

# REVITECA

Revista en  
Tecnología  
y Ciencia  
Alimentaria

Publicación Semestral del Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos \* Vol. 1 N° 2 \* JULIO/DICIEMBRE 1992

---

ISSN 1022-0321

## EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA DESHIDRATACION OSMOTICA DE MANGO

Caracterización y almacenamiento de almíbares residuales de la deshidratación osmótica de piña y papaya

Se realizó una comparación de algunas características físicas y químicas de los almíbares residuales de la deshidratación osmótica... (ver pág. 1)

Caracterización de la pulpa de banano inmovilizada como fuente de invertasa

En los países productores de banano se desechan anualmente grandes cantidades de esta fruta. Esta investigación se llevó a cabo con el fin de utilizar este desecho como fuente de un sistema enzimático y convertirlo... (ver pág 15)



Evaluación de la tecnología "sous - vide", cocción bajo vacío, aplicada al desarrollo de una conserva de palmito de pejibaye (*Bactris gasipaes*)

Se evaluó la aplicación de la tecnología "Sous-Vide" (cocción bajo vacío)... (ver pág.9)

Determinación del nivel de satisfacción del consumidor de gelatina en Costa Rica

El objetivo de este trabajo fue determinar el nivel de satisfacción del consumidor de gelatina en polvo en Costa Rica. El enfoque aplicado contempló la utilización de variables "físicas" y variables "psicológicas"... (ver pág 20)



# REVITECA

Revista en Tecnología  
y Ciencia Alimentaria

Vol. 1, N° 2 - Julio/Diciembre 1992

Revista Semestral publicada por el Centro de  
Investigaciones en Tecnología de Alimentos

**Director del CITA**

Ing. Luis Fernando Arias M.

**Editor**

Ricardo Quirós Castro.

**Consejo Editorial**

Ing. Luis Fernando Arias Molina.

Ing. Fernando Aguilar Villarreal.

Ana Ruth Bonilla Leiva, Ph. D.

Víctor Lobo Di Palma, M. Sc.

Juan Manuel Esquivel Kruse, M. Sc.

Lic. Vera García Cortés.

**Diseño de Portada**

Ricardo Quirós Castro.

**Diagramación**

Jeanina García Ureña.

La responsabilidad de los trabajos firmados es de  
sus autores y no del CITA, excepto cuando se  
indique expresamente lo contrario.

La mención de cualquier empresa o  
procedimiento patentado no supone su  
aprobación por parte del CITA.

Los artículos incluidos en REVITECA pueden  
reproducirse libremente siempre y cuando se  
haga mención expresa de su procedencia y se  
envíe copia al Consejo Editorial.

Correspondencia para canje y suscripciones  
Universidad de Costa Rica - Centro de  
Investigaciones en Tecnología de Alimentos  
REVITECA

San José - Costa Rica

Telex UNICORI 2544

Tels. 25-98-85, 24-8027

53-53-23 ext. 4212-4701

Fax (506) 53-3762

La presente edición de REVITECA es  
patrocinada por la Fundación para la  
Investigación Agroindustrial Alimentaria  
(FIAA).

**Caracterización y almacenamiento de los almíbares  
residuales de la deshidratación osmótica de piña  
(*Ananas comosus*) y papaya (*Carica papaya*).**

Ana María Rodríguez-Sibaja

Ana Cecilia Segreda-Rodríguez

1

**Evaluación de la tecnología "sous-vide", cocción bajo  
vacío, aplicada al desarrollo de una conserva de  
palmito de pejibaye (*Bactris gasipaes*).**

Ana Carmela Velázquez-Carrillo

Ruth De La Asunción-Romero

8

**Caracterización de la pulpa de banano  
(*Musa cavendishi*) inmovilizada como fuente de  
invertasa.**

Ana Ruth Bonilla-Leiva

Mónica Lois-Martínez

14

**Determinación del nivel de satisfacción del  
consumidor de gelatina en Costa Rica.**

Fernando Aguilar-Villarreal

Carmen Ivankovich-Guillén

Jorge Figueroa-Barquero

19

**Efecto de la temperatura en la deshidratación  
osmótica de mango.**

Ana Lorena Mora-Iglesias

Marta Bustamante-Mora

24

**Elaboración de harina de pescado para el  
aprovechamiento de la fauna acompañante del  
camarón en Costa Rica.**

María Alexandra Sancho-Hernández

Carlos Herrera-Ramírez

30

**Elaboración y evaluación de un alimento infantil a  
partir de pejibaye (*B. gasipaes*).**

Adriana Blanco-Metzler

Georgina Gómez-Salas

Marielos Montero-Campos

36



# Caracterización de la pulpa de banano (*Musa cavendishi*) inmovilizada como fuente de invertasa

Ana Ruth BONILLA-LEIVA\*, Mónica LOIS-MARTINEZ\*

## ABSTRACT

### Characterization of the immobilized banana (*Musa cavendishi*) pulp as invertase source

Considerable quantities of bananas go to waste every year in all major banana exporting countries. The purpose of this research was to evaluate the use of low grade banana pulp as a source of a valuable enzymatic system. The activity of the invertase present in the banana pulp immobilized in calcium alginate as beads was studied. There was a 50% hydrolysis, after 6 hours incubation of a 10% sucrose solution with the banana beads. The most efficient ratio beads to sucrose solution was 1:1. The optimum reaction temperature was 40°C and the optimum pH was 4. Substrate inhibition occurred during incubation.

## RESUMEN

En los países productores de banano se desechan anualmente grandes cantidades de esta fruta. Esta investigación se llevó a cabo con el fin de utilizar este desecho como fuente de un sistema enzimático y convertirlo así en un producto con alto valor agregado.

Se caracterizó la actividad de la invertasa presente en la pulpa de banano inmovilizada en alginato de calcio en forma de perlas. Después de 6 horas de incubación de una solución de sacarosa al 10% con las perlas se logró un 50% de hidrólisis.

La relación perlas- solución de sacarosa más eficiente fue de 1:1. La temperatura óptima de reacción fue de 40°C y el pH óptimo de 4. Bajo estas condiciones se observó inhibición por sustrato.

## INTRODUCCION

La producción de jarabes de azúcares a partir de almidón utilizando enzimas amilolíticas combinadas con D-glucosa isomerasa ha llegado a ser muy atractiva y ha causado gran impacto en la industria azucarera (Combes y Monsan, 1983; Schwartz, 1990; Angokld et al, 1989).

De igual manera, se pueden obtener mezclas de D-glucosa y D-fructosa a partir de sacarosa. En este campo la hidrólisis enzimática con invertasa evita la producción de compuestos de oxidación coloreados, compuestos que son productos secundarios de la reacción de hidrólisis ácida (Combes y Monson, 1983).

La invertasa utilizada en la industria se obtiene de diferentes microorganismos: *Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *pastorianus*, *S. carlsbergensis*. (Reed, 1966).

Ahora bien, la invertasa también se encuentra en tejidos de origen vegetal, tales como en manzanas (Dilley, 1970), papas (Sum, 1980) y bananos (Sum, et al 1980; Glass y Rand, 1982; Gomes et al, 1982, Terra et al, 1983; Bonilla y Rand, 1992).

La presencia de invertasa (E.C. 3.2.1.26B-D fructosido fructohidrolasa) en la pulpa de banano ha sido reconocida por mucho tiempo (Baijal, 1972; Sum, 1980; Gómez et al, 1982, Terra et al, 1983; Glass y Rand, 1982, Bonilla y Rand, 1992). Sin embargo, los

\* Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos.



intentos por aislar dicha enzima no han sido muy exitosos. Algunas de las razones para que esto ocurra pueden ser la compleja estructura de la fruta del banano (Sum, 1980) y la presencia de algunos factores que inhiben la actividad enzimática, tales como: taninos, sustancias pécticas y polifenoloxidasas (Sum, 1980; Glass y Rand, 1982). Para evitar dicha inhibición se ha sugerido inmovilizar la pulpa (Glass y Rand, 1992; Bonilla y Rand, 1992).

La invertasa de origen microbiano ha sido inmovilizada en diversas matrices: gelatina, vidrio poroso, resinas de intercambio iónico y alginato (Annesini, 1983, Dhulster, 1983, Ooshima, *et al.* 1980).

A pesar de que existen estudios en los que se ha demostrado la presencia de la invertasa en la pulpa de banano inmovilizada (Glass y Rand, 1982; Bonilla y Rand, 1992) en alginato, esta no se ha caracterizado completamente.

El presente estudio fue diseñado para caracterizar la invertasa presente en la pulpa de banano. Se estudió el efecto que sobre el sistema inmovilizado tienen las siguientes variables: pH, temperatura, relación pulpa inmovilizada vs solución de reacción, tiempo de incubación y concentración del sustrato.

## MATERIALES Y METODOS.

### Inmovilización de la pulpa de banano

Se calentaron 250 mL de la solución reguladora 0.25 M Tris-HCl pH 7.5 hasta ebullición. Lentamente se agregaron 2g de alginato de sodio y se agitó hasta que se disolvió el alginato. Se colocó en un baño a 37°C.

El banano maduro (*Musa cavendishi*) color amarillo con grado de madurez 6 (Francia, Ministère de Agriculture, 1980) se cortó en rodajas de 5 mm de espesor. Una porción de 50g se agregó a 250 mL de la solución de alginato a 37°C y se mantuvo con agitación por 30 min. Esta mezcla se homogenizó en una licuadora por 2 min. La mezcla se goteó lentamente sobre la solución de CaCl<sub>2</sub> al 10%, preparada en una solución buffer Tris-HCl 0.05M pH 7.5 utilizando una bomba peristáltica con una manguera de 1/16" DI. La pulpa de banano quedó inmovilizada en forma de perlas.

Una vez que se formaron las perlas, estas se mantuvieron en la solución de CaCl<sub>2</sub> al 10% por 16 h a 5°C para que se endurecieran.

Para eliminar los azúcares presentes en la pulpa de banano, las perlas se dejaron dializar por 48 h en una solución buffer Tris-HCl 0.01 M Tris-HCl pH 7.5 a 5°C. Durante el período de diálisis la solución buffer se cambió cada 4 h.

Para determinar que las perlas no tenían azúcares se determinó la concentración de azúcares reductores en el líquido de diálisis

mediante el método colorimétrico Nelson-Smogyi (Southgate, 1976). De la misma manera se prepararon perlas control, excepto que no se utilizó pulpa de banano.

### Caracterización de las perlas de banano

Para evitar el crecimiento bacteriano se agregó un cristal de Tymol en todas las pruebas realizadas.

La concentración de azúcares reductores se analizó antes y después del período de incubación de la solución de sacarosa con las perlas. Los azúcares reductores se determinaron mediante el método colorimétrico Nelson Smogyi (Southgate, 1976).

El porcentaje de hidrólisis se calculó a partir de la concentración de sacarosa original y la concentración de azúcares reductores formados.

Se consideró como la cantidad de azúcar producida por la acción de las enzimas del banano, la diferencia entre las lecturas obtenidas de las muestras experimentales y las de control.

Se llevaron a cabo dos análisis por muestra y se utilizó el valor promedio para los cálculos.

### Tiempo de reacción

Se incubaron 10 muestras con 5 g de perlas de banano en 5 mL de solución de sacarosa al 10% en un buffer de acetato de sodio 0.3 M pH 4.0. Se mantuvieron a 37°C por tiempos variables entre 2 y 10 h. Se determinó la producción de azúcares reductores cada dos horas.

### Efecto de la cantidad de perlas agregadas a la solución de sacarosa. Pérdida de actividad con el tiempo

Para determinar la proporción adecuada de la cantidad de perlas en solución de sacarosa, se realizaron experiencias utilizando 5 g y 10 g de perlas con 5 mL de solución de sacarosa al 10% en buffer acetato 0.3 M pH 4.0 a 37°C. Las perlas se mantuvieron en incubación por 6 h y se analizaron azúcares reductores al final del período. Las pruebas se realizaron diariamente durante 9 días utilizando las mismas perlas, para determinar si había pérdida de actividad importante o deterioro físico a través del tiempo.

### Efecto de la concentración inicial de sacarosa

Se incubaron 5 g de perlas en 5 mL de solución de sacarosa en una concentración de 1, 5, 10, 15, 20, 25% en solución buffer de acetato 0.3 M pH 4.0 a 37°C. Se analizó la concentración de azúcares reductores después de 6 h de incubación.



### Efecto del pH en la actividad enzimática

Se realizaron experiencias con soluciones de sacarosa al 10% preparadas en buffer de diferente pH. Se utilizaron buffer de citrato 0.5 M, pH 2, pH 3, buffer acetato 0.5 M; pH 4, 5, 6, y buffer Tris-HCl 0.5 M pH 7. Se mantuvieron 5 g de perlas con 5 mL de estas soluciones a 37°C, durante 6 h. Se determinaron azúcares reductores.

### Efecto de la temperatura en la actividad enzimática.

Se realizaron experiencias con soluciones de sacarosa al 10% en buffer de acetato 0.3 M pH 4 a diferentes temperaturas entre 25 y 60 °C ( $\pm 0.5$  °C).

Se incubaron 5 g de perlas con 5 mL de la solución de sacarosa durante 6h a temperatura constante y con agitación en un incubador con gradiente de temperatura (Thermocon Scientific Industries, Inc.).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Como puede observarse en la figura 1 a las 6 h de reacción se logró alcanzar un 50% de hidrólisis, bajo las condiciones establecidas. Después de 6 h el porcentaje de hidrólisis se mantuvo constante.

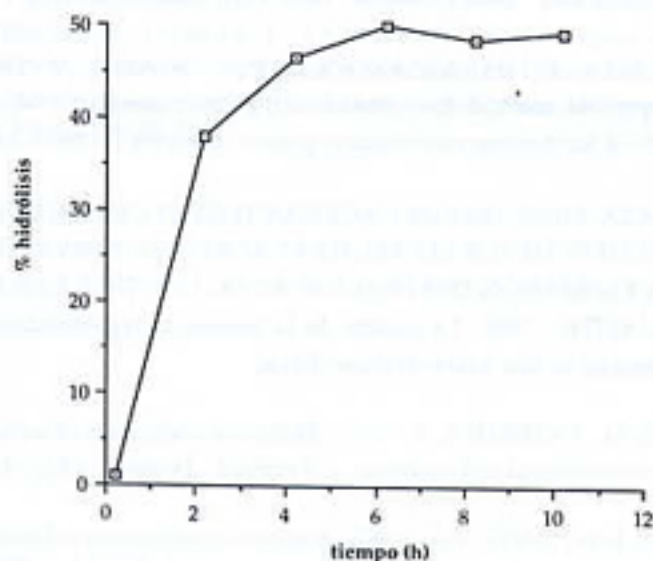


Figura 1. Tiempo de reacción de la invertasa en la pulpa de banano inmobilizada. Solución de sacarosa 10% en buffer de acetato 0.3M pH 4: 37°C

Se observó que en todos los casos (Figura 2) la producción de azúcares reductores es mayor cuando se utilizan 5 g de perlas que

cuando se utilizan 10 g. Esto puede ser debido a que al usar mayor cantidad de perlas se produjo una barrera difusional por la cantidad de perlas presentes (Radovich, 1985. Furui y Yamashita, 1985). También se pudo observar que las perlas, aún después de 9 días de constante uso, mantuvieron su actividad.

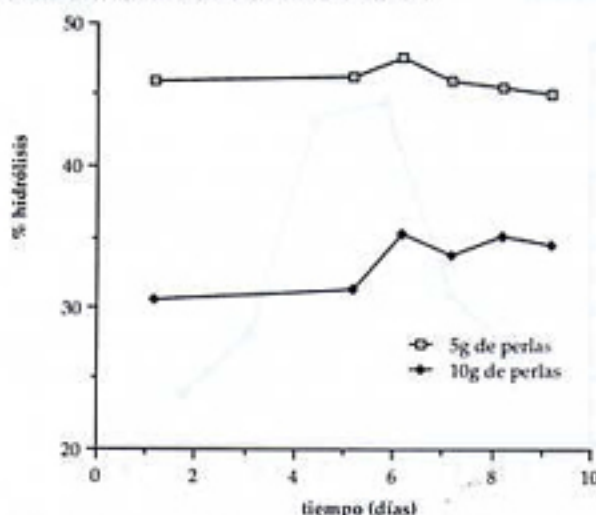


Figura 2. Efecto de la cantidad de perlas en la hidrólisis de sacarosa (5 mL solución sacarosa 10% en buffer de acetato 0.3 M pH 4). (Incubación a 37°C, 6 h)

La Figura 3 muestra que la actividad de las perlas disminuye al aumentar la concentración de sacarosa inicial. La invertasa de origen microbiano, tanto soluble como inmobilizada presenta inhibición por sustrato (López, 1984). Este mismo efecto parece ocurrir en la invertasa microbiana. La inhibición por sustrato podría eliminarse por medio de un proceso continuo, el cual debería estudiarse.

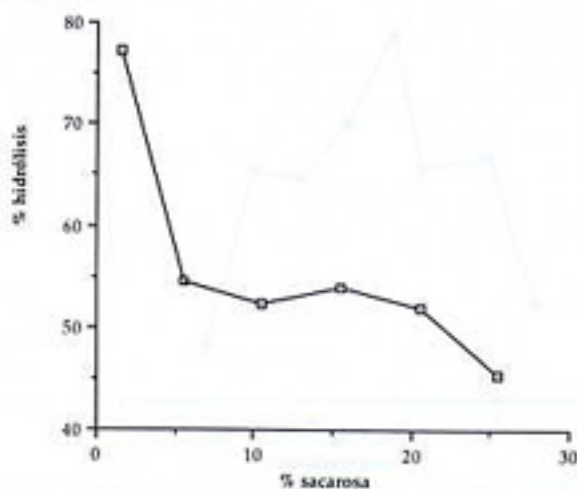


Figura 3. Efecto de la concentración de sacarosa en la actividad de la invertasa en pulpa de banano inmobilizada. (Soluciones de sacarosa en buffer de acetato 0.3 M pH 4, 37°C, 6 h)



La Figura 4 muestra el efecto que el pH tiene sobre la actividad de la pulpa de banano inmovilizada. Como puede observarse, la invertasa es más activa a pH 4. La invertasa de origen microbiano también muestra una mayor actividad a pH 4; (López, 1982; Combes y Monsan, 1984).

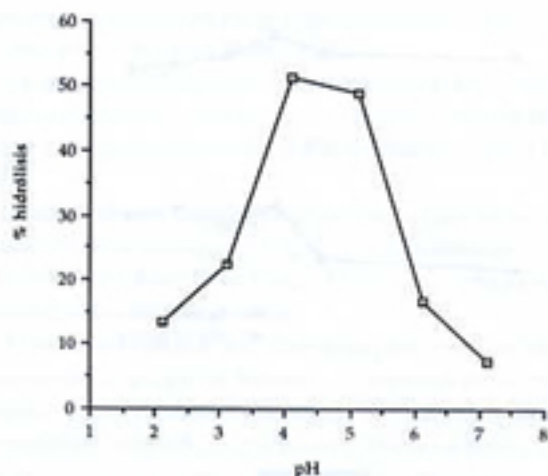


Figura 4. Efecto del pH en la actividad de la invertasa en pulpa de banano inmovilizada (sacarosa 10%, 37°C, 6 h)

La Figura 5 muestra que la temperatura óptima de reacción de la invertasa en la pulpa de banano inmovilizada es de 40 °C. Debido a las temperaturas a las que la reacción es eficiente, el proceso se puede llevar a cabo a temperatura ambiente en climas cálidos.

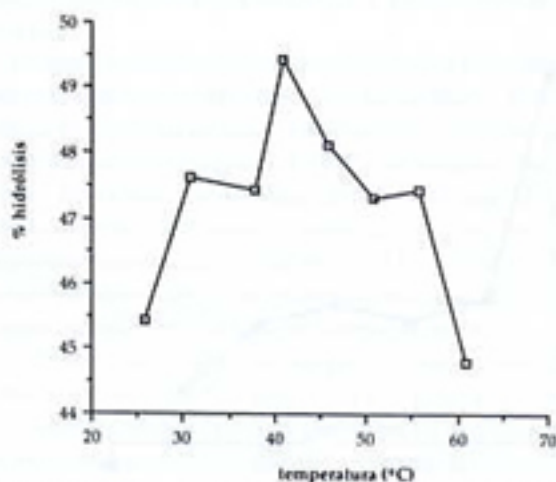


Figura 5. Efecto de la temperatura en la actividad de invertasa en la pulpa de banano inmovilizada. Solución de sacarosa al 10% en buffer de acetato 0.3M pH 4. (Incubación 6 h)

## BIBLIOGRAFIA

- ANNESINI, M. C.; GAUDIOSO, D.; TORO, L. 1983. Inversion of sucrose by immobilized B - fructosidase in an integral reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 24: 1435.
- ANGOLD, R.; BEECH, G.; TAGGART, J. 1989. High fructose corn syrup technology push. Cambridge, University Press.
- BAIJAL, M.; SINGH, S.; SHUKLA, R. N.; SANWAL, G. G. 1972. Enzymes of the banana plant optimum conditions for extraction. *Phytochem.* 11: 929.
- BONILLA, A. R.; RAND, A. G. 1992. Caracterización de la interconversión de la sacarosa por medio de enzimas inmovilizadas del banano. *REVITECA.* 1(1): 1-6.
- COMBES, D.; MONSAN, P. 1983. Sucrose hydrolysis by invertase. Characterization of products and substrate inhibition *Carbohydr. Res.* 117: 215.
- DILLEY, D.R. 1970. Enzymes. In Hulme, A. C. ed. *The biochemistry of fruits and their products.* New York, Academic Press. v. 1.
- DHULSTER, P.; PARASCANDOLA, P.; SCARDI, V. 1983. Improved method for immobilizing invertase-active whole cells of *Saccharomyces cerevisiae* in gelatin. *Enzyme Technol.* 5: 65.
- FRANCIA. MINISTERE DEL'AGRICULTURE ET L'INSTITUT DE RECHERCHE SUR LES FRUITS ET AGRUMES. SERVICE DE LA REPRESSION DES FRAUDES ET DU CONTROLE DE LA QUALITE. 1980. La qualité de la banane la réglementation française et son interprétation. Paris.
- FURUI, M., YAMSHITA, K. 1985. Diffusion coefficients of solutes in immobilized cell catalysts. *J. Ferment. Technol.* 63(2): 167.
- GLASS, R.W.; RAND, A.G. 1982. Alginate immobilization of banana pulp enzymes for sucrose interconversion. *J. Food Sci.* 47(6): 1836.
- GOMEZ, A.; AREAS, J.A.; LAJOLO, F.M. 1981. Starch transformation during the banana ripening I. The phosphorylase and phosphatase behavior in *Musa acuminata*. *J. Food Biochem.* 5: 19.

## Determinación del nivel de saturación del consumo de gelatina en Costa Rica

- LOPEZ-SANTIN, J.; SOLA, C.; LEMA, J.M. 1982. Substrate and product inhibition. Significance in the kinetics of sucrose hydrolysis by invertase. *Biochem. Bioeng.* 24: 2721.
- \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; MOLINA-PARIS, J. M. 1984. Enzimas inmovilizadas. Estudio cinético de la hidrólisis enzimática de la sacarosa. *Ingeniería Química.* Marzo: 119.
- OOSHIMA, H., SAKIMOTO, M. and YOSHIO, H. 1980. Characteristics of Immobilized Invertase. *Biotechnol. Bioeng.* 22: 2155.
- RADOVICH, J. M. 1985. Mass transfer effects in fermentation using immobilized whole cells. *Enzyme Microb. Technol.* 7:2.
- REED, G. Underkofler, L. A. 1966. *Enzymes in food processing.* New York, Academic Press.
- SCHWARTZ, M.M. 1990. El maíz : fuente de jarabes de glucosa y de alto contenido en fructosa. *Alimentos* 15(1): 17.
- SOUTHGATE, D.A. 1976. *Determination of food carbohydrates* London, Applied Science.
- SUM, W.F.; ROGERS, P.J.; JENKINS, I.D. ; GUTHEIE, R.D. 1972. Isolation of invertase from banana fruit *Musa cavendishi* *Biochem.* 19: 399.
- TERRA, N.N.; GARCIA, E.; LAJOLO, F.M. 1983. Starch-sugar transformation during banana ripening: the behavior of UDP-glucosa pyrophosphorylase, sucrose synthetase and invertase. *J.Food Sci.* 48: 1097.