

ANÁLISIS QUÍMICO Y DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE LA TORTA GRUESA DE MAÍZ HIDROLIZADA TRATADA CON ENZIMAS EXOGENAS

Chemical Analysis and *in Vitro* Digestibility of Hidrolized corn Thick Cake Treated with Exogenous Enzymes

Jesús Cruces, Carlos González, Jorge Campos, Carmelo Melito, Ricardo Tepper.
Instituto de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela

Apartado 4579 Maracay, Zona Postal 2101,
Venezuela
jesus.cruces@empresas-polar.com

RESUMEN

Con el objeto de evaluar un subproducto de la molienda de maíz llamado torta gruesa de maíz (TG) para ser utilizada en la alimentación de no rumiantes, se determinó la composición química de este material, así como su digestibilidad *in vitro* (DIV). Se sometió a la TG a diferentes procesos de hidrólisis, a saber: T1: TG sin tratar; T2: TG + Alkali; T3: TG + Alkali + Termamyl® + Avizyme®; T4: TG + Alkali + Termamyl® + Avizyme® + Ceremix®. Las composición químicas resultante de la TG fue: 93,48% MS; 13,71% PC; 0,27% de lisina reactiva; 4,72 CEN; 36,10% almidones; 69,13% azúcares totales; 1,26% azúcares reductores; 48,54% FDN; 9,23% FAD; 33,22% de hemicelulosa. La DIV de la materia seca (MS) mostró como resultado 51,5%; 49,2%; 57,1% y 58,9% para T1, T2, T3 y T4 respectivamente, donde se encontró diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos, pudiéndose indicar que hubo un efecto del uso de la enzimas. Para la DIV de la PC los resultados fueron los siguientes: T1: 81,4%; T2: 80,8%; T3: 86,7%; T4: 84,8% con diferencias ($P < 0,05$), donde los tratamientos con complejos enzimáticos presentaron la más alta digestibilidad. Se concluye que el proceso de hidrólisis de la torta gruesa permitió modificar las características químicas de ésta, con una importante reducción del contenido de hemicelulosa y un aumento en la digestibilidad de la MS y la PC.

Palabras clave: Torta gruesa, maíz, composición química, digestibilidad *in vitro*, enzimas exógenas.

ABSTRACT

In order to evaluate a by-product of the mill of corn called thick cake (TG) to be used in the feeding of not ruminant, the chemical composition of this material was determined, as well as its *in vitro* digestibility (DIV). A different processes of hydrolysis was used for the TG, that is: T1: TG witness; T2: TG + Alkali; T3: TG + Alkali + Termamyl® + Avizyme®; T4: TG + Alkali + Termamyl® +

Avizyme® + Ceremix®. The chemical composition resultant of the TG was: 93,48% MS; 13,71% PC; 0,27% lysine reactive; 4,72 CEN; 36,10% starches; 69,13% sugars total; 1,26% sugars reducers; 48,54% FDN; 9,23% FAD; 33,22% hemicellulose. The DIV of the dry matter (MS) it showed 51,5% as a result; 49,2%; 57,1% and 58,9% for T1, T2, T3 and T4 respectively, where it was significant differences ($P < 0.05$) among treatments, being able to indicate that there was an effect of the use of the enzymes. For the DIV of the PC the results were the following ones: T1: 81,4%; T2: 80,8%; T3: 86,7%; T4: 84,8% with differences ($P < 0.05$), where the treatments with complex enzymatic they presented the but high digestibility. It concludes that the process of hydrolysis of the corn thick cake allowed to modify the chemical characteristics of this, with an important reduction of the hemicellulose content and an increase in the digestibility of the MS and the PC.

Key words: Thick cake corn, chemical composition, *in vitro* digestibility, exogenous enzymes.

INTRODUCCIÓN

En Venezuela la producción avícola y porcina se sustentan en el uso de cereales (maíz y sorgo) como materias primas que aportan energía y proteína, no obstante, los bajos rendimientos agrícolas de estos cereales bajo condiciones tropicales, así como los elevados costos financieros de almacenamiento y la constante devaluación de la moneda con respecto al dólar sugieren la necesidad del estudio de alternativas energéticas tales como la "torta gruesa de maíz", debido a su alta y continua disponibilidad anual, además de sus precios inferiores a los cereales integrales, presentándose ésta como una materia prima de orden estratégico en la elaboración de alimentos balanceados para animales.

En la molienda seca del maíz se separa el endospermo del pericarpio, germen y pedicelo, restando dos fracciones. La primera fracción es utilizada en la elaboración de harina de maíz precocida, la segunda es desgrasada originando un subproducto conocido como torta de maíz. La torta de maíz es molida y separada en dos granulometrías distintas obteniendo una fracción fina conocida como Mazina y una gruesa denominada Torta Gruesa (TG). Las características fibrosas de este material se derivan del proceso de elaboración, donde las fracciones amiláceas y grasas acompañan al producto empleado al consumo humano y la porción fibrosa a la TG. Esta porción fibrosa está constituida principalmente de un 70% de hemicelulosa y un 23% de celulosa. Los enlaces glucosídicos

$\beta(1 \rightarrow 4)$ presentes en la celulosa y la hemicelulosa son resistentes a las enzimas digestivas de los no rumiantes, pero si pueden ser separados por enzimas microbiales [12,15]. El uso de enzimas exógenas se presenta como una alternativa, a fin de hidrolizar parte de la fracción de hemicelulosa presente en la TG y así incrementar la digestibilidad de este material.

El presente estudio se realizó con la finalidad de caracterizar químicamente la torta gruesa de maíz hidrolizada y determinar la digestibilidad *in vitro* con fluido gastroileal sintético.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención industrial de la torta gruesa (TG)

Para la realización de esta evaluación, la materia prima utilizada es proveniente de la planta de procesamiento de maíz ubicada en La Encrucijada, donde el maíz blanco es recibido según estándares de calidad [3]. Una vez recibido el maíz blanco es sometido a un proceso de separación mecánica que produce dos fracciones: el endospermo y otra fracción compuesta de germen, pericarpio y pedicelo, la cual es utilizada para la extracción de aceite. Una vez extraído el aceite, se genera un subproducto fibroso con bajo contenido de grasa (aprox. 0,5%). Este subproducto se somete a separación mecánica (-80mesh) quedando como resultante en primer lugar la Mazina, constituida principalmente de almidón, en segundo lugar se obtiene la TG (+ 80 mesh) compuesta básicamente por pericarpio y germen de maíz.

Hidrólisis industrial de la torta gruesa (TG)

El proceso de hidrólisis de la TG fue realizado en el CIEPE San Felipe, edo. Yaracuy.

Con el objeto de hidrolizar la mayor cantidad de proteína y carbohidratos, se incorporaron distintas enzimas al sustrato (TG). Los distintos tratamientos utilizados se obtuvieron según la descripción que se señala a continuación:

- 1 Torta gruesa sin hidrolizar (T1).
- 2 Tratamiento Alcali (T2): La TG (40 Kg + 160 lts. de agua) se colocó durante 30 minutos en un bioreactor ajustado a pH 9 y temperatura de 50°C, con 800 g (2%) de Sulfito de Sodio (Na_2SO_3), [11] y 800 g (2%) de Hidróxido de Calcio [$\text{Ca}(\text{OH})_2$] [10].
- 3 Tratamiento Avizyme® [5] + Termamyl® [13] (T3): Se repitió el tratamiento alcali, luego se redujo el pH a 7 y se elevó la temperatura a 85°C para permitir la acción de la enzima Termamyl® (5 ml), la cual es una endoamilasa, que se incorporó con el objeto de hidrolizar los almidones y así evitar la gelatinización de ellos debido a las altas temperaturas, posteriormente se incorporó 12 g Avizyme® por un período de 4 horas, siendo éste un complejo enzimático que hidroliza fracciones de carbohidratos y proteínas que aún no han sido escindidas.
- 4 Tratamiento Avizyme® [5] + Termamyl® [13] + Ceremix® [13] (T4): se repitieron los procedimientos de los tratamientos 1 y 2, para luego incorporar 4 g de Ceremix a una temperatura de 45°C y un pH de 6,5 por un tiempo de 1 hora.

Toma de muestras

Se procedió a la toma de muestras en cada uno de los turnos (2 por día) durante una semana. El tamaño de la muestra fue de Vn (n es cantidad de material producido) según manual de normas y procedimientos [2]. Este material muestreado fue sometido a análisis químico para la caracterización final de la TG.

Análisis Químico de la TG hidrolizada

La torta gruesa posteriormente al proceso de hidrolización, fue caracterizada de acuerdo al siguiente esquema:

- 1 Determinación de azúcares totales [14]
- 2 Contenido de azúcares reductores [9]
- 3 Determinación de azúcares por HPLC
- 4 Determinación de FDN, FDA, lignina [16]
- 5 Análisis proximal para determinar, proteína cruda, extracto etéreo, ceniza y humedad. [1]
- 6 Determinación de lisina reactiva [18]

Digestibilidad In Vitro con Fluido Gastro Ileal Sintético

Este experimento fue realizado en el laboratorio de biotecnología de Empresas Polar, Caracas. Se utilizó la metodología sugerida por Furuya [6, 7] que consistió en tomar una muestra que contenía un equivalente a 150 mg de proteína cruda, se incubó en baño de María a 37°C y pepsina en HCl a pH 2, con agitación (80 oscilaciones/min.) por 4 horas. Luego de lavado el material se agregó hidróxido de sodio para llevar el pH hasta 7,5 y luego se añadió 20 ml de pancreatina al 0,15% incubándose nuevamente en las mismas condiciones por 4 horas.

Posteriormente se centrifugó el material y se filtró para las determinaciones de materia orgánica y nitrógeno [4, 17].

Los materiales evaluados en este ensayo correspondieron a los productos hidrolizados que se evaluaron en el ensayo anterior.

Para el análisis estadístico y el cálculo de la digestibilidad se utilizó como metodología la comparación simple de medias y la desviación estándar, el número de repeticiones por tratamiento fue de seis.

RESULTADOS

Composición química de la TG hidrolizada

En la TABLA I se presenta el análisis químico de la TG según los diferentes tratamientos. La proteína cruda no mostró cambios en el proceso de hidrólisis por efecto del tratamiento, sin embargo, en la lisina reactiva se observa un aumento en los tratamientos T2 (0,35%) y T4 (0,37%) en comparación con T1 (0,27%).

TABLA I
COMPOSICIÓN QUÍMICA (%) DE LA TORTA GRUESA DE MAÍZ (TG) SEGÚN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS

TRAT	MS	PC	LR	CEN	ALM	AT	AR	FDN	FDA	HC
T1	93,48	13,71	0,27	4,72	36,10	69,13	1,26	48,54	9,23	33,22
T2	92,65	13,13	0,35	6,70	35,05	68,85	3,17	33,66	9,28	24,39
T3	94,81	12,24	0,19	6,39	36,08	69,30	11,62	31,23	9,83	21,40
T4	94,75	12,90	0,37	7,19	24,62	69,33	9,52	33,23	9,41	24,56

MS: Materia Seca; PC: Proteína Cruda; LR: Lisina Reactiva; CEN: Cenizas; ALM: Almidones; AT: Azúcares Totales; AR: Azúcares Reductores; FDN: Fibra Detergente Neutro; FDA: Fibra Detergente Acido; HC: Hemicelulosa.

El contenido de cenizas se incrementó en la medida que la TG va siendo hidrolizada, ocurriendo esto como producto de las sales que se incorporan en el proceso de hidrólisis, con el objeto de mantener o modificar el pH de acuerdo al punto óptimo de actuación de las distintas enzimas a utilizar.

El contenido de almidón disminuye en el proceso de hidrólisis solo en el tratamiento T4, ocurriendo esto posiblemente por el efecto de las amilasas contenidas en las enzimas, las cuales reducen el almidón a azúcares menos complejos. El contenido de azúcares totales no se modifica de forma importante, sin embargo se observó como los azúcares reductores se incrementan al incorporar las enzimas (11,62%) en el tratamiento T2 respecto al tratamiento T1 (1,26%), esto pudiera deberse al proceso de hidrólisis de azúcares complejos de la hemicelulosa a unidades más simples.

El contenido de FDN disminuye para todos los tratamientos respecto a T1, lo que sugiere un proceso de hidrólisis de los componentes de la pared celular de la TG.

Determinación de azúcares por HPLC

En la FIG. 1 se muestra el gráfico de concentración de azúcares para cada uno de los tratamientos. La línea que describe al T1 presenta 2 elevaciones, en la primera se muestra el tiempo de retención para carbohidratos (CHO) de 7 carbonos y en la segunda se indica la cantidad de maltotriosa (CHO de tres carbonos). Se observa una baja cantidad de CHO simples en la muestra de TG sin tratar. Para el T2 se observa un incremento en los azúcares de 7 carbonos, señalándose que ha ocurrido un incremento en la hidrólisis de azúcares mas complejos (hemicelulosa), sin embargo, se mantiene baja la presencia de CHO de tres carbonos.

Con respecto al T3, la concentración de CHO de tres carbonos es mas elevada que en el T2, mostrándose así una mayor hidrólisis de los azúcares complejos a azúcares más simples como la maltotriosa.

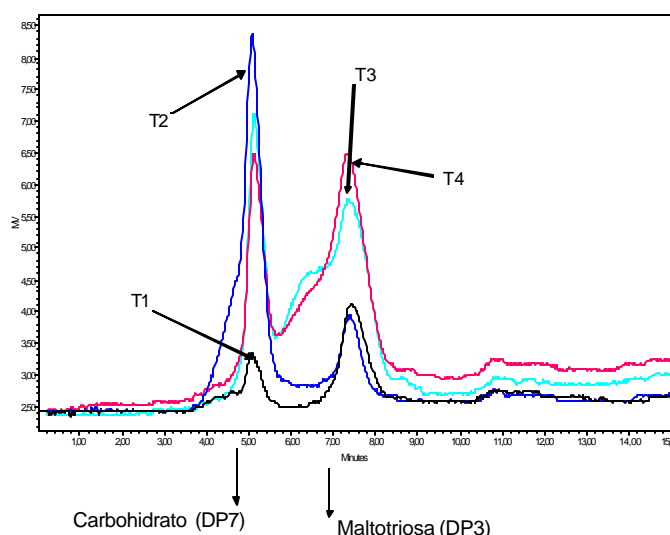


FIGURA 1. CONCENTRACIÓN DE DISTINTOS AZUCARES PARA CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS

Finalmente el T4 mostró una concentración de CHO de 3 carbonos mayor al resto de los tratamientos, lo cual indica un mayor incremento en la hidrólisis hacia CHO de tres carbonos.

Los azúcares observados a través de los distintos tratamientos sugieren que la incorporación de enzimas hidrolizan los carbohidratos más complejos a azúcares más simples como maltotriosas, de mayor digestión por los cerdos.

Digestibilidad In Vitro con fluido gástrico ileal

La TABLA II muestra la digestibilidad *in vitro* aparente de la materia seca (MS) y la proteína cruda (PC) de los diferentes tratamientos. Se observa un aumento en la digestibilidad de la MS ($P < 0,05$) en los tratamientos T3 (57,1%) y T4 (58,9%). Estos resultados coinciden con los reportados por Graham [8], quien sugiere que la digestibilidad mejora con el uso de enzimas, al ocurrir una ruptura de los enlaces beta glucosídicos.

TABLA II
**DIGESTIBILIDAD IN VITRO (%) DE LA MATERIA SECA Y LA PROTEÍNA CRUDA DE LA TG
 HIDROLIZADA Y SIN HIDROLIZAR**

TRATAMIENTOS	DIVMS (%)	DAPC (%)
T1: TG sin hidrolizar.	51,5 ± 0,9 bc	81,4 ± 3,1 b
T2: TG + Alkali	49,2 ± 9,5 c	80,8 ± 0,9 b
T3: TG + Alkali + Avizyme [®] + Termamyl [®]	57,1 ± 1,6 ab	86,7 ± 0,6 a
T4: TG + Alkali + Avizyme [®] + Termamyl [®] + Ceremix [®]	58,9 ± 0,5 a	84,8 ± 0,6 ab

DIVMS: Digestibilidad In Vitro de la Materia Seca; DAPC: Digestibilidad Aparente de la Proteína Cruda
 Letras diferentes bajo una misma columna indican diferencias entre si (P < 0,05)

Con respecto a la digestibilidad *in vitro* aparente de la proteína cruda, se observa un incremento (P < 0,05) en los tratamientos enzimáticos T3 (86,7%) y T4 (84,8%) en comparación con los tratamientos T1 (81,4%) y T2 (80,8%), lo que indica que los complejos multienzimáticos con la presencia de una enzima proteasa, hidrolizan las proteínas a péptidos, resultando estos de más fácil digestión a nivel del intestino delgado.

CONCLUSIONES

El proceso de hidrólisis de la torta gruesa permitió modificar las características químicas de ésta con una importante reducción del contenido de hemicelulosa.

La digestibilidad *in vitro* de la torta gruesa de maíz en sus fracciones de MS y PC es mayor cuando es tratada con complejos multienzimáticos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ASOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. Official methods of analysis. 13 th eda. (AOAC), Washingtgon, D:C: 1018. 1989.
- [2] CONVENCION NACIONAL DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). Alimentos para animales, neto de muetreo. N° 1587 - 80. Edit. Fondo Norma. Caracas. 1980.
- [3] CONVENCION NACIONAL DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). Maíz para uso industrial 1ra Revision. N° 1935 – 87. Edit. Fondo Norma. Caracas. 1987.
- [4] DIERICK, N.; VERVAEKE, J. D.; DEARYPERE, J.; HENDRICK, J. Protein digestion in pig measured *In Vivo* y *In Vitro*. En: Proc. 3rd Int. Seminar on Digestive Physiology in the pigs. Copenhagen, Denmark. 329 – 332 pp 1985.
- [5] FINNFEEDS INTERNATIONAL LTD. Ficha de aplicación de la enzima Avizyme[™] 1500. 1999.
- [6] FURUYA, S. Estimation of true ileal digestibility of amino acid with pigs by an *In Vitro* method using intestinal fluid. En *In Vitro* digestion for pigs and poultry. (M.F. Fuller. Ed) CBA. pp. 116 – 127. 1991.
- [7] FURUYA, S. K.; SHAKAMOTO.; TAKAHASHI, S. A new *In Vitro* method for stimation of digestibility using the intestine fluid of the pig. **Br. J. Nutr.** 41: 511. 1979.
- [8] GRAHAM, H., AMAN, P.; LOWGREEN, W. Enzyme supplementation of pig feeds. En “Digestive physiology in the pig” Proceeding of the 4th International Seminar, Polish Academy of Sciences. pp 371 – 376. 1988.
- [9] HOSTETTLER, F.; BORREL, E.; DEVEL, H. Uber die reduktion der 3.5 _ dinitrosacililsaure durch zucker. *Helv. Chim. Acta.* 34: 2131 – 2135. 1995.
- [10] KATZ, S. H.; HEDIGER, M. L.; VALLEROY, L. A. Traditional maize procesing techniques. *New World Sci.* 184: 765. 1974.
- [11] HEIM, A.; CHERYAN, M. Enzyme modified proteins from corn gluten meal: preparation and functional properties. *J.Am.Oil.Chem.Soc.* 69: 1163 – 1168. 1992.
- [12] MARQUARDT, R.R.; BRENES, A.; ZHANG, Z.; BOROS, D. Use of enzyme to improve nutrient availability in poultry feeddstuffs. *Anim. Feed. Sci. Tech* 60: 321 – 330. 1996.
- [13] NOVO NORDISK A/S. Ficha de aplicación de las enzimas CEREMIX[®], TERMAMYL[®]. 1990.
- [14] ROE, J. Colorimetric methods for determination of sugars. *Journal Biol. Chem,* 204: 553 – 557. 1955.
- [15] SMITHS, C. H.; ANNISON, G. Non – Starch plant polysaccharides in broiler nutrition – towards and physiologically valid approach to their determination. *Worlds Poultry Science Journal.* 52: 204 – 221. 1996.

- [16] VAN SOEST, P., ROBERTSON, J.; LEWIS, B. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber y nonstarch polysacharides in relation to animal nutrition. J Dairy Sci. 74: 3583-3597. 1991.
- [17] VERVAEKE, J. D.; DIERICK, N.; DEARYPERE, J.; HENDRICK, J. *In Vitro* aproximation of digestibility of pigs diets. Proc. 3rd Int. Seminar on Digestive Physol in the pigs Copenhagen, Denmark. 389 – 391 pp 1985.
- [18] VIROBEN, G. 1985. Estimation rapide de la lysine dans la aliments pour animax. Reune Alimentation Animale. 1985.