

CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES INFLUYENTES EN LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL BANANO VERDE RECHAZO

CORRELATION BETWEEN THE INFLUENTIAL VARIABLES OF THE ENZYMATIC HYDROLYSIS OF REJECTED GREEN BANANA

NANCY MONTES VALENCIA ^{1,2}

¹ Docente, Grupo de Investigación GARPE e IDEOGRAMA. Coordinación de Investigación, Área de Mecánica.

² Docente, Grupo de Investigación IDEOGRAMA. Coordinación de Investigación, Área de Producción.

³ Grupo de Investigación IDEOGRAMA. Coordinadora Semillero concepto.

⁴ Docente, Grupo de Investigación en Gestión Ambiental, Área de Mecánica.

^{1,2,3,4} Institución Universitaria Pascual Bravo - AA 6564. Medellín, Colombia

³ Grupo de Mineralogía Aplicada y Bioprocesos (GMAB), Universidad Nacional de Colombia, Medellín AA 1027. Colombia.

RESUMEN

Se comparó la influencia de diferentes variables como: la temperatura, el pH y la relación enzima sustrato (E/S), en dos procesos enzimáticos aplicados sobre el almidón contenido en el banano verde de rechazo; procedente del Urabá Antioqueño.

Cada proceso enzimático se denomina dextrinización y sacarificación y con el análisis de las condiciones de reacción, se obtuvieron las mejores condiciones de la hidrólisis enzimática. La variable de respuesta fue la concentración de azúcares reductores que indicó el avance de cada reacción.

Esta investigación se realizó con el objetivo de brindar una alternativa de solución a la carga orgánica y respectiva contaminación que genera el banano verde de rechazo que no cumple los requisitos para ser exportado.

PALABRAS CLAVES:

banano verde de rechazo, hidrólisis enzimática, dextrinización, sacarificación, variable.

ABSTRACT

Two enzymatic processes applied on the starch contained in the rejected green banana coming from the Urabá Antioqueño, were carried out. The influence of different variables such as: temperature, pH, and the ratio enzyme substrate (E/S) were compared.

Each enzymatic process is called dextrinization and saccharification. The best conditions of the enzymatic hydrolysis were obtained by the analysis of the reaction conditions. The response variable was the concentration of reducing sugars which indicated the advance in each reaction.

The aim of this research was to provide an alternative solution to the contamination produced by the organic waste generated by the green rejected bananas which not meet the requirements to be exported.

KEYWORDS:

rejected green banana, enzymatic hydrolysis, dextrinization, saccharification, variable.

1. INTRODUCCIÓN

El consumo del banano como fruta fresca a nivel mundial es muy alto, incluso está por encima de las manzanas y solo es superado por el consumo de cítricos¹. No sólo por su agradable sabor sino por su valor nutritivo porque contiene proteínas, vitaminas y minerales².

El mayor exportador de banano en el mundo es Ecuador, seguido por Filipinas y Costa Rica, Colombia se encuentra en el cuarto lugar¹. Aunque según³ Colombia ocupó el tercer lugar en volumen de exportación en el año 2010, siendo por lo tanto uno de los productos agrícolas más importantes para la economía del país.

Dentro del Género *musa*, el subgrupo "Cavendish" es el de mayor producción en el mundo con un 47% y el "Gross Michel" que representan un 12% de la producción mundial, Colombia exporta la primera variedad de banano⁴.

La fruta destinada a la exportación requiere unos altos estándares de calidad, por lo tanto, el banano que no puede enviarse al mercado internacional es el denominado banano de rechazo o de desecho, que puede originar desbalances ecológicos con la aparición de plagas y contaminación ambiental⁵.

Se han hecho estudios para el aprovechamiento del banano de desecho entre los cuales se destacan la alimentación de ganado vacuno, elaboración de abono orgánico, obtención de harinas para concentrados de animales y fabricación de papel, pero las cantidades procesadas no cubren la

demanda existente⁶. Otro potencial uso es en la producción de alcohol carburante, debido a los azúcares reductores que se obtienen.

En éste trabajo se reportan las correlaciones de las variables en las dos etapas de la Hidrólisis enzimática, mediante la acción de las enzimas α -amilasa y glucoamilasa, para determinar las mejores condiciones de reacción.

2. CONTENIDO

Materia prima

El banano verde de rechazo proveniente del Urabá Antioqueño, fue reducido de tamaño incluyendo su cáscara, hasta un valor entre (0.5-1.0 cm) y posteriormente se esterilizó, para aumentar su tiempo de conservación y fue almacenado a 4° con una vida de anaquel aproximada de 2 meses.

3. VARIABLES ANALIZADAS

El almidón está compuesto aproximadamente por un 15-20% de amilosa y el porcentaje restante corresponde a la amilopectina, siendo la acción enzimática uno de los métodos para degradarlo hasta la obtención de azúcares reductores⁷. La primera etapa es la dextrinización en la cual se obtienen dextrinas, ellas son consideradas como un polímero intermedio entre el almidón y la dextrosa, por las rupturas hidrolíticas ocurridas en el almidón original. Partiendo de este subproducto, comienza el segundo proceso, la sacarificación que es la generación de monómeros de glucosa⁸.

Se utilizó la enzima α -amilasa para la formación de las dextrinas y la enzima glucoamilasa para la producción del azúcar glucosa. Según revisión bibliográfica y la ficha técnica de estas enzimas, las variables que más afectan su actividad son: la temperatura, el pH y la relación enzima/sustrato (E/S). Por lo tanto, en este trabajo se tomaron las

mismas variables para los ensayos experimentales y posteriores análisis.

4. DISEÑO EXPERIMENTAL Y CONDICIONES DE REACCIÓN.

Se utilizó un diseño central compuesto ortogonal, obteniéndose diecisiete (17) experimentos para cada una de las reacciones involucradas. Las variables o factores para ambos procesos fueron la temperatura, el pH y la relación enzima/sustrato (E/S).

Se seleccionaron cinco (5) niveles para cada uno de estos factores. La variable de respuesta fue la concentración de azúcares reductores, es decir, con esta medición se midió el grado de avance de las reacciones.

Para la etapa de dextrinización los intervalos para los factores fueron: Temperatura (80-95)°C, pH (5.5-8.0) y relación enzima sustrato (E/S) (0.025-0.08).

Para la etapa de sacarificación los intervalos para los factores fueron: Temperatura (55-62)°C, pH (4.0-5.0) y la E/S fue igual a la reacción anterior. Los niveles o factores y sus respectivos niveles, aparecen en las tablas 1 y 2. Los intervalos anteriores se tomaron porque son los recomendados por la ficha técnica de las enzimas.

Respecto a las condiciones de la hidrólisis, la dextrinización requirió como sustrato el banano verde procesado, como se indica en el numeral 2.1 y la segunda etapa, degradó el almidón parcialmente hidrolizado del primer proceso hasta glucosa. La temperatura y la relación enzima/sustrato (E/S), se adecuaron a los valores indicados por el diseño experimental, el pH se ajustó con las siguientes soluciones, buffer: acetato para pH menor a 5.0,

fosfato para ajustar el pH a 6.8, borato para llevar el pH a valores básicos.

A continuación se muestra el proceso enzimático aplicado mediante la enzima α -amilasa en la dextrinización.

Tabla 1. Valores de Variables o factores en la etapa de dextrinización

Variable	Niveles				
Temperatura°C	75	80.0	88	95	100
pH	4.7	5.5	6.8	8.0	8.9
E/S (mL/g)	0.0062	0.0525	0.025	0.08	0.01

Las variables y sus correspondientes valores para la etapa de sacarificación realizada con la ayuda de la enzima glucoamilasa se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Valores de Variables o factores en la etapa de sacarificación

Variable	Niveles				
Temperatura (°C)	53	55	59	62.0	64.34
pH	3.7	4.0	4.5	5.0	5.33
E/S (mL/g)	0.0062	0.025	0.0525	0.08	0.0987

En el siguiente gráfico se describen, las dos fases del proceso enzimático sobre el sustrato:

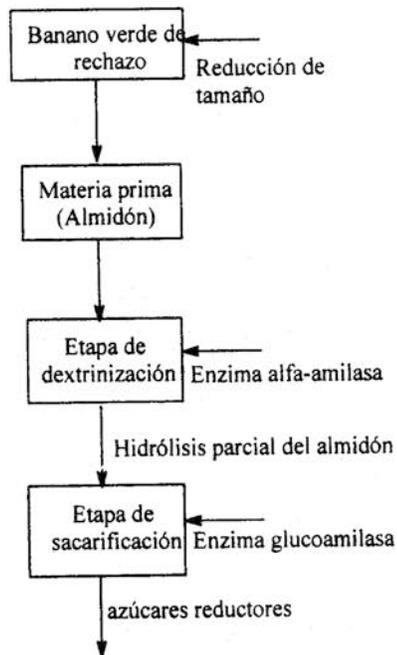


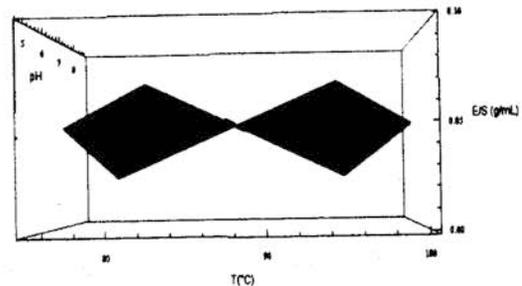
Figura 1. Fases de la hidrólisis enzimática

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

A continuación se detalla la correlación de las variables de los procesos involucrados con ayuda del Programa Wolfram Mathematica 6.0, utilizado para modelación y análisis matemático, específicamente se implementó para conocer la relación de las variables y su influencia en la hidrólisis enzimática, con los diecisiete experimentos (17) obtenidos en el diseño experimental aplicado.

6. RESULTADOS ETAPA DE DEXTRINIZACIÓN

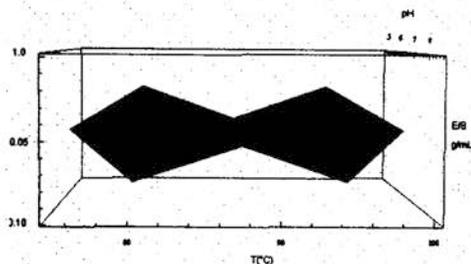
Se observa que a una temperatura cercana a los 88°C el valor correspondiente de la relación enzima sustrato (E/S) es de 0.05, indicando que con estos valores las variables temperatura y relación E/S presentan poca dependencia con el pH. Este resultado, se contradice con lo observado experimentalmente y con lo reportado en la literatura; ya que las enzimas son activas en determinados intervalos de pH, cualquier cambio en este afecta drásticamente su actividad.



Gráfica 1. Valores con poca dependencia con el pH en la etapa de dextrinización

La siguiente gráfica muestra que en los intervalos de temperatura comprendidos entre (80-88)°C y (90-95)°C, la variación de la relación E/S es simétrica y dependen del cambio del pH. Se destaca que el mayor valor para la relación enzima sustrato (E/S) es aproximadamente de 0.08 con temperaturas de 80°C y 95°C. y a un mismo valor de pH de 7.2.

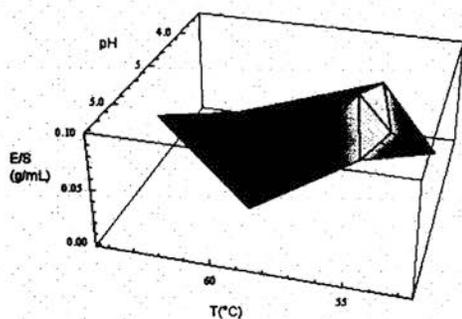
Experimentalmente se encontró que las condiciones de reacción con mayor rendimiento fueron pH=8.0, T=80°C y relación E/S=0.025, siendo el pH y la relación E/S las variables que más difieren al ser comparadas con los valores que reporta el Programa Wolfram.



Gráfica 2. Relación de las variables en la etapa de dextrinización

7. RESULTADOS ETAPA DE SACARIFICACIÓN

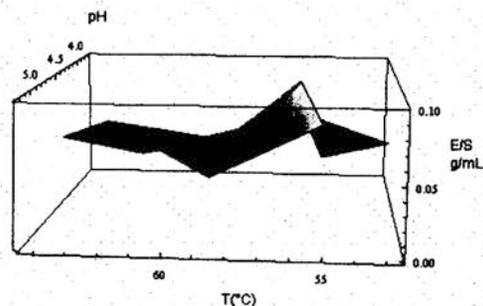
Se observa que a una temperatura de 56 °C el valor del pH es de 5 y que con estas condiciones el valor de la relación (E/S) es máxima con un valor de 0.1, indicando que con altas concentraciones de enzima ocurre mayor hidrólisis, es decir producción de azúcares reductores.



Gráfica 3. Relación de condiciones máximas de las variables en la etapa de Sacarificación

En la gráfica 4, se observa que hay un mínimo de temperatura a 56 °C con una relación E/S de 0.06 a un pH de 4.5, valores superiores de temperatura hasta 62 °C experimentan un aumento en la relación E/S.

Las condiciones experimentales con mejor rendimiento para esta fase de la hidrólisis fueron pH=4.0, T=55 °C y relación E/S=0.08, señalando nuevamente que hay diferencias entre los valores de pH y relación E/S modelados y los obtenidos en el laboratorio.



Gráfica 4. Relación de condiciones mínimas de las variables en la etapa de Sacarificación

8. CONCLUSIONES

El programa wolfram mathematica 6.0, logró predecir la temperatura de 88 °C, con la que se logró obtener experimentalmente el mayor rendimiento en la reacción de dextrinización, pero no logró correlacionarla con las otras variables.

En la etapa de dextrinización, el valor más alto para la relación enzima sustrato (E/S) es de 0.08, el cual indica que, a mayor cantidad de enzima ocurre más hidrólisis parcial en el almidón a un pH 7.2 y con valores de temperatura de 80 °C y 95 °C.

En la reacción de sacarificación, la cantidad de azúcares reductores mas alto, ocurre con la relación enzima sustrato (E/S) máxima de 0.1, a una temperatura de 56 °C y a un pH de 5.

El programa de modelación implementado indicó que el valor de la temperatura de 55 °C y la tendencia de la relación enzima sustrato (E/S) en la etapa de sacarificación, son muy cercanos a los valores con mayor rendimiento obtenidos en la experimentación.

9. REFERENCIAS

1. Soto M. 2011. Situación y avances tecnológicos en la producción bananera mundial. Revista Brasileira de fruticultura. Vol. Especial pp 13-28.
2. Happi, T. et al. 2007. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. Food Chemistry Vol. 103 pp 590-600.
3. Pro-Ecuador 2011. Instituto de promoción de exportaciones e inversiones. Análisis sectorial del banano. Ministerio de relaciones exteriores, comercio e integración.
4. Zhang, P. et al. 2005. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility—a review. Carbohydrate Polymers. Vol. 59 pp 443-458.
5. <http://www.augura.com.co>
6. <http://www.uniban.com>
7. López, A.B et al. 2009. Proceso de fabricación de bioetanol (I): Proceso de la instalación. Revista de Ingeniería Química. Vol 2. pp 213-217.
8. Velasco R. et al. 2008. Producción de Dextrinas a partir de Almidón Nativo de Yuca por Ruta Seca en una Agroindustria Rural. Información tecnológica. Vol.19, No.2, pp.15-22.