
IMPORTANCIA DE LA METROLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DE GEL ANTIBACTERIAL A PARTIR DE ALMIDÓN DE YUCA DESARROLLADO EN LA CONVOCATORIA NACIONAL INNOVA YUCA

Helena S. Cruz Lozano, José M. Palomino Díaz
USB – Universidad de San Buenaventura de Cartagena
Calle Real de Ternera No. 30-966, Cartagena de Indias– Colombia
INM – Instituto Nacional de Metrología de Colombia
Avenida Carrera 50 No 26 - 55 Interior 2, Bogotá, D.C. – Colombia
Cel.: 319 3063023 e – mail: hscruz@inm.gov.co

RESUMEN

El presente artículo describe la importancia de la Metrología en el proceso de obtención de gel antibacterial a partir de almidón de yuca, que fue desarrollado para la convocatoria nacional *Innova Yuca* de la empresa Almidones de Sucre (ADS). Esta convocatoria fomenta la creatividad e innovación para impulsar el sector agroindustrial del país, beneficiando a los agricultores colombianos al crear nuevas aplicaciones para el almidón de yuca en áreas diferentes a la alimentación.

PALABRAS CLAVES

Innovación, Almidón de yuca, Metrología, Hidrólisis, Fermentación, Destilación, Gel Antibacterial

1. INTRODUCCIÓN

En tiempos de coronavirus es muy importante mantener buena higiene y desinfección de manos, por lo que, cada vez es común el uso cotidiano de productos como gel antibacterial, para cumplir con las recomendaciones dictadas por las autoridades de la salud.

La yuca produce un almidón excelente en comparación con los almidones obtenidos en las demás plantas, debido a que es más claro, tiene más viscosidad y posee propiedades óptimas para su uso en productos no alimenticios, como los farmacéuticos. Cabe señalar que el almidón de yuca ofrece mayores oportunidades de comercialización, ya que en algunos casos la modificación química a realizar es más sencilla y menos costosa cuando se efectúa a partir de este almidón, que partiendo de otros como el de maíz o de papa.

Se han desarrollado investigaciones para la obtención de alcohol etílico (componente principal del gel antibacterial) a partir de almidón de yuca, sometiéndolo a hidrólisis utilizando enzimas *amilasas*, para convertir este almidón en glucosa, que posteriormente es fermentado por medio de levaduras, que descomponen el azúcar en alcohol y dióxido de carbono. De ahí, surge la idea de elaborar un gel antibacterial para la convocatoria de Innovación de la semana internacional de la Yuca, organizada por la empresa Almidones de Sucre, obteniendo un producto que beneficia a la

sociedad en medio de la actual crisis sanitaria a causa del COVID-19.

A la hora de ejecutar este proyecto de innovación, la metrología como ciencia de las mediciones, es de vital importancia, desde la calibración de los equipos e instrumentos necesarios para su desarrollo, hasta el control de la temperatura, pH y tiempos de reacción, garantizando así la calidad del proceso. Cabe destacar, que este producto es un piloto que se puede mejorar para cumplir con los altos estándares de calidad, por lo que sería importante diseñar una metodología para asegurar la confiabilidad de los ensayos, por esta razón se recomienda aplicar diferentes técnicas de cuantificación que aseguren el control de calidad del producto.

2. DESARROLLO DE GEL ANTIBACTERIAL

En primer lugar, se debe verificar que los equipos a utilizar estén calibrados correctamente, esto con el fin de garantizar resultados exactos que permitan obtener un producto de calidad.

El proceso de elaboración del gel antibacterial consta de cinco etapas (Fig. 1) que se describen a continuación.

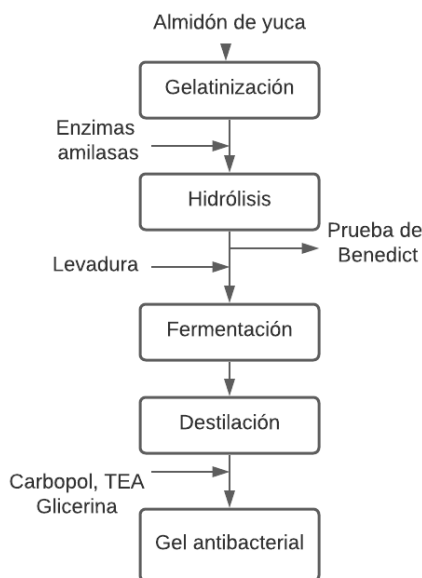


Fig. 1. Diagrama del proceso para obtener gel antibacterial.

Gelatinización: Para esta primera etapa, se pesaron 75 g de almidón de yuca de alta calidad (pureza mínima de 85.5%), proporcionado por la empresa Almidones de Sucre (Fig. 2. a.) utilizando una balanza analítica, previamente calibrada, y se adicionaron 300 mL de agua destilada, mezclando continuamente. Se debe tener en cuenta que los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, debido a que su estructura es altamente organizada, por esto, es necesario someterlo a calentamiento en un baño termostático desde 37°C hasta 63 °C por 15 min con agitación constante, para que se genere un proceso lento de absorción de agua en las zonas intermicelares amorfas que son menos organizadas y las más accesibles. Llegados a este punto, se retira del calor y se deja en reposo a temperatura ambiente para ajustar el pH a 6,0 con unas gotas de Hidróxido de sodio 0.1 N, verificando este valor con un pHmetro, para continuar con el proceso de hidrólisis.

Hidrólisis: Se efectúa mediante un grupo de enzimas denominadas hidrolasas, estas enzimas ejercen un efecto catalítico hidrolizante, es decir, producen la ruptura de enlaces por agua. La hidrólisis del almidón incluyó dos procesos, en primer lugar se agregó a la suspensión de almidón la *enzima α-amilasa* (Fig. 2. b.), aproximadamente 0,1% en relación al peso de almidón utilizando una micropipeta. Se utilizó esta relación de masa entre la enzima y el sustrato teniendo en cuenta los resultados de previas investigaciones (Arévalo, 2011), y se sometió a calentamiento en un baño termostático a 70°C por

una hora. Se retira la suspensión de calentamiento y se deja enfriar hasta alcanzar los 60 °C.

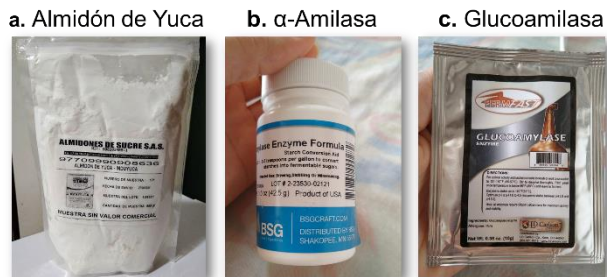
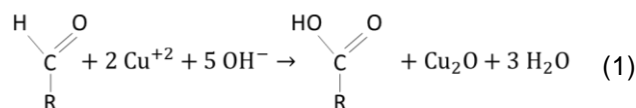


Fig. 2. Materias primas empleadas a) Almidón de yuca de Almidones de Sucre, b) α-amilasa, c) Glucoamilasa

Para comprobar que el ensayo fue realizado correctamente, se tomó una muestra de 0.5 mL de la suspensión que contiene la enzima y se agregó en un tubo de ensayo junto con 2.5 mL del reactivo de Benedict, al mismo tiempo se tomaron 0.5 mL de la suspensión de almidón inicial con 2.5 mL del reactivo de Benedict y se agregaron a un tubo de ensayo diferente, luego se sometieron a calentamiento en baño de maría por 5 minutos y se retiraron para observar los cambios.

Este ensayo se denomina prueba de Benedict, una reacción de oxidación, que permite reconocer azúcares reductores, es decir, aquellos compuestos que presentan su OH anomérico libre, como por ejemplo la glucosa. En un medio básico débil se efectúa la reducción del Cu²⁺ (color azul) a Cu⁺ (color rojo o naranja). La reacción de oxidación del cobre que se efectúa se presenta en la reacción 1.



Teniendo en cuenta lo anterior, si la primera etapa de la reacción (con la enzima α-amilasa) no es satisfactoria, el rendimiento de la hidrólisis no será el adecuado, por esto es importante el control apropiado de los parámetros como el pH y la temperatura a lo largo de toda la reacción. En este caso la reacción si fue satisfactoria, por lo que se ajustó el pH entre 4.5 a 5.0 con unas gotas de ácido clorhídrico 0.1 N, verificando constantemente con un pHmetro hasta alcanzar el valor deseado, para adicionar la enzima *glucoamilasa* (Fig. 2. c.) aproximadamente 0,01% en relación con el peso del almidón (Arévalo, 2011), luego se sometió a calentamiento a 60°C por una hora. Nuevamente, se realizó la prueba de Benedict para verificar si se efectuó correctamente la hidrólisis total.

Fermentación: Para esta etapa, se midió el pH del hidrolizado anterior y se ajustó a un valor entre 4.5 a 5.0, posteriormente, se adicionó 0.5 g fosfato de amonio al 15% (p/v), el cual se empleó como nutriente para enriquecer el mosto. Luego, se activó la levadura *Saccharomyces cerevisiae* disolviéndola en poca cantidad de agua y esperando a que actuara. La fermentación se llevó a cabo en el laboratorio de Investigación de la Universidad de San Buenaventura de Cartagena (Colombia) a una temperatura promedio de 30°C. Para ello, el almidón hidrolizado se vertió en recipientes y se inoculó con la levadura (entre 1% a 2% del contenido total a fermentar). Se dispuso a fermentación por más de tres días para garantizar el proceso, manteniendo los recipientes cerrados durante todo el tiempo de fermentación (condiciones anaeróbicas).

Destilación: Se montó un equipo de destilación fraccionada (Fig. 3) a una temperatura de 74°C a 78°C, el cual consiste en sucesivos procesos de evaporación y condensación, mediante el reflujo de una parte del destilado al condensador y posterior goteo por un tubo refrigerante. Del mosto fermentado se obtuvieron 60 mL de alcohol etílico, lo cual está relacionado con la cantidad de azúcar que se consumió durante la fermentación. Obteniendo un rendimiento de 0.6 g/g (g etanol/g glucosa). Posteriormente, con ayuda de un encendedor se comprueba que se trata de alcohol, por la presencia de una llama constante.

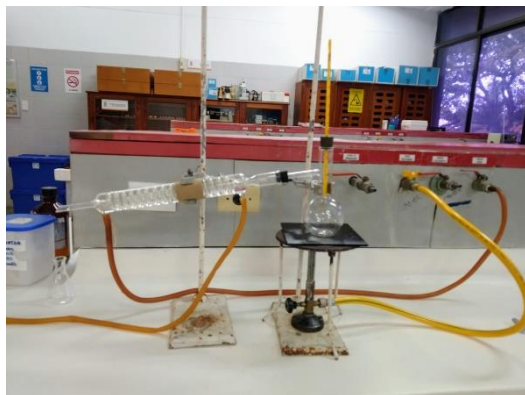


Fig. 3. Equipo de destilación fraccionada para la purificación del alcohol

Producto Antibacterial: Se tamizaron 1.8 g de Carbopol en un recipiente con 60 mL de agua destilada, agitando hasta que no se observaran grumos, luego se vertieron 60 mL del alcohol obtenido en la destilación, sin dejar de agitar, hasta que todos los ingredientes se incorporaran. Se agregaron 7 gotas de Trietanolamina (TEA) con un gotero sin dejar de agitar, hasta alcanzar las consistencias adecuadas. La TEA funciona como agente excipiente alcalinizante, es decir, que sirve

para neutralizar los geles de Carbopol, mientras que la glicerina protege y humecta la piel. Opcional se pueden agregar entre 5 a 7 gotas de esencia de frutos rojos. Es importante regular el pH, con el fin de evitar daños en la piel. Finalmente, se obtiene el gel antibacterial, el cual es una medida importante para evitar infecciones a causa de virus y bacterias o para que estas no proliferen.

3. RESULTADOS

Los datos registrados durante la ejecución de cada etapa del proceso se presentan en las Tablas 1 – 4.

Tabla 1. Valores en la Gelatinización:

| Variable | Valor |
|-------------|--------------|
| Temperatura | 37 °C – 63°C |
| pH | 6,0 |
| Tiempo | 15 min |

Cuando inicia el calentamiento de la suspensión acuosa del almidón, se produce la absorción de agua de manera lenta y posteriormente incrementa su viscosidad y se evidencia un color blanco.

Tabla 2. Valores en la Hidrolisis

| Variable | Valor |
|--------------------------------|--------|
| Concentración α amilasa | 0,1 % |
| Temperatura | 70 °C |
| pH | 4,5 |
| Tiempo | 60 min |
| Concentración glucoamilasa | 0,01 % |
| Temperatura | 60 °C |
| pH | 5,0 |
| Tiempo | 60 min |

Resultado de la Prueba de Benedict

El tubo de ensayo con la muestra de almidón inicial (previo a la reacción con la enzima alfa amilasa), evidenció un color azul lo que indica negativo, confirmando que no hubo hidrolisis. Para el segundo tubo de ensayo, se obtuvo un color verde, positivo, es decir que se efectuó una hidrolisis parcial (poca concentración de azúcares) como se evidencia en la Fig. 4.

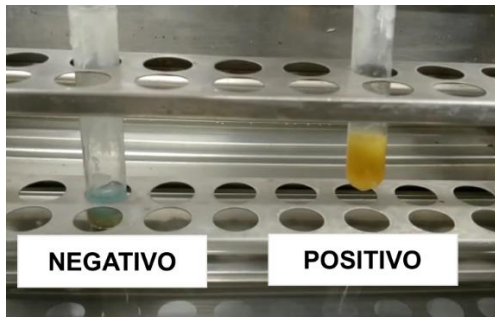


Fig. 4. Resultado de prueba de Benedict para la reacción del almidón con la enzima α -amilasa

Para el segundo ensayo, luego de la reacción de hidrólisis con la enzima glucoamilasa, el tubo de ensayo con la muestra evidenció un color rojizo – ladrillo, que indica un resultado positivo, es decir que hay un hidrólisis total (alta concentración de azúcares), Fig. 5. La intensidad del color está relacionada con la concentración de azúcares reductores en la muestra.

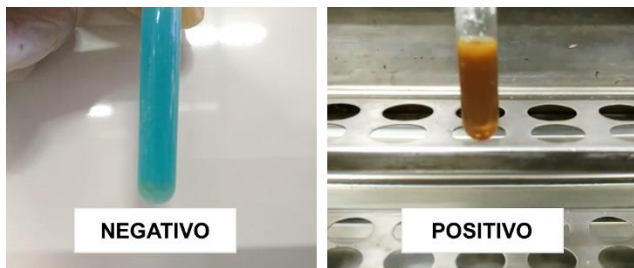


Fig. 5. Resultado de prueba de Benedict para la reacción del almidón con la enzima glucoamilasa

Tabla 3. Valores de la Fermentación:

| Variable | Valor |
|-------------|-----------|
| pH | 4,5 – 5,0 |
| Temperatura | 30°C |

Tabla 4. Valores en la Destilación:

| Variable | Valor |
|---------------|-------|
| Temperatura | 78 °C |
| Volumen final | 60 mL |

Como resultado del procedimiento descrito se obtuvo un gel antibacterial de 120 mL. Se ejecutaron varias pruebas hasta obtener el producto indicado a base de almidón de yuca, siendo la metrología, un elemento clave en la prestación de servicios de calibración y ensayo.

4. DISCUSIÓN

Los gránulos de almidón están compuestos por dos polímeros de glucosa; estos son la amilosa, que es lineal, y la amilopectina, que es ramificada. Estos polímeros constituyen una estructura que consta de capas alternas con regiones amorfas y cristalinas, es por esto que, el calentamiento del almidón en suspensión acuosa mejora la susceptibilidad a la acción de las enzimas amilolíticas (alfa amilasa, glucoamilasa) ya que modifica su estructura granular. En esta primera etapa, la temperatura es un parámetro muy importante que debe ser controlado para asegurar unas condiciones óptimas durante el proceso.

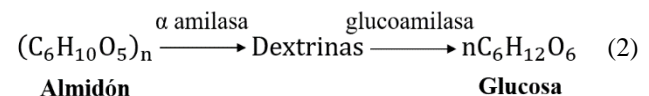
En cuanto a la velocidad de hidrólisis, para un almidón determinado, es dependiente del tipo de enzima, de las condiciones en que se efectúe la hidrólisis y de las modificaciones físicas y químicas previas a la hidrólisis, como se mencionó anteriormente. Teniendo en cuenta los resultados encontrados a través de una minuciosa búsqueda bibliográfica los parámetros de proceso óptimos para las enzimas α amilasa y glucoamilasa son:

Tabla 5. Condiciones óptimas de operación de las enzimas en la hidrólisis.

| | α amilasa | Glucoamilasa |
|---------------|--------------------------|--------------------------|
| pH | 6,0 | 5,0 |
| Temperatura | 70 °C | 60 °C |
| Concentración | 0,1 % | 0,25 % |
| Enzima | (g enz./g sust. Inicial) | (g enz./g sust. inicial) |

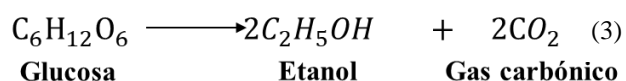
No obstante, el pH ajustado previo a la aplicación de la enzima glucoamilasa en este proceso fue de 6,0 y aun así se alcanzaron resultados satisfactorios.

El proceso de Hidrólisis enzimática del almidón de yuca para obtener glucosa se representa a continuación:



En este proceso, la enzima alfa amilasa lleva los gránulos de almidón hasta disacáridos, por lo que se debe adicionar la enzima glucoamilasa, que lleva estos gránulos de almidón hasta glucosa, que es un monosacárido. Se estima que, de cada 100 g de almidón, se pueden obtener teóricamente 111 g de glucosa (Lezama, 2006). Por otro lado, la reacción 3 representa el resultado de la fermentación de la

glucosa para obtener el alcohol etílico necesario para producir el antibacterial.



Se debe enfatizar que la prueba de Benedict es importante para identificar si hay presencia de azúcares reductores en la muestra y de esta manera hacerle seguimiento al rendimiento de la reacción de hidrólisis, sin embargo, es importante realizar un seguimiento por medio de una técnica específica que determine si se ha efectuado la hidrólisis completa, y que no dependa solo de la intensidad del color (Fig. 6), por ser este un ensayo de tipo cualitativo, por tanto es necesario especificar el punto exacto o la intensidad de color indicada para utilizarlo como referencia.



Color ladrillo: Positivo, alta concentración de azúcares reductores (hidrólisis total).

Color verde: poca concentración de azúcares reductores (hidrólisis parcial).

Color azul: Negativo (No hay azúcar reductor presente)

Fig. 6. Test de azúcares reductores Benedict.

Una alternativa de este ensayo es el método de espectroscopia UV-VIS que permite identificar los grupos funcionales presentes en la molécula. Por medio de esta técnica analítica se puede optimizar apropiadamente las condiciones de la reacción teniendo en cuenta los resultados obtenidos, con el fin de maximizar su rendimiento y así asegurar la confiabilidad en el proceso.

Con respecto a la fermentación, es un proceso catabólico de oxidación incompleta, que no requiere oxígeno por lo que se efectúa en sistemas cerrados y su producto es un compuesto orgánico (alcohol etílico+ dióxido de carbono).

También es importante destacar que se puede optimizar el control del proceso aplicando otros métodos de análisis de las muestras en las diferentes etapas, como es el caso de la fermentación, para cuantificar los azúcares reductores producidos en esta, o en la etapa de hidrólisis para cuantificar los productos de la reacción enzimática a través de la técnica colorimétrica DNS, midiendo la absorbancia por medio de un espectrofotómetro y aplicando los cálculos correspondientes. Para el caso de la

destilación se puede cuantificar el etanol mediante cromatografía líquida (HPLC).

Finalmente, se cumplió con el objetivo de innovar con un producto realizado a partir de almidón de yuca obteniendo un gel antibacterial, por medio de una combustión limpia, en vista de que el bioetanol es un combustible renovable que no genera olores ni residuos. Una posible desventaja durante el proceso de elaboración del gel antibacterial, con base en almidón de yuca, sería aplicar tiempos de residencia incorrectos durante la reacción de hidrólisis, puesto que afectaría no solo el rendimiento sino también a la suspensión de almidón lo que conllevaría a invertir en más materia prima, generando altos costos en la producción. Así mismo, para evitar pérdidas de materia prima, es necesario de una correcta calibración de los instrumentos y equipos utilizados durante el proceso.

5. CONCLUSIONES

Con el desarrollo de este proyecto se obtuvo gel antibacterial a partir de almidón de yuca que beneficia a la sociedad y contribuye al fortalecimiento de la cadena productiva de la yuca. Durante este proceso fue importante controlar parámetros tales como pH, temperatura, cantidad de almidón en la suspensión, tiempo de hidrólisis y reacción. No obstante, se puede especificar aún más el proceso llevando un control de la velocidad de agitación en las etapas de gelatinización e hidrólisis. En este sentido, la metrología ocupa un papel muy importante para garantizar un producto de calidad, bajo las especificaciones indicadas.

Este proyecto es un piloto que puede ser optimizado aplicando métodos de análisis de las muestras de cada proceso para garantizar su rendimiento, como es el caso de la fermentación, para cuantificar los azúcares reductores producidos en esta, o en la etapa de hidrólisis para cuantificar los productos de la reacción enzimática a través de la técnica colorimétrica DNS, midiendo la absorbancia por medio de un espectrofotómetro y aplicando los cálculos correspondientes; para el caso de la destilación se puede cuantificar el etanol mediante cromatografía líquida (HPLC). A través de estos ensayos es posible mejorar la competitividad, así como la trazabilidad del producto lo que es esencial para su posterior escalamiento a nivel industrial,.

Se espera que futuras investigaciones en el tema optimicen el proceso y garanticen la adecuada implementación para llevarlo a una escala industrial, ya que es una gran oportunidad para impulsar el sector del almidón de yuca y beneficiar a la

ciudadanía ante la actual crisis sanitaria causada por el Covid 19.

Finalmente, se ensayó el producto obtenido y se determinó que puede ser aplicado por la población ya que no genera aspectos adversos o reacciones negativas. Sin embargo, el gel será verificado por medio de técnicas analíticas validadas para mayor confiabilidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la empresa Almidones de Sucre (ADS) por ser líder en la búsqueda de aplicaciones para el almidón de yuca que redundará en abrirle nuevos campos al almidón de yuca beneficiando a los campesinos colombianos, además de impulsarnos a realizar este proyecto para la Semana Internacional de la Yuca en su concurso InnovaYuca.

Al Instituto Nacional de Metrología por la oportunidad de exponer nuestro producto teniendo en cuenta la importancia de la metrología en la elaboración de este.

REFERENCIAS

Arévalo Moncayo, A. M. (2011). Uso del almidón de yuca para la obtención de alcohol etílico. <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/3212>

P, H. I. C., & G, C. E. M. (2008). Producción De Etanol a Partir de Almidón de Yuca utilizando la Estrategia de Proceso Sacarificación- Fermentación Simultáneas (ssf). *Vitae*, 15(2), 251–258.

Lezama Hernández, S y. (2006-07-27.). Determinación a escala de laboratorio de las variables más importantes para la obtención de etanol a partir del almidón de yuca. Universidad Autónoma de Occidente.

InnovaYuca - Almidones de Sucre (2021). Convocatoria Nacional de Innovación para la aplicación de almidón de yuca como ingrediente principal. <https://innovayuca.wixsite.com/inn>
