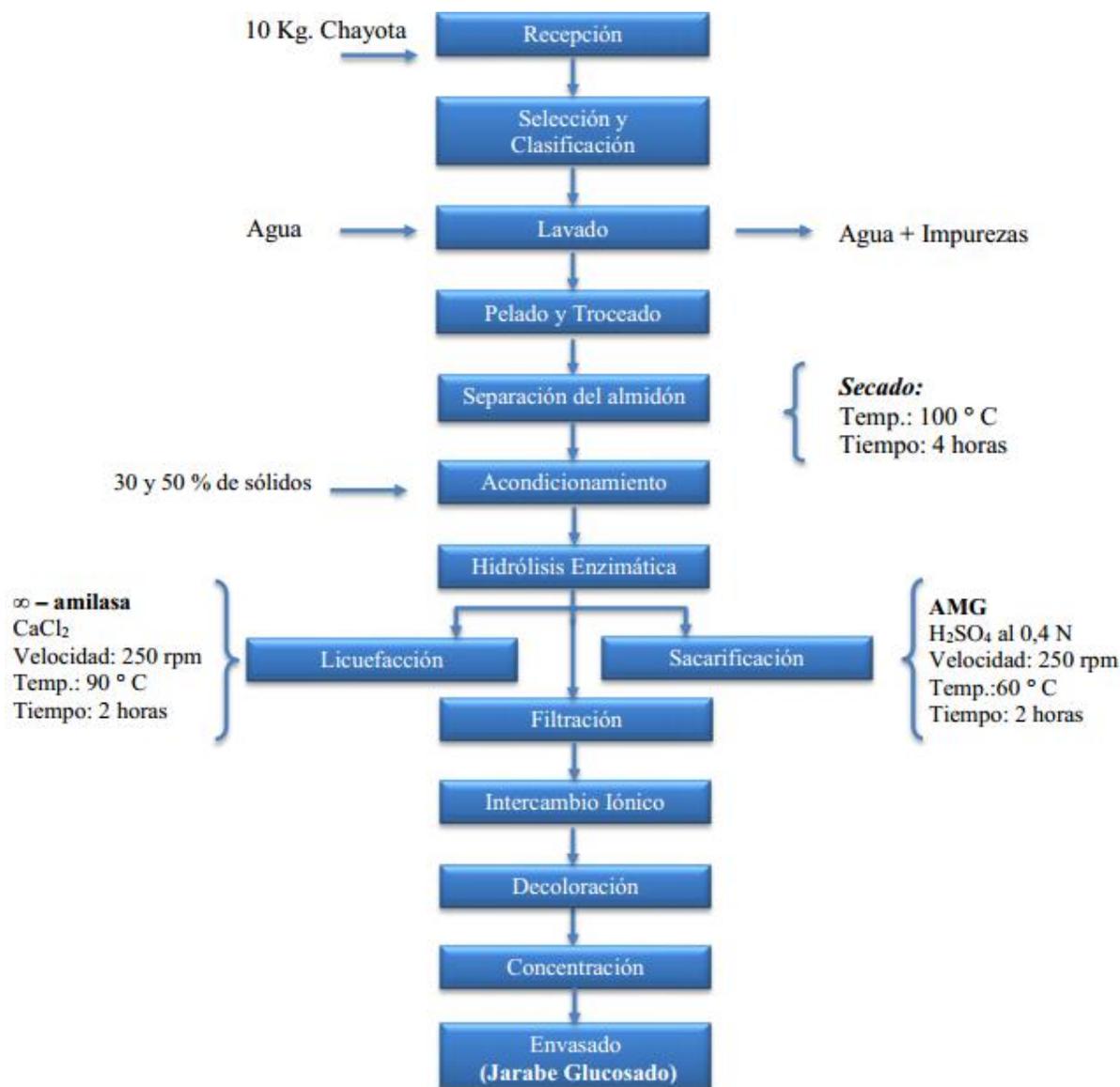


Fig.2. Esquema tecnológico para la obtención de un jarabe glucosado a partir de la hidrólisis enzimática del almidón de la pulpa de Chayota (*Sechium edule*).

Technological scheme for obtaining a glucose syrup from the enzymatic hydrolysis of the starch of the pulp of Chayota (*Sechium edule*).

3. Producción del Jarabe de Glucosado

En la figura 2 se muestra un esquema para producción de jarabe glucosado a partir del almidón de pulpa de chayota (Figura 2). Primeramente, se obtuvo el almidón, donde se recibieron chayotas frescas, lavándose con abundante agua para eliminar las impurezas que pudieran estar presentes en la superficie de las hortalizas. Posteriormente se cortaron y trocearon manualmente mediante el uso de cuchillos de acero inoxidable. Con la finalidad de llevar a cabo el aislamiento del almidón. Se utilizó el método de extracción propuesto por Flores- Gorosquieta et al. (2004), procedimiento que consiste

en molienda de la pulpa, tamizado y centrifugado. Seguidamente, el residuo sólido se sometió a un proceso de secado, utilizando para ello, una estufa al aire, a una temperatura de 100 °C y por un tiempo de 4 horas aproximadamente, para la obtención del almidón en polvo. Esta etapa consiste en separar el almidón, con el objetivo de calcular el rendimiento del almidón.

Para los procesos de licuefacción y sacarificación se adaptaron beakers de 1 litro como biorreactores, en los cuales se depositó la solución de 0,5 litros de almidón con concentraciones de (30 y 50 % p/v). Luego, se adicionó una concentración de iones calcio (CaCl_2) a 70 ppm, se ajustó el pH

hasta 6.5 y se agregó la enzima α amilasa de AB Enzymes. Posteriormente, los birreactores se introdujeron en un baño termostático a 90 °C, y la solución se sometió a una agitación de 250 rpm con un tiempo de residencia alrededor de 2 horas durante las cuales se tomaron muestras cada 20 minutos. En el proceso de sacarificación se enfrió y controló la temperatura a 60 °C, se ajustó el pH a 4.5 con ácido sulfúrico 0,4 N, manteniéndose estable con una solución tampón fosfato.

Luego, se agregó la enzima amiloglucosidasa (AMG) de AB Enzymes, con agitación de 250 rpm, durante un tiempo de reacción de 2 horas, en donde se tomaron muestras cada 30 minutos. Las enzimas de nombre comercial Gammafungase A65L y Gammadex Cal fueron utilizadas en las cantidades y parámetros estipulados por la casa comercial AB Enzymes GmbH.

Al término de la hidrólisis y una vez desactivada la enzima el jarabe fue purificado mediante filtración. Con la finalidad de eliminar fibras, lípidos, proteínas, sales y otros compuestos insolubles que se hayan formado. La torta contiene impurezas, agua y azúcares en baja proporción. El filtrado, es luego llevado a una columna de intercambio iónico, donde se eliminaran los iones calcio presentes, así como impurezas muy pequeñas tales como compuestos nitrogenados, aminoácidos y proteínas, que por ser muy pequeñas no pudieron ser eliminados durante el filtrado. Esta etapa se llevó a cabo a fin de obtener un jarabe con un color muy estable. A continuación se llevó a cabo la decoloración con el objetivo de eliminar el color producido durante la hidrólisis, utilizando para ello carbón activado granular o en polvo, y de esta manera poder obtener un Jarabe de Glucosa con un criterio de calidad exacta en términos de limpieza, calidad, transparencia, sabor y cuerpo. Una vez decolorada la solución, esta se concentró hasta las especificaciones finales deseadas del jarabe glucosado. Se realizó un envasado en caliente a una temperatura de 85 °C aproximadamente, esto se realizó con el objeto de lograr el vacío, se utilizaron envases de vidrio previamente esterilizados de 113 g de capacidad. Todos los envases fueron rotulados mediante la utilización de una etiqueta que identifique al producto. El producto terminado fue almacenado a temperatura ambiente por un período de 60 días.

La determinación de equivalentes de dextrosa (ED), durante el proceso se estableció por medio del análisis de los azúcares reductores según el método del ácido 3,5 Dinitrosalicílico. Con el fin de eliminar las impurezas que interfieren con el producto final, los jarabes de glucosa se trataron con carbón activado a temperatura ambiente (30 °C). Posteriormente, se sometieron a filtración con una bomba de vacío. En cuanto a los valores de almidón total, la pulpa de chayota presentó un valor de $3,40 \pm 0,01$, un valor similar al reportado por Cerdas, (2020); quien reporta

valores de 3,46 por cada 100 g de alimento.

Al respecto, se ha visto que las reservas de almidón aumentan conforme avanza la madurez (Luengwilai y Beckles, 2009), y, en los frutos que no degradan el almidón para generar sabores dulces, las reservas de almidón se mantienen a lo largo de la etapa de maduración ocasionando que haya un mayor contenido en frutos maduros o sazones (Gao y col., 2020). El contenido de amilosa afecta las propiedades de gelatinización y retrogradación, el poder de hinchamiento y la susceptibilidad enzimática de los almidones, de allí la importancia de su cuantificación en el procesamiento de alimentos y su calidad. El contenido promedio de amilosa y amilopectina obtenido para el almidón de la pulpa de chayota fue 15,73 y 84,26%, respectivamente.

Es importante destacar, que los valores de pH, sólidos solubles y acidez titulable, tienen gran influencia tanto en el procesamiento de la pulpa como en las características finales de los jarabes. En este sentido, el pH, la acidez, son parámetros que van a influir directamente en la calidad microbiológica de los productos que se puedan elaborar a partir de la pulpa de chayota. A continuación la tabla 3, se presentan los respectivos análisis de las hidrólisis realizadas de las diferentes enzimas sobre almidón de maíz como sustrato, con el fin de determinar las condiciones óptimas.

Tabla3. Hidrólisis enzimática a diferentes concentraciones sobre solución de almidón de maíz al 5 %, bajo condiciones óptimas de temperatura y pH. Enzymatic hydrolysis at different concentrations on a 5% corn starch solution, under optimal temperature and pH conditions.

CONCENTRACIÓN ENZIMA (% p/v)	AMILOGLUCOSIDASA ABE ENZYMES mg de glucosa/ml/min	ALFAAMILASA ABE ENZYMES
1	64,56	14,12
2	86,49	16,52
3	80,05	22,20
4	-	30,65
5	-	27,45

Cabe destacar, que los valores de actividad enzimática de las enzimas comerciales de Abe Enzymes (Figura 3), en la mayor producción de azúcares reductores (expresados en mg de glucosa/ml/minutos), destacando que la enzima alfa amilasa presentó 4 % de concentración de sustrato como óptimos para una mayor actividad enzimática y la enzima amiloglucosidasa de 2 %. Además, se destaca que la enzima amiloglucosidasa presenta mayor nivel de actividad enzimática en la producción de glucosa.

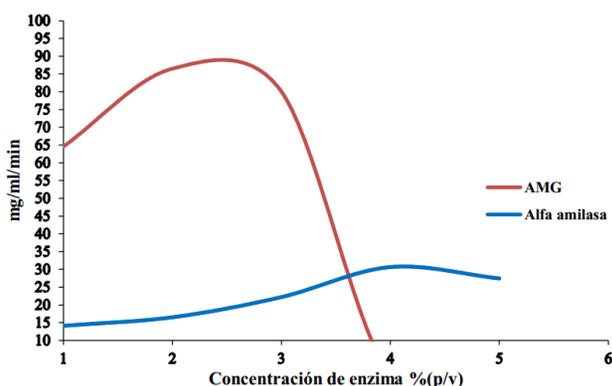


Fig.3. Hidrólisis enzimática de las enzimas alfa amilasa y Amiloglucosidasa a diferentes concentraciones sobre solución de almidón maíz al 5 %, bajo condiciones óptimas de temperatura y pH.
Enzymatic hydrolysis of alpha-amylase and amyloglucosidase enzymes at different concentrations on a 5% corn starch solution, under optimal temperature and pH conditions.

A continuación se reflejan los resultados, así como sus respectivos análisis del comportamiento enzimático desempeñado por las diferentes enzimas bajo condiciones óptimas previamente determinadas. En la tabla 4 y figura 4 se puede visualizar el comportamiento enzimático de las enzimas en estudio bajo condiciones óptimas sobre la pulpa de chayota, en donde se puede apreciar que la enzima con mejores resultados en actividad enzimática lo presenta las enzimas amiloglucosidasa de ABE Enzymes, alcanzando a los 15 minutos valores de 46,59 mg/ml/min. La alfa amilasa de ABE Enzymes, presentó los valores más bajo, alcanzando a los 15 minutos valores de 0,58 mg/ml/min, estos resultados pueden estar afectados por la presencia de componentes naturales de la pulpa de chayota ocasionando la inhibición de la reacción enzimática.

Tabla 4. Hidrólisis enzimática de la pulpa de chayota bajo condiciones óptimas de temperatura pH y concentración.
Enzymatic hydrolysis of chayote pulp under optimal temperature, pH, and concentration conditions.

TIEMPO Minutos	ALFAAMILASA ABE ENZYMES	AMILOGLUCOSIDASA ABE ENZYMES
	mg de glucosa/ml/min	
0	0	0
15	0,58	46,59
30	0,11	29,35
45	1,63	16,61
60	0,82	15,96
75	0,54	15,56
90	0,54	13,20

En la (Tabla 5), se reportan los resultados en cada etapa de hidrólisis, es decir, en la licuefacción y en la sacarificación, usando las enzimas alfa amilasa y amiloglucosidas de casa comercial ABE Enzymes, donde primeramente se transforman los almidones en dextrinas que son sacarificadas hasta obtener glucosa; jugando un papel importante en las variables respuestas °Brix y azúcares reductores, destacando que los valores de °Brix van en aumento, mientras que los

Azúcares Reductores (AR) presentaron una ligera disminución a la mitad del proceso de licuefacción, sin embargo, esta variable no afectó el proceso, ya que fue aumentando progresivamente, lo que corrobora la influencia positiva de la enzima alfa amilasa en el proceso de hidrólisis y conversión de los almidones en dextrinas.

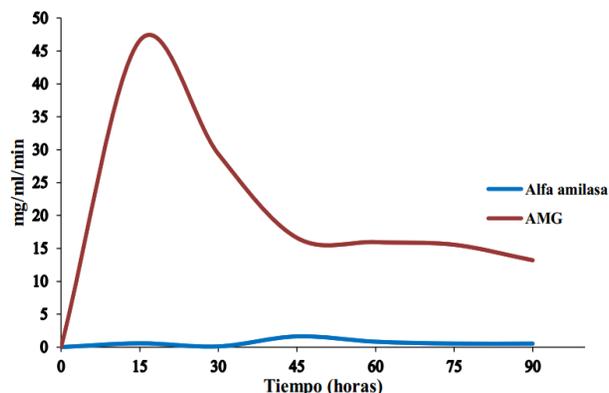


Fig.4. Comportamiento de la actividad enzimática de las diferentes enzimas sobre la pulpa de chayota en el tiempo bajo condiciones óptimas.
Behavior of enzymatic activity of different enzymes on chayote pulp over time under optimal conditions.

Tabla 5. Etapas de hidrólisis (licuefacción y sacarificación) del almidón de la pulpa de chayota (*Sechium edule*) usando las enzimas alfa amilasa y amiloglucosidasa (ABE Enzymes).

Stages of hydrolysis (liquefaction and saccharification) of chayote pulp starch (*Sechium edule*) using alpha-amylase and amyloglucosidase enzymes (ABE Enzymes).

TIEMPO Minutos	LICUEFACCIÓN		SACARIFICACIÓN	
	°Brix	AR (%)	°Brix	AR (%)
0	5,80±0,10	5,51±0,01	14,50±0,10	18,01±0,01
1	5,76±0,10	5,47±0,01	18,40±0,10	29,29±0,01
2	6,06±0,10	2,53±0,01	20,10±0,10	32,00±0,01
3	6,18±0,10	3,69±0,01	25,00±0,10	25,91±0,01
4	6,30±0,10	3,76±0,01	30,50±0,10	26,33±0,01
5	6,50±0,10	3,88±0,01	35,50±0,10	30,30±0,01
6	10,80±0,10	6,60±0,01	36,50±0,10	40,95±0,01

En la Tabla 6, se muestran los Equivalentes de Dextrosa (ED) determinados a las muestras de jarabes de glucosa obtenidos, a través del método del 3,5

Dinitrosalicílico (DNS). Los jarabes obtenidos presentaron grados de conversión de ED; 23 % y 27 %, se encuentran en un rango superior a 20 ED, lo que significa que se clasifican como glucosas líquidas de baja conversión.

Tabla 6. Equivalente de Dextrosa (ED) en las muestras de jarabes obtenidas por el Método del 3,5 Dinitrosalicílico (DNS).
Dextrose Equivalent (DE) in the syrup samples obtained by the 3,5-Dinitrosalicyclic Acid (DNS) Method.

MUESTRAS	ED (%) DNS*
1	12,54±0,02
2	15,93± 0,01
3	17,41±0,02
4	20,33± 0,01
5	23,00±0,02
6	27,00± 0,01

*Método del 3,5 Dinitrosalicílico (DNS)

4. CONCLUSIONES

Se caracterizó fisicoquímica la materia prima (chayota), entre los cuales se evaluó °Brix, pH, acidez titulable, humedad, contenido de almidón, azúcares totales, amilosa y amilopeptina; donde los valores están dentro de los parámetros establecidos. Por otra parte, se evaluaron las enzimas alfa amilasa y amiloglicosidasa de ABE Enzymes, presentando su mayor actividad enzimática a una concentración de 4 % y 2 % v/p respectivamente. A partir de estos resultados se elaboraron dos formulaciones de jarabes glucosados en base al porcentaje de pulpa de chayota en un 30% y 50% respectivamente.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Adair, M., Knight, S. y Gates, G. (2018). Acceptability of peanut butter cookies prepared using mungbean paste as fat ingredient substitute. *Journal of the American Dietetic Association* 101(4): 467-469.
- Agudelo B, Sánchez C, Figueroa C. (2020). Producción de jarabe glucosado mediante sacarificación enzimática. Empleo de un reactor con membrana. *Ingeniería Química*. Jul; 415: 197-199. 4.
- Aguilar, A. (2008). Tratamiento enzimático de la pulpa de plátano (*Musa paradisiaca*) para la obtención de jarabe de glucosa y fibra dietética. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencia en Desarrollo de Productos Biotécnicos. Instituto Politécnico Nacional. México
- AOAC, (1990). *Official Methods of Analysis*. 15ª ed. Association Official Analytical Chemist. Washintong, DC, EEUU. 1298 pp.
- Arias, F. (2020). *El proyecto de Investigación: Introducción a la investigación científica*. 6ta edición. Editorial Episteme. Caracas, Venezuela. 137p.
- Badui, S. (2006). *Química de los Alimentos*. Editorial Alhambra Mexicana. México.
- Bello, E. y Caldera J. (2002). Utilización de la pulpa de Chayota (*Sechium edule* (Jacq.) swart) como sustituto parcial de pulpa de fruta y de CMC en la fabricación de néctares de manzana (*Pyrus malus*) y pera (*Pyrus comunis*). Trabajo Especial de Grado para optar al título de Ingeniero de Alimentos. Caracas – Venezuela.
- Belloda y Bernal, S. (2004). *Introducción a la tecnología de alimentos*. Editorial Limusa. Segunda Edición. pp. 131 – 139.
- Bettín, L. y Quintero, J. (2010). Estudio de la producción de jarabes glucosados a partir de maltodextrinas empleando dos enzimas comerciales. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. Volumen 17 número 2. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Págs. 165-172.
- Bergeret, G. (1963). *Conservas Vegetales: Frutas y Hortalizas*. Colección Agrícola Salvat. Salvat Editores. Segunda Edición. Cornell University. 570 págs.
- Blanco, J., (2002). Producción de jarabes especiales de alta fructosa (HFSS), a partir de jarabes de glucosa obtenidos de tres variedades de yuca (Armenia, Amarga y Chile) cultivadas en la región Guanenta (Santander), Departamento de Química. Universidad Industrial de Santander.
- Buléon, A. Colonna, P., y Leloup, V. (1990). Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. *Industries alimentaires et agro – industrielles*. Juin. 515 – 532.
- Byong, HL y Jennylynd AJ. (1997). Glucoamylases: Microbial Sources, Industrial Applications and Molecular Biology — A Review. *J Food Biochem*. Dec; 21 (6): 1-52.
- Cadena Iñiguez Jorge y Arévalo Galarza Ma. de Lourdes C. (2010). *Rescatando y Aprovechando los Recursos Fitogenéticos de Mesoamérica*. Volumen 1: Chayote. Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México, A.C. Colegio de Postgraduados. México.
- Campos O. Ana L. y Flores T. Daniela. (2012). Deshidratación osmótica de placas de chayote (*Sechium edule*) utilizando soluciones hipertónicas de cloruro de sodio y sacarosa. Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Químicas. Orizaba – Veracruz.
- Carmona, J. y Paternina S. (2007). Evaluación de la modificación enzimática del almidón de ñame (*Dioscorea trifida*), utilizando α – amilasa (Termamyl 120L tipo L) para sus posibles aplicaciones industriales. Universidad de Sucre. Facultad de Educación y Ciencias. Trabajo de Grado para optar el título de Biólogo con énfasis en Biotecnología. Sincelejo. 123 págs.
- Carrera, Jorge. (2002). *Módulos de Biotecnología*.

- Enzimas industriales. Universidad del Cauca, Primera edición.
- Castro Rodríguez, JM, Toledo Díaz, AM, Rodríguez Galdón, B, Perdomo Molina, A, Rodríguez-Rodríguez, EM, & Díaz Romero, C. (2015). Caracterización morfológica y composición química de chayotas (*Sechium edule*) cultivadas en las Islas Canarias (España). Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 65(4), 243-253.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1983. Determinación de Sólidos Solubles por refractometría. Norma 924. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas – Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1977. Determinación de Acidez Titulable. Norma 1151. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas – Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1977). Determinación de Acidez Iónica. Norma 1151. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1982). Determinación de Humedad por el método de estufa al aire. Norma 1945. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1981). Determinación de Almidón. Norma 376. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1978). Método para el recuento de microorganismos aerobios en placa de petri. Norma 902. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1978). Determinación de Hongos y Levaduras. Norma 1337. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
- Comyns, A. E. (2006). Industrial enzymes – New products to flood the market. Focus Catalysis, Nov 1, 2006(11), 2.
- Cruz, K. (2012). Modelado del proceso de hidrólisis enzimática de almidones gelatinizados del fruto de la planta de banano. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Minas, Escuela de Procesos y Energía, Medellín, Colombia. Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de Magister en Ingeniería – Ingeniería Química.
- Cheftel, J. C., & Cheftel, H. (1992). Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. Volumen 1, 333 págs.
- De Rafols, W. (1964). Aprovechamiento Industrial de los productos agrícolas. Barcelona.
- Engles, J., & Maffiola, P. (1996). El Chayote. Recuperado de http://www.puc.cl/sw_educ/hortalizashtml/chayote/biblio_chayote.html
- Espitia, L. (2009). Determinación de la concentración de alfa y beta amilasas comerciales en la producción de etanol a partir de almidón de cebada empleando *Saccharomyces cerevisiae*. Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Microbióloga Industrial. Facultad de Ciencias. Universidad Javeriana. Bogotá, D.C. Pág. 25.
- Fernández, V., Rivas, M., Bencomo, K., & Soto, L. (2018). Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en chayota (*Sechium edule*). Laboratorio de alimentos. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Ciencia, 26(1,2), 48-54.
- Flores-Gorosquieta, E., García-Suárez, F., Flores-Hiucococha, E., Núñez-Santiago, M. C., Gonzales-Soto, R. A., & Bello-Pérez, L. A. (2004). Rendimiento del proceso de extracción de almidón de frutos de plátano (*Musa paradisíaca*). Estudios en planta piloto. Acta Científica Venezuela, 55, 86-90.
- Flores, F., Olga, E., & Uribe, R., Nora N. (2001). Sacarificación enzimática para la producción de jarabe glucosado. Revista Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia, (22).
- Gamboa, W. (2005). Producción agroecológica: Una opción para el desarrollo del cultivo del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.). Editorial Universidad de Costa Rica, 10-13.
- Garzón, M. de L. (2006). Almidón retrogradado para el uso en comprensión directa. Caracterización y pre gelatinización del almidón de Chayote. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 37(001), 18-28.
- Guizar Miranda, A., et al. (2008). Parcial caracterización de nuevos almidones obtenidos del tubérculo de camote del cerro (*dioscorea* spp). Departamento de Biotecnología. Rev. Iber. Tecnología Postcosecha, 9(1), 81-88.
- Hernández-Urbe, Juan Pablo; Rodríguez-Ambriz, Sandra Leticia y Bello- Pérez, Luis Arturo. (2008). Obtención de jarabe fructosado a partir de almidón de plátano (*musa paradisíaca* L). Caracterización parcial. INCI [online]. Vol.33, n.5 [citado 2014-10-16], pp. 372-376.
- Hernando, B y León, J. (1994). Negletec Crops: 1492 from a different perspective [Online]. Disponible en: <http://www.hort.purdue.edu/necrop/1492/chayote.html>
- Instituto Nacional de Nutrición (INN). (2001). Tabla de Composición de Alimentos. Serie Cuadernos Azules. Caracas, Venezuela.
- Levenspiel, O. (1998). Ingeniería de las Reacciones Químicas (3ra ed.). New York: Wiley.
- Lira, R. (1996). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Chayote (*Sechium edule* Jacq.) SW. Roma, Italia: IPGRI. 58p.
- Lira R., Castrejón, J., Zamudio S., y Rojas C. (1999). Propuesta de ubicación taxonómica para los chayotes silvestres (*Sechium edule*, Cucurbitaceae) de México. Acta Botánica Mexicana, núm. 49, pp. 47-61. Instituto

- de Ecología, A.C. México.
- López Munguía, A. (2002). Edulcorantes. En: García-Garibay M. Biotecnología Alimentaria. Editorial Limusa. México. pp. 519-528.
- Hernández-Urbe, J.P., Rodríguez-Ambriz, S.L., & Bello-Pérez, L.A. (2008). Obtención de jarabe fructosado a partir de almidón de plátano (*Musa paradisíaca* L.): Caracterización parcial. INCI, 33(5), 372-376.
- Hernando, B., & León, J. (1994). Negletec Crops: 1492 from a different perspective [En línea]. Recuperado de <http://www.hort.purdue.edu/necrop/1492/chayote.html>
- Instituto Nacional de Nutrición (INN). (2001). Tabla de Composición de Alimentos. Serie Cuadernos Azules. Caracas, Venezuela.
- Marcano, D. (2011). La química de los alimentos. Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales. Fundación Empresas Polar. Caracas, Venezuela. Págs. 52-53.
- Mera, I., & Carrera, J. (2005). Obtención de glucosa a partir de almidón de yuca *Manihot sculenta*. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 3(1).
- Messiaen, C.M. (1979). Las hortalizas: Técnicas agrícolas y producciones tropicales (3ra ed.). Ed. Blume. México D.F.
- Monroy-Vázquez, M.E., Soto-Hernández, M., Cadena-Iniguez, J., Santiago-Osorio, E., Ruíz-Posadas, L.M., & Rosas-Acevedo, H. (2009). Estudio dirigido de un extracto alcohólico de frutos de *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. Agrociencia, 43, 777-790.
- Morrison, W.R., & Laignelet, B. (1983). An Improved Colorimetric Procedure For Determining Apparent And Total Amylose In Cereal And Other Starches. Journal Of Cereal Science, 1, 19-35.
- Ordoñez, N. (2010). *Sechium edule*. Tecno Agro, Avances Tecnológicos y Agrícolas. Actualizado el 23 de noviembre de 2010.
- Quintero, R. (1998). Aplicaciones de la Biotecnología en la industria alimentaria. En Congreso Internacional: El laboratorio de salud Integral: Una perspectiva. Ponencias del Congreso Internacional. Medellín, Universidad de Antioquia.
- Quitiguiña, C., & Santacruz, S. (2012). Obtención de Jarabe de Glucosa a partir de la hidrólisis enzimática de almidón de banano (*Musa Cavendish*). Revista Boliviana de Química, 29(1).
- Reyes, H.C.E. (2012). Estudio del Chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.). Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Orizaba-Córdoba.
- Sáenz, M. (1985). Identificación de la Estacionalidad de los Factores de Rechazo de Frutos de Chayote (*Sechium edule* Sw.) Costarricense. Escuela de Fitotecnia. Facultad de Agronomía. Universidad de Costa Rica.
- Salcedo, J., Montes, E., & Pajaro, J. (2009). La hidrólisis enzimática del almidón de yuca de las variedades corpoica m tai-8 y corpoica oreense. Medellín, Colombia, (160), 121-130.
- Salcedo, J., Montes, E., Zapata, M., Márquez, D., & Díaz, A. (2010). Obtención de jarabes de fructosa a partir de hidrolizados enzimáticos de almidón de ñame (*Dioscorea alata* y *Dioscorea rotundata*). Revista de la Facultad de QuímDisculpa, parece que se cortó la última referencia. Aquí tienes la versión corregida:
- Salcedo, J., Montes, E., Zapata, M., Márquez, D., & Díaz, A. (2010). Obtención de jarabes de fructosa a partir de hidrolizados enzimáticos de almidón de ñame (*Dioscorea alata* y *Dioscorea rotundata*). Revista de la Facultad de Química, 21(1), 17-23.

Recibido: 23 de marzo 2023

Aceptado: 15 de julio 2023

Nervis Curvelo. Ingeniera de Alimentos, Magister en Biotecnología Alimentaria, Investigadora y Docente con la categoría Asistente, Universidad Nacional Experimental "Simón Rodríguez".

<https://orcid.org/0009-0008-7470-7726>

Luis Pérez. Ingeniero de Alimentos, Magister en Biotecnología Alimentaria, Doctor en Gestión para la Creación Intelectual, con más de 15 años de experiencia en investigación. Docente con la categoría Agregado a Dedicación Exclusiva, Universidad Nacional Experimental "Simón Rodríguez".

<https://orcid.org/0009-0000-7481-0506>

Wilmer Moreno. Ingeniero de Alimentos, Magister en Biotecnología Alimentaria, Doctor en Ecología del Desarrollo Humano, Doctorante en el Programa de Química Tecnológica, Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología de la Universidad de Carabobo, con más de 10 años de experiencia en investigación. Docente con la categoría Asistente a Dedicación Exclusiva, Universidad Nacional Experimental "Simón Rodríguez".

<https://orcid.org/0000-0001-8778-7800>

Claudio Flores. Ingeniero de Alimentos, Maestrante en Biotecnología Alimentaria, Universidad Nacional Experimental “Simón Rodríguez”, con más de 2 años en investigación.
Docente Instructor Ordinario

 <https://orcid.org/0009-0004-9564-8420>

