

POTENCIOMETRÍA DE AZÚCARES REDUCTORES Y UN MÉTODO PARA DETERMINAR LOS ÍNDICES DE SOLUBILIDAD Y DE ABSORCIÓN DE AGUA EN ALMIDONES AGRIOS

Holmes A. Pavi*
Martín Moreno**
Harold Acosta Z. ***

* Ingeniero Químico Egresado de la Universidad del Valle.

** Msc., Candidato a Doctor, Universidad Politécnica de Valencia - España. Profesor Titular Escuela de Ingeniería Mecánica - Universidad del Valle

*** Doctor en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de Texas A&M, Estados Unidos. Msc. en Tecnología de Alimentos, Universidad de Reading, Inglaterra. Profesor Asociado del Departamento de Ingeniería de Alimentos - Universidad del Valle.
e-mail:hacosta@yahoo.com

Fecha de recepción: Mayo 21 de 2002
Fecha de aprobación: Julio 18 de 2002

RESUMEN

Se desarrolló un método potenciométrico para determinar azúcares reductores, que evita el uso del tradicional indicador azul de metileno. Un diseño factorial 2x3 fue una herramienta fundamental para comprobar la concordancia entre los métodos, demostrándose no diferencia estadística en la detección del punto de equivalencia con o sin indicador, bajo las condiciones ensayadas.

En la segunda parte del trabajo, se estableció una metodología sencilla, al alcance de laboratorios no sofisticados, para determinar los índices de solubilidad y de absorción de agua de almidones

agrios de yuca. El estudio permitió identificar fuentes de variación (volumen de vaciado, velocidad y tiempo de centrifugado y temperatura del agua de solubilización) que pueden causar reproducibilidades menores a las esperadas. El método puede potencialmente convertirse en una herramienta de control de calidad.

Palabras claves: azúcares reductores, potenciometría, absorción y solubilidad en agua de almidones, almidones agrios de yuca, análisis de alimentos.

ABSTRACT

A potentiometric method to determine reducing sugars, avoiding the use of the traditional methylene blue indicator, was developed. A factorial design 2x3 was instrumental to assess the difference between these methods; it showed that there is no significant difference in the equivalence point detection with or without indicator, under the experimental conditions.

For the second part, a simple method, tailored to non sophisticated laboratories, was developed to determine water absorption and water solubility indexes for cassava sour starches. The study allowed to identify sources of variation (pouring volume, centrifuge speed and time, and water temperature for starch solubility) that can cause lower reproducibility than expected. The procedure has the potential to become a quality control tool.

Key Words: Reducing Sugars - Potentiometric Analysis, Water Solubility - Cassava Sour Starch, Food Analysis.

1. INTRODUCCIÓN

Los monosacáridos con grupo carbonilo libre, reducen el Cu^{2+} del reactivo de Fehling, lo cual ha originado una técnica muy utilizada cuali/cuantitativamente para determinar azúcares reductores. La solución alcalina de CuSO_4 en

buffer de tartrato sódico-potásico, es reducida^[1] a Cu^+ para formar óxido cuproso de color rojo ladrillo. El mecanismo básico consiste en la transformación del grupo carbonilo libre (oxidable por oxígeno y otros oxidantes) en enediol por acción del calor y la solución alcalina^[2,3].

Los monosacáridos son aldehídos y cetonas alifáticas polihidroxiladas^[4] llamados aldosas y cetosas^[4,5]. Los hemiacetales cíclicos de estas especies y sus formas de cadena abierta abundan en alimentos y en soluciones en equilibrio. Si se usa la reducción de Cu^{2+} a Cu^+ por estos azúcares^[6,7] y el cambio de potencial en su punto de equivalencia^[8], se eliminaría la necesidad de un indicador. El problema principal del método tradicional de Lane-Eynon es detectar el punto final del precipitado rojo ladrillo en un medio con indicador de color azul oscuro profundo. Por lo tanto, la primera parte de este trabajo tuvo el objetivo de desarrollar un método potenciométrico para determinar azúcares reductores.

De otro lado, no se ha estandarizado una técnica confiable para medir solubilidad y absorción de agua por almidones en general^[15], a pesar que su principio es simple. Es importante determinar estas características, pues el almidón agrio de yuca es el único almidón que se esponja, gracias al proceso de fermentación al que es sometido en las rallanderías. Luego, se requiere desarrollar un método confiable para medir estas propiedades, especialmente a bajas temperaturas, por la importancia de los almidones agrios en la industria alimentaria y por la posibilidad de correlacionar estas medidas con otras propiedades reológicas y de procesamiento de estos ingredientes. Así, se adelantó un ensayo primero en el CIAT, Cali y luego se probó en dos laboratorios diferentes bajo distintas condiciones. El objetivo de esta parte del trabajo fue desarrollar un método para determinar los índices de solubilidad (ISA) y de absorción de agua (IAA) en almidones agrios de yuca.

2. TEORÍA Y METODOLOGÍA

Diseño experimental y procedimientos. Se utilizó un diseño experimental factorial 2x3 con una serie de soluciones de sacarosa patrón (concentraciones de 0.15, 0.20 y 0,25 %p/v), con y sin indicador (azul de metileno) en la prueba potenciométrica^[9,10]. La unidad experimental fue la mezcla reactiva (5 ml Fehling A + 5 ml Fehling B + 7 ml agua destilada + volumen inicial de sacarosa o solución problema, según los protocolos). La variable de respuesta fue el voltaje (mV) de la mezcla, medido con un multímetro digital (Techman, resolución 100 μ V), un electrodo de plata cloruro de plata (referencia) y un electrodo (de trabajo) de alambre de platino. La variable sustituta fue el volumen del titulante y las variables explicatorias fueron el tiempo de reacción, la temperatura de ebullición y la concentración, ante posibles variaciones del modelo propuesto. La precisión de la concentración calculada por el método potenciométrico propuesto se comparó con el método volumétrico tradicional de LaneEynon (usado como control).

La determinación de ISA e IAA para almidones agrios de yuca se apoyó en la prueba de medias pareadas para evaluar las hipótesis planteadas. Los índices se determinaron dispersando 1.25 g de almidón (en base seca) (proveniente de seis fuentes), a temperatura constante (60°C), velocidad y tiempo de centrifugado constantes (4800 rpm, 30 min) y agitación manual cada 10 min durante el calentamiento. Primero se analizaron 6 muestras de almidón agrio de yuca y luego 10.

La reproducibilidad y repetitividad del método^[13,14], se determinaron usando tres observaciones para cada muestra durante cuatro días. Las variables de respuesta fueron el ISA y el IAA, según las ecuaciones:

$$ISA = 100 (P_{SOL} \times V_F) / (P_{MS} \times V_{OBS}) \quad (\text{ecuación 1})$$

$$IAA = P_{GEL} / P_{MS} \quad (\text{ecuación 2})$$

Donde: P_{SOL} : peso del material soluble; V_F : vol. sobrenadante de agua antes del centrifugado; P_{MS} : peso muestra seca; V_{OBS} : vol. agua observado después del centrifugado; P_{GEL} : peso del gel formado. Las variables explicatorias de las fuentes de variación fueron la agitación de la suspensión almidón-agua durante el calentamiento y la forma de separación sobrenadante/gel inmediatamente después de la centrifugación; la homogeneidad de la temperatura de los 30 ml de agua destilada respecto a la temperatura del baño y el tiempo de centrifugación de la suspensión aguaalmidón. El paquete SAS (SAS Institute, Cary, South Carolina, USA) fue usado para el análisis estadístico.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Potenciometría de azúcares reductores. Se hicieron titulaciones previas de concentraciones de sacarosa patrón (0.15, 0.20, 0.25 %p/v) por el método de LaneEynon para determinar los volúmenes estándar en el punto de equivalencia. Se midió el voltaje en dicho punto, bajo condiciones similares a las empleadas en el método tradicional.

Se tomaron voltajes en triplicado para cada uno de los seis tratamientos; se eliminaron tendencias en la respuesta, aleatorizando los tratamientos y las observaciones individuales, ya que éstas no fueron posibles en el mismo día. Los promedios de tres observaciones hechas en dos días diferentes para tres concentraciones de sacarosa en ausencia y presencia de indicador, se muestran en la Tabla 1. El análisis de varianza (Anova) de estos datos se aprecian en la Tabla 2.

La Tabla 2 muestra que la suma de cuadrados^[11,12] de los tratamientos es mayor que la del error, indicando que el modelo es bueno, pues la variabilidad medida se debe a los efectos que están bajo control experimental. La prueba de significancia de Fisher demostró que la respuesta del instrumento no estaba influenciada por la

combinación de los dos factores que se estaban considerando y por el contrario, cada uno ejerce su influencia de manera independiente. El indicador no influyó de manera significativa y por tanto, el experimento se puede llevar a cabo en su ausencia, pues ésta no incidió en la respuesta. El coeficiente de variación para el modelo fue de 5.74, lo que permitió reafirmar que el modelo estuvo bien controlado y que el aporte de la variación es mínima. La media general de respuesta fue 0.4732 V.

Presencia de Indicador	Concentración de la Solución de sacarosa patrón (%p/v)		
	0.15	0.20	0.25
sin	0.4713	0.5203	0.4643
	0.5093	0.4516	0.5086
con	0.4460	0.4810	0.4590
	0.4336	0.4946	0.4393

Tabla 1. Datos promedios para la determinación de azúcares reductores por potenciometría (en Voltios)

La Tabla 3 resume la estadística básica de las observaciones individuales a cada concentración. Se detalla el volumen del punto de equivalencia obtenido por el método de LaneEynon, al cual se le midió la respuesta (en V) por el método propuesto. Esta tabla evidenció la similitud en los voltajes obtenidos por ambos métodos; por lo que se concluye que en ensayos bajo estas condiciones, los azúcares reductores se pueden determinar por potenciometría como alternativa al método volumétrico.

Índices de solubilidad y de absorción de agua en almidones agrios de yuca. El gráfico 1 muestra el material soluble medido en 10 ml de sobrenadante utilizados para hallar el ISA (ec. 1) en las seis muestras de almidón provistas (A a F corresponden a las muestras especificadas en las Tablas 4 y 5). Se observa que el día 2 (D2) presentó los valores más bajos en los 4 días para

todas las muestras incluidas en el ensayo, hecho aparentemente aleatorio.

Se observó que la muestra de almidón agrio que poseía la mayor cantidad de material soluble; en este caso, el análisis estadístico demostró que sólo E (almidón R. Cobo) poseía una diferencia significativa respecto a las otras muestras. Este hecho abre la posibilidad de investigar su relación con otras propiedades del almidón agrio, probablemente de carácter bioquímico, para justificar esta observación. Los coeficientes de variación de la Tabla 4 mostraron grandes diferencias en todas las muestra de almidón agrio de yuca, lo cual plantea que hay factores que alteran el control del procedimiento.

El gráfico 2 muestra valores del peso del gel (medida del IAA, ver ec. 2) para las seis muestras de almidón agrio de yuca tomadas durante cinco días. Se destaca la muestra E (R. Cobo) que significativamente (prueba t para pares de medias) absorbe mayor cantidad de agua. Los coeficientes de variación del IAA de las muestras presentaron valores en su mayoría menores a 10%, lo que se explica porque esta respuesta es la razón entre dos variables sujetas a menor incertidumbre.

Fuente de Variación	SS ^a x 10 ⁻³	MS ^b x 10 ⁻³	DF ^c	Fo ^d	Pr>F	Fa
Indicador	2.462	2.462	1	3.34	0.1175	5.9
Concentración	1.130	0.565	2	0.77	0.505	5.1
Interacción	1.482	0.741	2	1	0.4204	5.1
Error	4.426	0.737	6			
Total	95.018		11			

a: suma de cuadrados (Sum of Squares); b: medida de cuadrados (Mean Square); c: grados de libertad (degrees of freedom); d: prueba de significancia, F de Fischer.

Tabla 2. Anova del diseño factorial 2x3 para la titulación potenciométrica de azúcares reductores

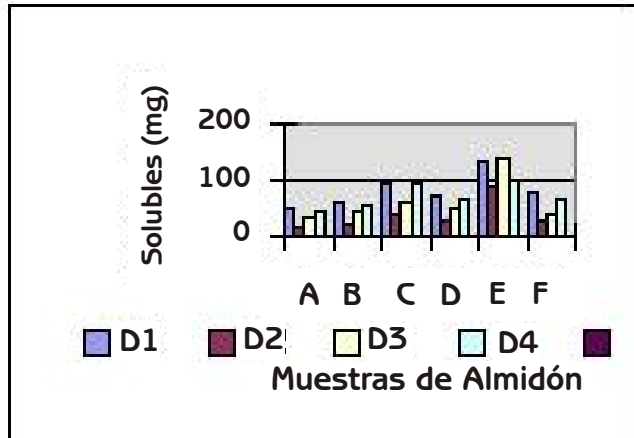


Gráfico 1. Ensayo de solubilidad para seis muestras de Almidón agrio de yuca

Concent (%p/v)	Vol. (ml)	Sin indicador		Con indicador		
		Día 1	Día 2	Día 1	Día 2	
0.15	38.4	\bar{x}	0.471	0.509	0.446	0.434
		S	0.017	0.015	0.015	0.023
		CV	3.6	3.0	3.3	5.3
0.20	26.0	\bar{x}	0.520	0.452	0.481	0.495
		S	0.010	0.063	0.042	0.002
		CV	1.8	13.8	8.8	0.5
0.25	22.8	\bar{x}	0.464	0.509	0.507	0.439
		S	0.001	0.045	0.057	0.028
		CV	0.3	8.8	11.2	6.3

n=3; \bar{x} : media; S: desviación estándar; C.V.: Coeficiente de variación

Tabla 3. Estadísticos de la titulación potenciométrica (V) de azúcares reductores en el punto de equivalencia

Muestra	Índice de solubilidad en agua				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	
San Antonio	\bar{x}	1.82	0.49	1.13	1.66
	S	0.07	0.03	0.03	0.025
	CV	3.7	5.2	2.9	15.1
Jorge Irne	\bar{x}	2.29	0.70	1.57	1.90
	S	0.21	0.05	0.12	0.08
	CV	9.0	6.8	7.5	4.4
Todo Yuca	\bar{x}	5.58	1.67	3.53	4.84
	S	1.75	0.88	0.44	0.44
	CV	31.3	52.7	12.6	9.1
La Agustina	\bar{x}	2.93	0.88	1.90	2.28
	S	0.23	0.03	0.15	0.06
	CV	8.0	3.4	7.7	2.6
R. Cobo	\bar{x}	9.56	12.94	13.49	11.34
	S	1.13	4.51	0.93	2.21
	CV	11.8	34.9	6.9	19.4
Río Sucio	\bar{x}	3.10	6.08	7.12	11.10
	S	0.15	0.20	1.37	0.89
	CV	5.0	3.3	19.2	8.0

n=3; \bar{x} : media; S: desviación estándar; C.V.: Coeficiente de variación

Tabla 4. Estadísticos del índice de solubilidad en agua de muestras de almidón agrio de yuca

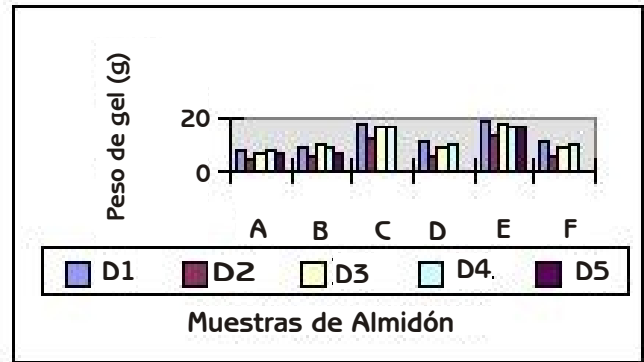


Gráfico 2. Peso de gels para seis muestras de Almidón agrio de yuca

Muestra	Índice de absorción de agua				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	
San Antonio	\bar{x}	6.51	3.53	5.19	5.80
	S	0.17	0.11	0.20	0.26
	CV	2.6	3.0	3.8	4.5
Jorge Irne	\bar{x}	7.34	4.13	7.14	6.89
	S	0.61	0.14	1.62	0.24
	CV	8.3	3.3	22.7	3.4
Todo Yuca	\bar{x}	13.61	9.83	13.09	13.37
	S	1.22	1.04	0.29	0.43
	CV	9.0	10.5	2.2	3.2
La Agustina	\bar{x}	8.72	4.40	7.47	7.67
	S	0.91	0.09	0.16	0.24
	CV	10.5	1.9	2.2	3.1
R. Cobo	\bar{x}	15.07	10.64	14.35	13.44
	S	0.04	0.73	0.28	0.57
	CV	0.3	6.9	1.9	4.3
Río Sucio	\bar{x}	8.27	4.61	7.18	7.64
	S	0.46	0.12	0.59	0.33
	CV	5.6	2.6	8.3	4.3

n=3; \bar{x} : media; S: desviación estándar; C.V.: Coeficiente de variación

Tabla 5. Estadísticos del índice de absorción de agua de muestras de almidón agrio de yuca

El método mostrado deja sentadas las bases para mejorar la reproducibilidad y así disponer de un método sencillo que tenga un soporte estadístico robusto para determinar ISA e IAA. Estas determinaciones son muy importantes, porque se pueden eventualmente correlacionar con propiedades como poder de panificación y otros comportamientos reológicos de almidones agrios.

4. CONCLUSIONES

1. El análisis potenciométrico de azúcares reductores mostró que no hay diferencia estadística en la determinación del punto de equivalencia en ausencia de indicador, bajo las condiciones ensayadas.
2. El diseño factorial 2×3 fue una herramienta fundamental para comprobar la concordancia entre los métodos volumétrico y potenciométrico.
3. El método potenciométrico planteado establece las bases para eliminar el uso de indicador en la determinación de azúcares reductores.
4. Se definió una metodología para determinar los índices de solubilidad y de absorción de agua de almidones agrios de yuca al alcance de cualquier laboratorio, que luego de refinarla permitirá utilizarla como criterio de calidad para la selección de almidones agrios.
5. Este estudio preliminar permitió identificar algunas fuentes de variación (volumen de vaciado, velocidad y tiempo de centrifugado y temperatura del agua de solubilización) que ocasionaron una reproducibilidad menor a la esperada y deben ser reconsideradas para validar el método.

5. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración del Departamento de Química de la Universidad del Valle, por facilitar las pruebas de potencimetría; a la Ingeniera Química Teresa Sánchez del CIAT, por asesorar y facilitar prácticas de ISA e IAA en su laboratorio; y a la Estadística Mariso Gordillo, Candidata a Msc. De la Escuela de Ingeniería Industrial y Estadística, por su colaboración con el análisis estadístico.

6. BIBLIOGRAFÍA

[1] Carey, F. Química Orgánica. McGraw-Hill Interamericana de España, Barcelona. 1999.

- [2] Hart, A. Organic Chemistry, Short Course. 9th Ed. Houghton Mifflin Company, N. York, USA. 1995.
- [3] AOAC. Official Methods of Analysis. Vol. 2. 1990. Pg. 1016 - 1020.
- [4] Pearson, D. Chemical Analysis of Food. Chemical Publications, San Diego, USA. 1981. Pg. 150 - 155.
- [5] Wittaley, H.C. and Keston, K. Métodos ICUMSA de Análisis de Azúcar. Ed. Continental, México. 1971. Pág. 29 - 45.
- [6] Willard, H. Métodos Instrumentales de Análisis. Ed. Iberoamericana. México DF. 1991. Pág. 679, 683.
- [7] Skoog, D. and West, D. Análisis Instrumental. 2ª Ed. McGraw-Hill, México D.F. 1989. Pág. 582 - 597.
- [8] Harris, D. C. Análisis Químico Cuantitativo. Ed. Iberoamerica S.A. México D.F. 1992. Pág.
- [9] Waterworth, J.P. J. Chromatogr. A. 1997. 770: 99-104.
- [10] Loukas, Y. L. The Analyst. 1997, 122 (10):1022-1023.
- [11] Lentner, M. and Bishop, T. Experimental Design and Analysis. 2a. Ed. Valley Book Company, Blacksburg, VA., USA. 1993. Pág. 139 - 199.
- [12] Sinha, S.P. Diseño y Análisis de Experimentos: Técnicas para interpretar resultados de análisis de varianza. <http://ssinha.virtualave.net/basic.shtml>
- [13] Metha, A.C. The Analyst: 122 (7):83 - 88. 1997.
- [14] Kane, J. S. The Analyst: 122 (11):1283 - 1288. 1997.
- [15] Dufour, D. Cassava Flour and Starch Progress in Research and Development. CIAT, Publicación No. 271. Cali, Colombia. 1996. Pág. 128 - 132