

Evolución de la firmeza y el contenido de sólidos solubles durante la maduración natural y artificial de banano

El conocimiento de las modificaciones que sufre el banano luego de la cosecha es de gran importancia para el

desarrollo de alternativas de transformación industrial, dirigidas ...

(ver pág. 7)

CARACTERIZACION DE LA INTERCONVERSION DE LA SACAROSA POR MEDIO DE ENZIMAS INMOVILIZADAS DEL BANANO

Perfil físico - químico de manzana var. Ana no comercializable en Costa Rica

Se planteó una investigación para determinar el perfil físico-químico de la manzana variedad Ana, y usarlo como punto de partida en el desarrollo

de productos que puedan ser una alternativa de comercialización para la fruta que no se podrá ...

(ver pág. 12)

Aspectos de la elaboración de queso blanco en Costa Rica

El Consumo de "queso blanco", el más popular en Costa Rica, se estima en 14.076 toneladas métricas/año, lo que representa el 70% del consumo total de queso

en el país. Como queso blanco se conocen principalmente tres tipos de ese producto...

(ver pág. 17)



(ver pág. 1)

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

Director del CITA
Luis Fernando Arias M.

Editor
Ricardo Quirós C.

Consejo Editorial
Ing. Luis Fernando Arias Molina.
Ing. Fernando Aguilar Villarreal.
Ana Ruth Bonilla Leiva, M. Sc.
Víctor Lobo Di Palma, M. Sc.
Juan Manuel Esquivel Kruse, M. Sc.

Diagramación
Jeanina García U.

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
25-55-55 ext. 701-212
Fax (506) 533762

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

**Caracterización de la interconversión de la sacarosa
por medio de enzimas inmovilizadas del banano.**
ANA R. BONILLA-LEIVA,
ARTHUR G. RAND. 1

**Evolución de la firmeza y el contenido de sólidos
solubles durante la maduración natural y artificial
de banano.**
TANNY LINDO-DELL,
MARTA BUSTAMANTE-MORA. 7

**Perfil físico - químico de manzana var. Ana no
comercializable en Costa Rica.**
ANA C. VELAZQUEZ-CARRILLO,
JORGE SOLANO ROSALES. 12

**Aspectos de la elaboración de queso blanco
en Costa Rica.**
RANDALL MAYORGA-JIMENEZ. 17

**Método de determinación de residuos de captafol
en plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) y suelo
por cromatografía de gases.**
JAIME E. GARCIA-GONZALEZ. 28

**Actividad proteolítica en látex de jatropha
oconitofolia.**
HERBERTH MADRIGAL-VILLA,
HUMBERTO TRIMIÑO-V.,
JOSE E. CARBALLO-A. 34

**Evaluación de la calidad del cacao seco en grano a
nivel nacional (cosecha 89-90).**
LUIS A. JIMENEZ-SILVA. 41



Centro de Investigaciones
en Tecnología de Alimentos
UCR — MAG

editorial

Para que un organismo o una comunidad dedicado a las labores de investigación y desarrollo consigan el crecimiento necesario, su mayor eficacia y el máximo aprovechamiento de su labor, se requiere una relación permanente con la sociedad en general y específicamente con el sector técnico-empresarial al cual se dirige. La publicación organizada y periódica de los resultados, constituye entonces una medida de la seriedad y la efectividad alcanzadas en la producción de esos resultados y del grado de vinculación de estos con las necesidades reales.

Ninguna de las dos acciones es fácil y ello queda demostrado cuando las estadísticas indican que, en la actualidad, más de un 80% de las publicaciones científicas, clasificables y recuperables, son producidas en solo diez países del mundo desarrollado. Sin embargo, también existe consenso en que tales números sobre todo insinúan la existencia de un enorme cúmulo de información tecnológica y de investigación aplicada que permanece oculto o con un alcance muy limitado, debido a la ausencia de facilidades y estímulos adecuados que permitan su efectiva difusión.

La aparición de REVITECA marca un hito importante del proceso de maduración tecnológica agroalimentaria costarricense y regional, al abrir una oportunidad seria y estimulante a toda la comunidad científica y tecnológica de nuestro campo, de compartir internacionalmente los importantes resultados de su actividad. Destaca también que en tal empresa, se conjuguen los esfuerzos de la importante infraestructura lograda, representada por el Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos (CITA) y la Fundación para la Investigación Agroindustrial Alimentaria (FIAA), patrocinadores de REVITECA, y con la colaboración de la Asociación Costarricense de Tecnología Alimentaria (ASCOTA), la Cámara Costarricense de la Industria Alimentaria (CACIA) y la Carrera Interdisciplinaria en Tecnología de Alimentos (CIETA).

*Ing. Luis Fernando Arias M.
Director General
Centro de Investigaciones en
Tecnología de Alimentos*

CARACTERIZACION DE LA INTERCONVERSION DE LA SACAROSA POR MEDIO DE ENZIMAS INMOVILIZADAS DEL BANANO

Ana R. BONILLA-LEIVA*, Arthur G. RAND**

ABSTRACT

Immobilized banana beads for characterization of the enzyme involved in the sucrose interconversion

The purpose of this research was to study the enzyme mechanism involved in the sucrose interconversion by using a banana enzyme system immobilized in a calcium alginate bead. A previously designed banana bead system was improved by increasing the amount of pulp incorporated into algin solution. The banana beads were characterized by studying the effects of pH, time, and UDFG, on sucrose hydrolysis. The ability of the beads to synthesize sucrose was evaluated by using various substrates at pH 4.8 y pH 6.5. The invertase activity increased 2.3X with the improved banana system and produced a linear reaction, with a production of 50 mg % per hour of glucose. It was observed that in the presence of banana beads and the sucrose substrate, reactions which were different from the expected hydrolysis took place. The formation of glucose and fructose was not directly proportional to the loss of sucrose, as expected. Also, it was observed that fructose levels obtained were higher than the glucose levels. An increase in glucose production was observed at different pHs when UDFG was added to the sucrose solution.

* Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos.

** Food Science & Nutrition Research Center.
University of Rhode Island.
530 Liberty Lane.
West Kingston, R. I. 02892.
USA

RESUMEN

El propósito de este estudio fue examinar la hidrólisis y biosíntesis de las reacciones de sacarosa, por medio de un sistema en el que las enzimas del banano fueron atrapadas en una matriz de gel de alginato de calcio en forma de perlas. Se mejoró un sistema diseñado previamente aumentando la cantidad de pulpa en la solución de alginato.

Las perlas de banano se caracterizaron estudiando el efecto de pH, tiempo y UDFG en la hidrólisis de sacarosa.

La posibilidad de las perlas de sintetizar sacarosa fue evaluada utilizando varios sustratos a pH 4.8 y 6.5.

El nuevo sistema aumentó la actividad de la invertasa 2.3X y produjo una reacción lineal, con una producción de 50 mg % por hora de glucosa.

La formación de glucosa y fructosa no fue directamente proporcional a la pérdida de sacarosa. También se observó que los niveles de fructosa fueron más altos que los niveles de glucosa.

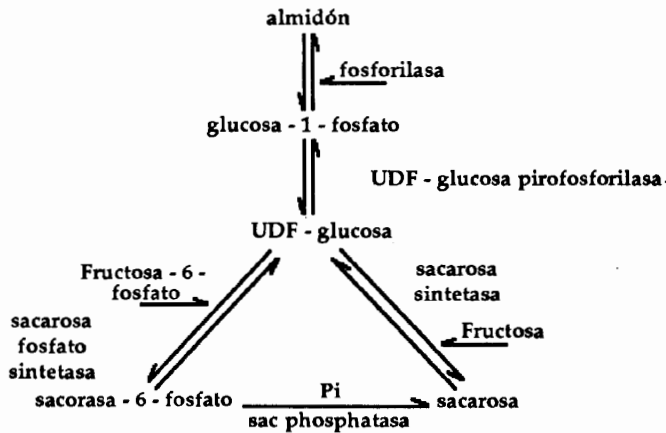
Se produjo un incremento en la producción de glucosa debido a la adición de UDFG.

INTRODUCCION

La hidrólisis de almidón y la acumulación de azúcares durante el proceso de maduración del banano son dos procesos bioquímicos extraordinarios (Gómez, et al, 1981, Palmer, 1971). El banano verde contiene entre 20-25% de almidón que se hidroliza casi completamente a azúcares. Como resultado los azúcares en la pulpa aumentan del 1-2% en el banano verde a 15-20% en la pulpa madura (Palmer, 1971, Yang, 1981). La mayor cantidad de azúcares en la pulpa madura son sacarosa, 66%, fructosa, 14%; y glucosa, 20% (Palmer, 1971).

El papel que juega el sistema enzimático en la síntesis e hidrólisis de la sacarosa ha sido discutida por diversos autores (Butler et al, 1976; Cardini et al, 1955; Glass y Rand, 1982, Bajjal et al, 1972, Sukla et al, 1973, Terra et al, 1983).

Davis, D. R. 1974 describió dos posibles rutas para la síntesis de sacarosa a partir de glucosa -1- fosfato.



Para evitar estos factores, Glass y Rand (1982) diseñaron un sistema enzimático de banano inmovilizado. Las enzimas del banano se atraparon en una matriz de alginato de calcio.

El objetivo de este estudio fue examinar la síntesis e hidrólisis de sacarosa utilizando pulpa de banano inmovilizada como fuente enzimática. Se incorporaron dos modificaciones al sistema de Glass y Rand (1982): cantidad de pulpa de banano por perla y la concentración del agente tensoactivo. Se estudiaron diferentes condiciones experimentales; sustratos, pH y tiempos de incubación.

MATERIALES Y METODOS

Preparación de las enzimas de banano inmovilizadas

Se utilizó el método diseñado por Glass y Rand (1982), variando la cantidad de pulpa incorporada al alginato y la concentración del agente tenso activo.

Se calentaron 250 mL de la solución buffer 0.25 M tris-HCl pH 7.5 hasta ebullición. Lentamente se agregaron 5g de alginato de sodio (Kelco Gel HV) y se agitó hasta que se disolvió el alginato. Se agregaron 5g de Tween 80 como agente tensoactivo. Se colocó en un baño a 37°C.

El banano maduro color amarillo a nivel 4 de maduración, según lo descrito por Von Loescke (1950) se cortó en rodajas de 5mm de espesor. Una porción de 250 g se agregó a 250 mL de la solución de alginato a 37°C y se mantuvo con agitación por 30 minutos. Esta mezcla se homogenizó en una licuadora por 2 minutos. La mezcla se goteó lentamente sobre la solución de $CaCl_2$ al 10% preparada en una solución buffer Tris-HCl 0.05 M pH 7.5 utilizando una bomba peristáltica con una manguera de 1/16" DI). Una vez que se formaron las perlas estas se colocaron en la solución de $CaCl_2$ donde se dejaron endurecer.

Para eliminar los azúcares presentes en la pulpa de banano, las perlas se pusieron en una solución buffer Tris-HCl 0.05 M pH 7.5 y se dejaron dializar por 48 horas. Durante el período de diálisis la solución buffer se cambió cada cuatro horas. Para determinar que las perlas no tenían azúcares se analizó el líquido de diálisis con un analizador de glucosa, YSI Modelo 23A, Yellow Spring Instrumental Co.

De la misma manera se prepararon perlas control, excepto que no se utilizó pulpa de banano.

Cromatografía Gas-líquida

Se tomó una alícuota de 0.5 mL de la solución de azúcar por analizar y se evaporó hasta sequedad en un horno al vacío por 45 minutos a 60°C y 20 pulgadas de vacío. Una vez que la muestra se secó, se agregó 1.0 mL de "STOX" (solución de piridina conteniendo

Uridina - glucosa piro fosforilasa es la primera enzima envuelta en ambos mecanismos de reacción.

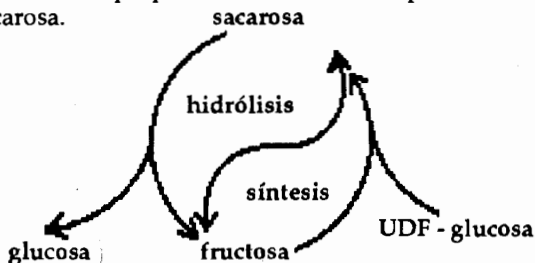
El primer mecanismo sugiere la acción de la enzima sacarosa fosfato sintetasa (UDF -D- glucosa: D -fructosa 6-fosfato 2-glucosil transferasa y sacarosa fosfatasa) (sacarosa -6-fosfato fosfohidrolasa). Uridina difosfato glucosa (UDFG) actúa como agente glucosilante transfiriendo el residuo de glucosa a la fructosa 6 fosfato (F-6-P) y formando sucrosa fosfato (G-F6F), bajo la acción de la enzima, sacarosa fosfato sintetasa.

La sacarosa fosfato es entonces hidrolizada por medio de una fosfatasa a sacarosa y fosfato inorgánico.

El segundo mecanismo propuesto, el que actualmente es aceptado como la mejor ruta, requiere de la enzima sacarosa sintetasa (UDF -glucosa: D fructosa 2 -glucosil tranferasa).

La hidrólisis de sacarosa a través de cualquiera de los dos mecanismos parece que se debe a dos enzimas: la invertasa que hidroliza la sacarosa en glucosa y fructosa, y la sacarosa sintetasa.

Glass y Rand (1982) propusieron una ruta cíclica para el metabolismo de la sacarosa.



Dicha hipótesis propone que por medio de regulación alostérica una sola enzima tiene tanto actividad sintética como hidrolítica en la pulpa del banano maduro.

La conversión rápida y eficiente del almidón a sacarosa, glucosa y fructosa hacen del banano un modelo ideal para el estudio de la interconversión de almidón-sacarosa. Ahora bien, existen diversos factores que interfieren tales como taninos, sustancias pécticas, polifenoloxidasas (Dong y Su, 1972).

25 mg/mL de hidroxilamina hidrocloreto y 6 mg/mL de fenil -B-D- glucopiranosido como patrón interno).

La solución se mezcló vigorosamente en un baño de agua ultrasónico por dos minutos, se calentó a 37°C en un baño por 15 minutos. Se agitó de nuevo por 20 minutos. Se calentó a 37°C por otros 15 minutos. Las oximas resultantes se enfriaron a temperatura ambiente y se agregó 1.0 mL de N- trimetilsilimidazole para convertirlo en éter trimetilsililo (TMS).

Los viales fueron agitados en un "vortex" por 30 segundos y se mantuvieron a temperatura ambiente por 30 minutos.

Una alícuota de 2µL de supernatante se analizó por medio de cromatografía de gas (GC) usando un cromatógrafo de Gas Tracor MT- 220 equipado con un detector de llama ionización y una computadora HP - 2 IMX. Se utilizó una columna de vidrio de 6' x 1/4" empacada con 1.5 % Sp 2250/1.95 % Sp 2401 en 100/120 Supelcon A W - DMCS. La temperatura del horno se programó al momento de inyección de 175 a 250 °C a 10°/min con 5 minutos de "retención final". Otros parámetros fueron: puerto de inyección 260 °C, flujo del nitrógeno transportador 60 mL/min, hidrógeno 40 mL/min y aire 400 mL/min.

Los picos de los azúcares se identificaron de acuerdo a los tiempos de retención y las áreas fueron medidas electrónicamente por medio de la computadora. La concentración de los azúcares se determinaron comparando el área con el patrón interno, fenil -B-D -glucopiranosido el cual había sido introducido en el reactivo "STOX".

Una alícuota de 0.5 mL de una mezcla patrón de azúcares se trató de igual forma a la descrita y se determinaron los factores de respuesta. La solución patrón contenía 5 mg de fructosa, glucosa y sacarosa por 0.5 mL de una solución buffer de acetato. Los mismos resultados se obtuvieron utilizando una Mezcla de azúcares Patrón para Calibración Grupo 1. (Pierce Chemical Co).

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

Caracterización de las perlas de banano

Todos los análisis enzimáticos se hicieron bajo las mismas condiciones. Las muestras se incubaron en un baño a 37°C con agitación constante. Para evitar crecimiento bacteriano se agregó Thymol. El pH se midió al final del período de incubación. La reacción se detuvo extrayendo las perlas de la solución.

La solución se analizó usando el Analizador de Glucosa. Paralelamente se analizaron muestras control utilizando perlas de alginato en lugar de perlas de banano.

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 control.

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

a.- Actividad de la invertasa.

Se incubaron tubos que contenían 2.00 mL de solución de sacarosa (1%) en solución buffer de acetato de sodio 0.4 M, pH 4.8 y 0.50 g de perlas de banano. Se analizaron de la forma descrita previamente. Cada 2 h se tomó una muestra y se analizó la concentración de glucosa.

b.- Efecto de pH en la hidrólisis de sacarosa.

Se preparó un grupo de tubos de ensayo de la siguiente manera: 0.50 mL de la solución madre de sacarosa (4%), 0.5 mL de agua destilada y 1.0 mL de solución buffer acetato de sodio a 0.5 M pH 4.5, 5.0, 5.5 o 6.0 y solución buffer de Tris- HCl a pH 6.5.

De la misma forma se preparó un segundo grupo de tubos excepto que se utilizó una solución de Uridina Disfosfato Glucosa (UDFG) al 12% en sustitución del agua.

Ambos sets se incubaron por 7 h. a 37°C. Simultáneamente corrieron controles.

Los niveles de glucosa se determinaron por medio del Analizador de Glucosa.

La identificación de glucosa, fructosa y sacarosa se llevó a cabo por medio de cromatografía de gas.

c.- Efecto del tiempo en la hidrólisis de la sacarosa a diferentes valores de pH para alcanzar un valor teórico de 40% de conversión.

El análisis se llevó a cabo de la siguiente manera: 0.50 mL de solución de sacarosa (4%), 0.50g de perlas de banano y 1.50 mL de solución que contenía solución buffer de acetato de sodio 0.4 M pH 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 o 6.0 solución buffer de Tris -HCl 0.5 M pH 6.5 . Se incubaron por 5, 7, 15, 29 y 72 horas. Simultáneamente se corrieron controles. El supernatante se analizó por cromatografía de gas.

d.- Actividad enzimática en las perlas de banano pH 4.8 y 6.5 utilizando diferentes sustratos.

El efecto de las perlas de banano en diferentes sustratos se determinó a pH 4.8 usando 0.50 g de perlas en soluciones de 2 mL por 7 h. Esta solución contenía 0.5 mL. de solución buffer de acetato (0.4M pH 4.8) y 0.5 mL uno, dos o tres de las siguientes soluciones de azúcares: fructosa, 2%; glucosa, 2%; sacarosa, 4%; UDFG, 12 % y F-6-F, 6%. Se

utilizó agua destilada para llevar el volumen final a 2.0 mL. Simultáneamente se corrieron blancos.

El efecto de las perlas también fue analizado a pH 6.5 usando 0.5 mL de solución buffer Tris-HCl 0.5M pH 6.5. El supernante se analizó por cromatografía de gas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Al hidrolizarse completamente una solución de sacarosa al 1% se producirá 0.5% de glucosa. En el estudio de Glass y Rand (1982) la hidrólisis completa de la sacarosa en una mezcla de reacción de 0.22g de perlas por mL de solución de sacarosa ocurrió en 23 h. Al utilizar 0.25g de las perlas mejoradas por mL de sacarosa, la hidrólisis completa se logró en las 10 h (Fig. 1). Ahora bien la actividad de la enzima no aumentó en proporción directa a la cantidad de pulpa de banano utilizada. A pesar de que la cantidad de pulpa incorporada en la solución de alginato se aumentó tres veces, las nuevas perlas fueron solo 2.3 veces más activas. Esto podría deberse a las diferencias en métodos de análisis, al grado de maduración del banano o la difusión, el cual es un factor limitante. Debido a que la transferencia de masa difusional es un proceso de primer orden con respecto a la concentración del sustrato, la cinética resultante de la reacción de la enzima es el producto de la velocidad de reacción de la enzima y la velocidad de difusión (Bowers, 1982; Chibata, 1978).

La Figura 1 muestra también que la invertasa de la pulpa de banano inmovilizada produce una reacción lineal; con una producción de 50 mg % por hora de glucosa.

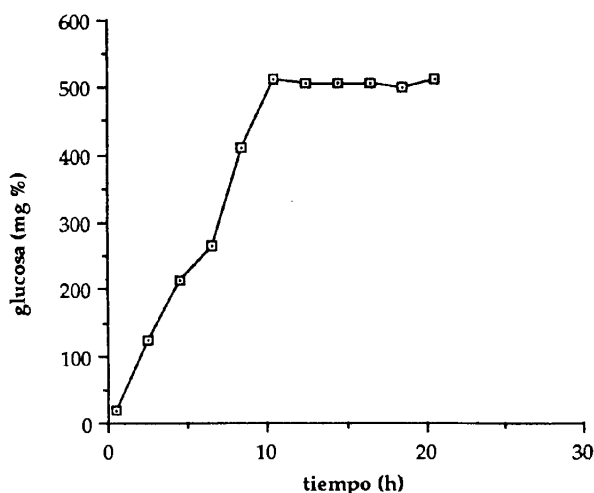


Figura 1. Hidrólisis de la solución de sacarosa al 1% por medio de enzimas inmovilizadas del banano (37 C, pH 4.8)

La Figura 2 ilustra que la actividad de la invertasa en la pulpa de banano decrece al aumentarse el pH. Esto puede deberse a la presencia de grupos ionizables presentes cerca o en la superficie de la molécula de la enzima. Al aumentarse el pH hay una desprotonación de estos grupos (Ferdinand, 1976).

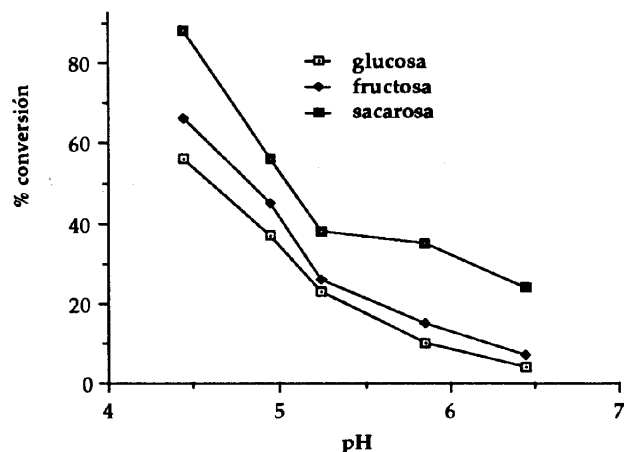


Figura 2. Efecto del pH en la hidrólisis de la solución de sacarosa al 1% (7hr, 37 C)

Como se puede ver en el cuadro 1, aunque la actividad de la enzima decrece al aumentar el pH, la enzima no se desnaturizó, cuando se permitió que la reacción continuara por períodos más largos se lograron mayores niveles de hidrólisis. Parece que la enzima seguía activa pero con una velocidad de reacción menor.

CUADRO 1

Efecto del pH y tiempo en la hidrólisis de sacarosa por perlas de banano a 37°C

pH Final	Tiempo h	Sacarosa Original (mg %)	Glucosa Obtenida (mg %)	Fructosa Obtenida (mg %)	Sacarosa Final (mg %)
3.75	5	850	300	412	77
4.20	5	850	287	403	57
4.80	7	850	333	435	92
5.30	15	850	335	404	36
6.00	29	850	281	311	73
6.60	72	850	329	374	72

El cuadro 1 muestra además que la concentración de fructosa es mayor que la glucosa a pH bajos. Esta diferencia disminuye al aumentar el pH.

También el cuadro 1 muestra que cierta cantidad de sacarosa hidrolizada no aparece ni como fructosa ni como glucosa. Si toda la sacarosa se hubiera hidrolizado en glucosa y fructosa, las cantidades de estos azúcares serían mayores, pero el valor promedio de fructosa fue de 78% y el de glucosa de 74% del valor esperado. Estos valores sugieren que otra reacción puede haber ocurrido. Se ha establecido la presencia de fructosil-sacarosa en el banano maduro (Dilley, 1970). Debido a que la invertasa no es específica para la hidrólisis de sacarosa y que puede catalizar reacciones de condensación con la resultante de trisacáridos de niveles de energía más bajos que la sacarosa (Dilley, 1970).

La Figura 3 presenta los resultados de la acción de las perlas de banano en la producción de glucosa al adicionarse 12 % de UDFG a una solución de sacarosa al 1% a diferentes valores de pH. Se observó que la adición de UDFG resultó en un aumento en la producción de glucosa. Resultados similares fueron obtenidos por Glass y Rand (1982). Esto sugiere que además de la hidrólisis de la sacarosa ocurrió otra reacción.

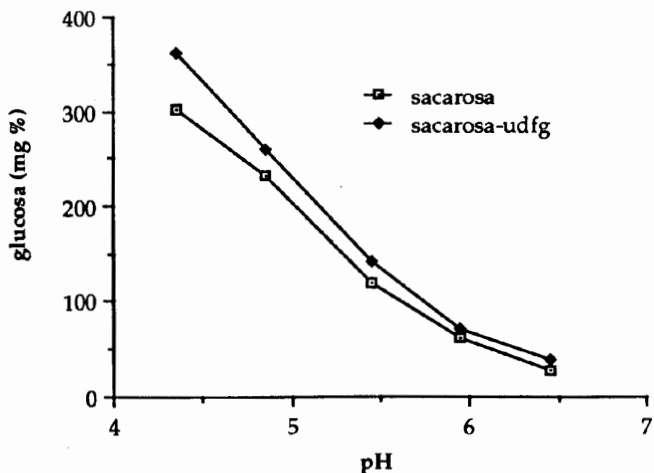


Figura 3. Efecto de la adición de UDFG a la solución de sacarosa al 1% (7hr. 37 C)

Debido a que el pH del banano varía de 5.4 cuando está verde a 4.5 cuando está maduro (Dilley, 1970), se estudió el efecto de diferentes sustratos a pH 4.8, cuyos resultados aparecen en el cuadro 2.

CUADRO 2

Actividad enzimática de las perlas de banano a pH 4.8 con diferentes sustratos (37°C, 7 h)

Sustrato Agregado (mg %)					Concentración de azúcares después de la incubación (mg %)		
fruc	gluc	sac	UDF6	F6F	fruc	gluc	sac
-	400	-	-	-	-	337	-
-	-	800	-	-	340	270	110
-	-	-	2400	-	-	-	-
400	400	-	-	-	400	298	-
-	-	-	2400	1200	-	-	-
400	-	-	2400	-	179	-	-
-	800	-	2400	-	213	182	273
400	400	-	2400	-	336	289	-

Como se esperaba, a pH 4.8 se llevó a cabo la hidrólisis de la sacarosa. al igual que anteriormente se obtuvieron mayores cantidades de fructosa que de glucosa; 78% fructosa y 62% glucosa. La hidrólisis de la sacarosa a partir de la cantidad de sustrato consumido indicó que ocurrió un 87% de conversión.

En presencia de UDFG, la hidrólisis de sacarosa se redujo. La conversión del análisis de fructosa indicó 47% hidrólisis, mientras que el de glucosa indicó 40% de conversión. Esto se reflejó en una mayor concentración de sacarosa sin reaccionar, aunque 70% del sustrato fue consumido.

La técnica de cromatografía de gas que se utilizó no identificaba la presencia de los ésteres fosfatados de carbohidratos, por lo que no se pudo identificar ningún cambio en F-6-F y UDFG después de la acción enzimática.

El pH óptimo reportado para la sacarosa sintetizada es de 6.0 - 6.6, (Yang y Su, 1980) por lo que se evaluó el efecto de varios sustratos sobre las perlas de banano a pH 6.5 (cuadro 3).

CUADRO 3

Actividad enzimática de las perlas de banano a pH 6.5 con diferentes sustratos (37°C 7 h)

Sustratos agregados				Azúcares después de la incubación (mg %)		
fruc	glu	F6F	UDFG	fruc	gluc	sac
400	400	-	-	388	365	-
400	400	-	2400	374	343	-
-	-	1200	2400	-	-	-
-	400	400	-	400	-	-

De los resultados presentados en el cuadro 3, se pueden ver que no ocurrió ninguna reacción a este pH. Aún en presencia de UDFG y F - 6 - F a pH 6.5 no hubo indicación de la formación de sacarosa. Esto puede ser debido al hecho de que la enzima sacarosa fosfatasa que cataliza la hidrólisis de sacarosa 6 - fosfato (producto intermedio en la síntesis de sacarosa) a sacarosa y fosfato inorgánico haya sido inhibida. Se ha encontrado que esta enzima requiere Mg+2, pero se inhibe por el Ca+2, Mn+2, fosfatos, pirofosfato. Debido a que las pulpa fue inmovilizada en una matriz de alginato de Ca+2, es posible que exista cierta inhibición.

CONCLUSIONES

El objetivo de este estudio fue examinar las reacciones de biosíntesis e hidrólisis de la sacarosa. La actividad enzimática en las perlas de banano se mejoró al aumentar la cantidad de pulpa en la solución de alginato. Se pudo observar que en presencia de las perlas de banano y sacarosa como sustrato, ocurrió algún tipo de reacción diferente a la esperada hidrólisis. La formación de glucosa y fructosa no fue directamente proporcional a la pérdida de sacarosa. Los niveles de fructosa fueron mayores que los de glucosa. Si solo hubiera ocurrido la hidrólisis de la sacarosa, se hubieran producido iguales cantidades de glucosa y fructosa.

Cuando a diferentes pHs se agregó UDFG a la solución de sacarosa se produjo un aumento en la producción de glucosa. Esta es otra indicación de que ocurrió una reacción que no se pudo identificar. No fue posible observar la biosíntesis de la sacarosa bajo las condiciones establecidas del estudio. Esto puede ser debido a la posible producción de productos intermedios, productos que no se pudieron identificar con las técnicas utilizadas.

REFERENCIAS

- BAIJAL, M., SINGH, S., SHUKLA, R. N.; SANDWAL, G. G. 1972. Enzymes of the banana plant: optimum conditions for extraction. *Phytochem* 11:929.
- BOWERS, L.D. 1982. Immobilized enzymes in chemical analyse. *Trends in analytical chemistry*. 1(8):191.
- BUTLER, L. G., SIQUIRRES, R. G.; KELLY, S. Y. 1976. The enzyme catalized synthesis of sucrose from starch. *Enzyme technology and renewable resources*. SRA Information Resources National Science Foundation, p. 119.
- CARDINI, C. E., LELOIR L. F.; CHIRIBOGA, J. 1955. The biosynthesis of sucrose. *J. Biol. Chem.* 214: 249.
- CHIBATA, I. 1978. *Immobilized enzymes*. New York; Hollsted Press.
- DAVIS, D.R. 1974. Some aspects of sucrose metabolism. *In: "Plant Carbohydrate Biochemistry."* New York: Academic Press.
- DILLEY, D. R. 1970. *Enzymes. In: The Biochemistry of Fruits and Treir Products*. New York: Academic Press. Vol. 1, p. 179.
- DONG, B. Y.; SU, J. C. 1972. Purification and characterization of sucrose synthetase from banana fruits. *J. Chin. Bioch. Soc.* 1(1):37.
- FERDINAND, W. 1976. *The enzyme molecule*, p. 159. Bristol, John Wiley Sons.
- GLASS, R. W.; RAND, A. G. 1982. Alginate immobilization of banana pulp enzymes for sucrose interconversion. *J. Food Sci.* 47(6): 1836.
- GOMES, AREAS, J. A.; LAJOLO, F. M. 1981. Starch transformation during the banana ripening. I. The phosphororylase and phosphatase behavior in *Musa acuminata*. *J. Food Bioch.* 5: 19.
- JARAMILLO, R. 1985. Banano y plátano. *In 2ª Mesa Redonda de Red Latinoamericana de Agroindustria de Frutas Tropicales, Manizales, Colombia, Febrero 10-15, p. 241.*
- LELOIR, L. F.; CARDINI, C. F. 1954. The biosynthesis of sucrose phosphate. *J. Biol. Chem.* 214:157.
- PALMER, J. K. 1971. The banana. *In: "The biochemistry of fruits and treir products."* Vol. 2, p. 65. New York. Academic Press.
- SHUKLA, R. N., SINGH, S., DAS, N.; SAWAL, G. G. 1973. Carbohydrate metabolism in *Musa paradisiaca*. *Phytochem* 12:972.
- TERRA, N. N., GARCIA, E.; LAJOLO, F. M. 1983. Starch-sugar transformation during banana ripening; the behavior of UDP glucose pyrophosphorylase, sucrose synthetase and invertase. *J. Food Sci.* 48:1097
- VON LOESECKE, N. W. 1950. *Bananas*. New York. Interscience Publishers.
- YANG, CH. L.; SU, J. Ch. 1980. Quaternary structure of sucrose synthetase from banana fruits. *J. Chin. Bioch. Soc.* 9(2):100.
- _____; Ho, H. K. 1981. Biochemical studies on post-ripening of banana. *J. Chin. Chem. Soc.* 5(37):1031.