

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Extracción de almidón de banano de sobreproducción para la síntesis de glucosa por medio de hidrólisis enzimático y evaluación para su uso como materia prima en la fabricación de medicamentos

Leslie Jeanette Melgar López

Química Farmacéutica

Guatemala, Julio del 2,013

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Extracción de almidón de banano de sobreproducción para la síntesis de
glucosa por medio de hidrólisis enzimático y evaluación para su uso como
materia prima en la fabricación de medicamentos

Informe de Tesis

Presentado por

Leslie Jeanette Melgar López

Para optar al Título de

Química Farmacéutica

Guatemala, Julio del 2,013

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Fayver Manuel de León Mayorga	Vocal IV
Br. Maily Graciela Córdova Audón	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A Dios por sobre todo, por darme la oportunidad de finalizar este trabajo de investigación.

Al Licenciado Julio Gerardo Chinchilla, por su tiempo, apoyo y paciencia durante el desarrollo de este trabajo.

A la Licenciada Hada Alvarado por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala por brindarnos la oportunidad de formarnos como profesionales.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por el conocimiento adquirido para poder desarrollarnos como profesionales.

A mis amigos y compañeros con quienes compartí muchas experiencias durante la carrera de Química Farmacéutica.

Al Departamento de Farmacia Industrial de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Al Departamento de Bioquímica de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Especialmente al Ing. Kelder.

Al Departamento de Química Medicinal de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Al Licenciado Carlos Castillo del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Agronomía del Centro Universitario de Occidente – CUNOC – (USAC) Quetzaltenango.

ACTO QUE DEDICO

A Dios por permitirme llegar a este momento especial. Por ayudarme e iluminarme en los momentos difíciles y permitirme alcanzar este sueño.

A mis padres, Joaquín Melgar por su apoyo y Olga López por su esfuerzo, apoyo, lucha y sacrificio, este logro es para ustedes.

A mi tía Marta López, mi prima Paola López, a su familia, a mis abuelos y al resto de mi familia ya que todos contribuyeron para alcanzar esta meta.

A mi hijo Nathan Morales y a mi esposo Roberto Morales, por su amor, compañía, comprensión y apoyo, espero que todo mi esfuerzo los haga sentir orgullosos, este logro también es para ustedes.

A mis suegros, Laura Morales y Roberto Morales, a mis cuñados, Jenny, Ember y Axel y a sus demás familiares por brindarme su apoyo.

INDICE

Tema	Página
1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Antecedentes	3
3.1 Composición química y valor nutricional del banano	4
3.2 Almidón	5
3.3 Glucosa	6
3.3 Banano de Rechazo o de Sobreproducción	7
3.1 Aplicación del banano de rechazo	8
3.4 Hidrólisis Enzimática	10
3.4.1 Hidrólisis Enzimática de Polisacáridos	10
3.4.2 Alfa Amilasa (Amilasas)	10
3.4.3 Glucoamilasas	11
3.3.4 Enzimas Desramificantes	14
4. Justificación	15
5. Objetivos	16
6. Hipótesis	17
7. Materiales y Método	18
7.1 Universo	18
7.1.1 Muestra	18
7.2 Materiales	18
7.2.1 Equipo	18
7.2.2 Reactivos	18
7.2.3 Cristalería e Instrumentos	19
7.3 Método	20
7.3.1 Extracción de Almidón de Banano	20
7.3.2 Síntesis de Glucosa del Almidón de Banano	20
7.3.3 Pruebas para la Glucosa según USP XXXII	20

7.3.3.1 Identificación	20
7.3.3.2 Acidez	20
7.3.3.3 Agua	21
7.3.3.4 Residuo de incineración	21
7.3.3.5 Sulfito	22
7.3.3.6 Metales pesados	22
7.3.3.7 Almidón	23
7.3.4 Características Físicas de la Glucosa Líquida	24
8. Resultados	25
9. Discusión de Resultados	29
10. Conclusiones	34
11. Recomendaciones	35
Referencias	36
Anexos	39

1. Resumen

En la actualidad se requiere de un buen manejo de los recursos naturales, en esto se incluye el aprovechamiento de desechos agrícolas para la obtención o elaboración de productos para la utilización de este material y beneficiarnos para evitar mayor contaminación. Esta forma de reciclaje puede presentar beneficios sociales y ambientales tanto para nuestro país como para el mundo.

El banano de sobreproducción o de desecho es un material que no cumple con los requerimientos para su exportación, en Guatemala la producción de banano se ha incrementado y es una de las fuentes importantes de ingresos por exportación para el país, por lo que sus desechos tienden a tener gran impacto ambiental por la cantidad descartada y esto hace necesario encontrar alternativas para su utilización y poder aprovechar este recurso en vez de tirarlo a la basura.

En este trabajo se realizó una extracción de almidón del banano de sobreproducción (verde) y posteriormente se sintetizó glucosa por medio de hidrólisis enzimática utilizando la enzima alfa-amilasa en una solución buffer de fosfatos, a una temperatura de 40°C por 8 horas, luego de la hidrólisis se inactivó a la enzima a 80°C por 5 minutos. La glucosa resultante se encontraba en solución por lo que se le realizaron las respectivas pruebas de la USP XXXII para glucosa líquida, también se le realizaron las pruebas de características físicas a la glucosa líquida según la Farmacopea Española.

La glucosa obtenida tuvo un porcentaje de rendimiento de las muestras que presentaron un promedio de 33.4811% para las 5 muestras evaluadas, y en las pruebas de la farmacopea no cumplieron en los residuos de ignición, acidez y agua por lo que no es adecuada para su uso en la elaboración de productos farmacéuticos.

2. Introducción

El banano es uno de los alimentos de primera necesidad más importantes en las zonas tropicales y su producción para la venta en mercados locales es, junto con la producción lechera y la horticultura, una de las pocas actividades que proporciona a las unidades familiares ingresos regulares durante todo el año (Arias, et al., 2004).

El banano en Guatemala, Honduras y Panamá contribuye de forma fundamental a las economías de estos países y es una importante fuente de ingresos de exportación y de empleo. El banano en Guatemala es la tercera fuente en importancia de ingresos procedentes de la exportación agrícola, después del café y el azúcar (Arias, et al., 2004).

Para el consumo diario principalmente se utiliza el banano maduro (de color amarillo), para exportar generalmente se utiliza el banano en estado inmaduro (de color verde), cuando en las empacadoras no se llenan los requisitos de exportación, el banano se queda para consumo local, este es llamado “banano de rechazo” o “banano de sobreproducción”, y por lo general se encuentra en un estado inmaduro.

En el banano inmaduro o verde, se encuentra una mayor concentración de almidón, que en el banano maduro, por ello en esa etapa se da el momento óptimo para la extracción de almidón. Con este almidón disponible se puede obtener glucosa por medio de hidrólisis enzimática. La cual puede ser utilizada a nivel industrial, en la fabricación de productos farmacéuticos.

En el trabajo presentado a continuación, se consideró importante establecer si podría tener una mayor utilidad el almidón de banano verde por lo que se le realizó una síntesis de glucosa, con la finalidad de poder evaluar la glucosa según los ensayos descritos en la Farmacopea USP XXXII, para verificar si se puede utilizar para hacer preparados farmacéuticos.

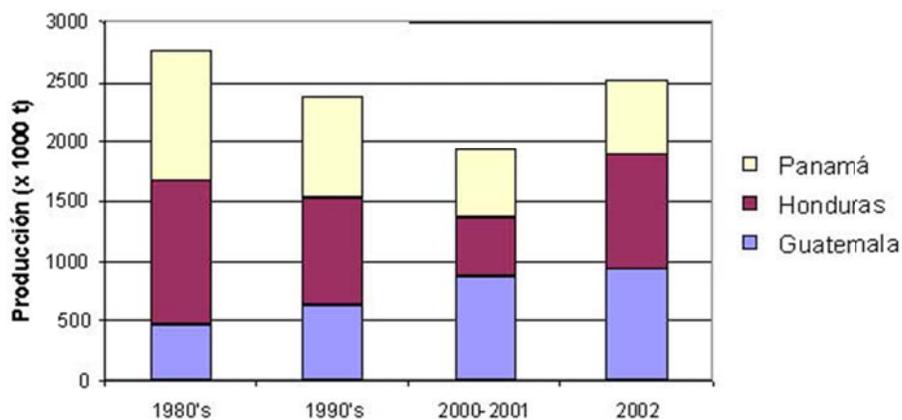
3. Antecedentes

Las plantaciones de banano, ocupan un lugar importante en la historia de Guatemala, especialmente por el establecimiento de la United Fruit Company, compañía transnacional norteamericana que ocupaba para su producción grandes extensiones de tierra, ejerció un poder económico y político muy grande en el país y a lo largo de Centroamérica hasta Colombia (Nuñez, 2003).

El banano en Guatemala, Honduras y Panamá contribuye de forma fundamental a las economías de estos países y es una importante fuente de ingresos de exportación y de empleo. No obstante, la producción global en estos países se mantuvo relativamente estancada en los últimos 15 años (1985-2000) debido a la influencia perjudicial de fenómenos relacionados con la climatología, desacuerdos industriales, enfermedades de los cultivos, el aumento de los costos de producción y la depresión de los precios del banano (Arias, et al., 2004).

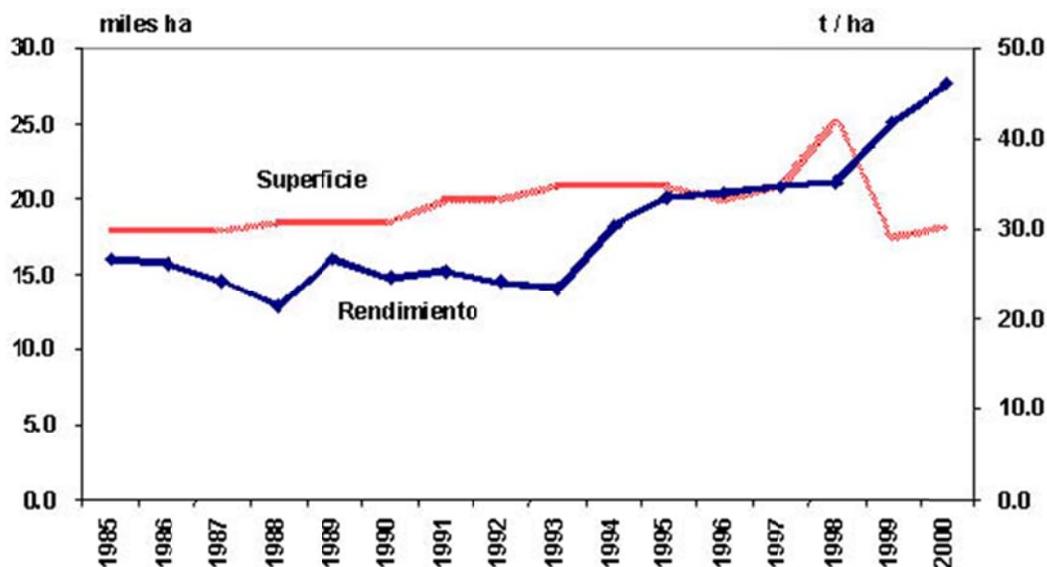
Las plantaciones de banano se ubican en la costa atlántica y son visitadas por pasajeros que arriban en cruceros a Puerto Santo Tomás de Castilla, además de otras plantaciones que se encuentran en la costa sur del país (ASOPTUR).

Gráfica No. 1 Guatemala, Honduras y Panamá: producción de banano 1980-2002



Fuente: FAOSTAT

Gráfica No. 2 Guatemala: superficie plantada de banano y productividad 1985-2000



Fuente: FAOSTAT

Cuadro No. 1 Guatemala, Honduras y Panamá: exportaciones según destino (toneladas y porcentaje)

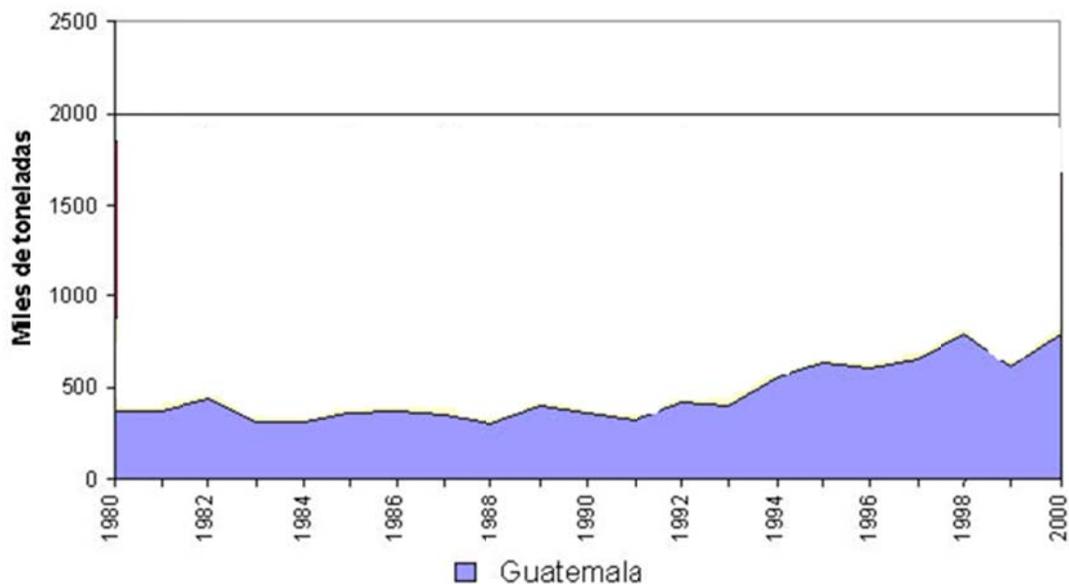
	1988-1990	(%)	1998-2000	(%)
Estados Unidos	1 032 985	48	1 102 846	58
Canadá	53 509	2	39 319	2
Unión Europea	833 485	39	615 713	33
Otros Europa occidental	75 184	4	20 607	1
Europa oriental	1 949	0	4 065	0
Ex URSS	1 564	0	13 050	0
América del Sur	108 614	5	110 018	6
Oriente Medio	37 222	1	16 609	0
Total	2 144 513		1 922 226	

Fuente: FAO

El banano en Guatemala es la tercera fuente en importancia de ingresos procedentes de la exportación agrícola, después del café y el azúcar. Las exportaciones de banano se han incrementado de forma constante a un ritmo del 5,4 por ciento anual desde los años sesenta,

pero la mayor parte del aumento se produjo en los noventa. Las perspectivas de expansión futura de la producción y las exportaciones de banano son confusas. Los obstáculos más importantes para el aumento de la producción y las exportaciones son el transporte y la infraestructura de las comunicaciones, que no está previsto mejorar en este decenio debido al bajo rendimiento de la economía (Arias, et al., 2004).

Gráfica No. 3 Guatemala: exportaciones de banano 1980-2000



Fuente: FAOSTAT

3.1 Composición química y valor nutricional del banano

La composición química del banano varía con el tipo de cultivar y el estado de madurez. Uno de los principales carbohidratos que constituye el banano verde es el almidón; sin embargo cuando la fruta madura y se vuelve amarilla, el almidón se hidroliza y forma sacarosa, razón por la cual el banano maduro es más dulce. En el banano, los gránulos de almidón se encuentran en el interior de las células que constituyen la pulpa, las cuales se ubican principalmente en la parte central y a todo lo largo del fruto. Estas células se unen con otras por medio de sustancias pécticas, polímeros que las rodean proporcionándoles rigidez y textura; por consiguiente, los

gránulos de almidón se encuentran rodeados o atrapados por estos polímeros, lo cual dificulta su extracción (Bonilla, et al., 2001).

El banano está compuesto por una gran cantidad de nutrimentos; contiene una pequeña cantidad de aceite, el cual no sufre cambio alguno durante la maduración. Es una fuente de calcio y hierro, además de ser rico en potasio, sodio, magnesio y fósforo (Cuadro 2). Inclusive la cáscara es una fuente potencial de pectina (ANON, 2002).

Cuadro No. 2 Composición química de la pulpa de banano verde en base fresca

Nutriente en 100 g de pulpa	Cantidad
Energía (Calorías)	110.00
Humedad (g)	69.00
Proteína (g)	1.40
Grasa (g)	0.20
Carbohidratos totales (g)	28.70
Fibra (g)	0.70
Ceniza (g)	0.90
Ca (mg)	8.00
P (mg)	17.00
Fe (mg)	0.80
Vitamina A (mcg)	45.00

Fuente: INCAP (1996), adaptado por el autor.

3.2 Almidón

El almidón es el segundo carbohidrato más abundante en la naturaleza, solamente superado por la celulosa. Se puede encontrar en hojas verdes, tallos, semillas o frutos. Las características físicas, químicas, funcionales y nutricionales del almidón lo diferencian del resto de los carbohidratos. Se considera la reserva de alimento predominante en plantas y provee del 70 al 80% de las calorías consumidas por los humanos a nivel mundial; además se considera entre los carbohidratos más digeribles (Whistler y BeMiller, 1997). El hombre ha encontrado muchas aplicaciones para el almidón, extendiendo su diseño original como fuente de energía (Aranal, 1999).

El almidón es una mezcla de dos sustancias: amilosa, un polisacárido esencialmente lineal, y amilopectina, un polisacárido con una estructura muy ramificada. Las dos formas de almidón son polímeros de α -D-Glucosa. Los almidones naturales contienen 10-20% de amilosa y 80-90% de amilopectina. La amilosa forma una dispersión coloidal en agua caliente que ayuda a espesar caldos o salsas, mientras que la amilopectina es completamente insoluble (Primo, 1996).

Las moléculas de amilosa consisten típicamente de 200 a 20,000 unidades de glucosa que se despliegan en forma de hélix como consecuencia de los ángulos en los enlaces entre las moléculas de glucosa (Primo, 1996).

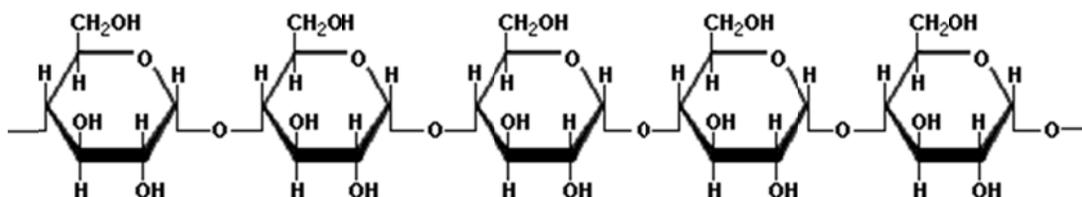


Figura No. 1 Amilosa

La amilopectina se distingue de la amilosa por ser muy ramificada. Cadenas laterales cortas conteniendo aproximadamente 30 unidades de glucosa se unen con enlaces α 1 \rightarrow 6 cada veinte o treinta unidades de glucosa a lo largo de las cadenas principales. Las moléculas de amilopectina pueden contener hasta dos millones de unidades de glucosa (Primo, 1996).

Dentro de los posibles del almidón hidrolizado enzimáticamente para producir glucosa se encuentran: Pueden obtener jarabes de diferente composición y propiedades físicas. Los jarabes se utilizan en una variedad de alimentos tales como gaseosas, dulces, productos horneados, helados, salsas, alimentos para bebés, frutas enlatadas, conservas, etc. (Carrera, 2002).

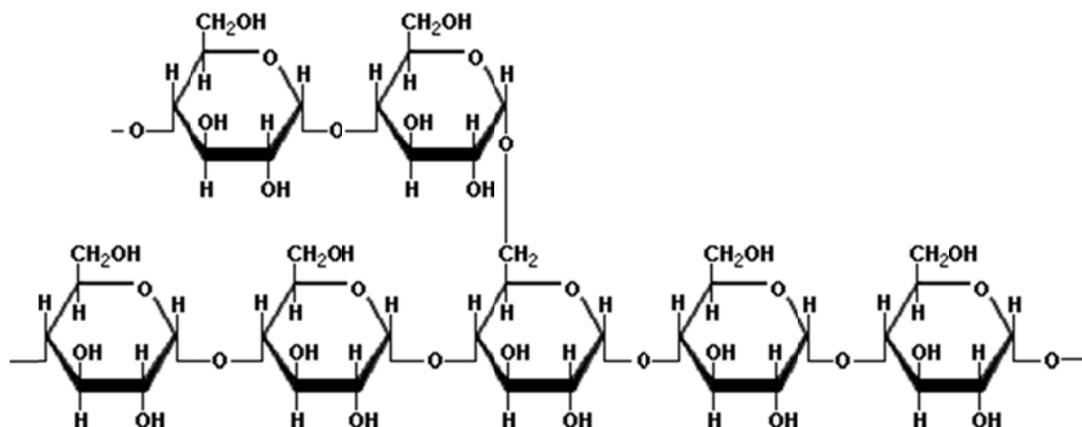


Figura No. 2 Amilopectina

3.3 Glucosa

La glucosa es un monosacárido con fórmula molecular $C_6H_{12}O_6$, la misma que la fructosa pero con diferente posición relativa de los grupos $-OH$ y $O=$. Es una hexosa, es decir, que contiene 6 átomos de carbono, y es una aldosa, esto es, el grupo carbonilo está en el extremo de la molécula (Devlin, 2006).

Todas las frutas naturales tienen cierta cantidad de glucosa (a menudo con fructosa), que puede ser extraída y concentrada para hacer un azúcar alternativo. Pero a nivel industrial, tanto la glucosa líquida (jarabe de glucosa) como la dextrosa (glucosa en polvo) se obtienen a partir de la hidrólisis enzimática de almidón de cereales (generalmente trigo o maíz) (Saldarriaga, 1982).

La glucosa, libre o combinada, es el compuesto orgánico más abundante de la naturaleza. Es la fuente primaria de síntesis de energía de las células, mediante sus oxidación catabólica, y es el componente principal de polímeros de importancia estructural como la celulosa y de polímeros de almacenamiento energético como el almidón y el glucógeno (Saldarriaga, 1982).

3.4 Polifenol Oxidasa

La polifenol oxidasa (PPO por sus siglas en inglés) es una metaloenzima que actúa durante el procesamiento y la senescencia de frutas y vegetales, catalizando dos tipos de reacciones que usan oxígeno molecular como agente oxidante: la *orto-*

hidroxilación de monofenoles para producir *orto*-difenoles y la posterior oxidación de *orto*-difenoles a *orto*quinonas (Mayer, 2006).

Estas especies producidas son altamente reactivas e inestables y pueden reaccionar con grupos amino y tiol de aminoácidos libres y proteínas mediante mecanismos no enzimáticos, o reaccionar covalentemente con otros compuestos fenólicos para formar diferentes pigmentos, ocasionando así el efecto conocido como pardeamiento enzimático (Prota, 1988).

La reacción general sugiere que el enzima cataliza la formación de quinonas altamente reactivas que reaccionan con grupos amino o sulfhidrilo de proteínas. Estas reacciones generan cambios en las características físicas, químicas y nutricionales del alimento. Las quinonas también pueden conducir a la polimerización y a reacciones de condensación entre proteínas y polifenoles, produciendo como consecuencia pigmentos de color café, proceso que va en detrimento del perfil nutricional del alimento (Eskin, 1990).

Este fenómeno causa deterioro en las características organolépticas de los productos, disminuye su valor proteico y afecta las propiedades benéficas asociadas a los compuestos fenólicos, causando grandes pérdidas económicas en la industria de frutas y vegetales. Dado el impacto negativo de ésta reacción para la industria alimenticia, los PPO son ampliamente estudiados, sin embargo su función en muchos vegetales no ha sido totalmente resuelta (Lee, Whitaker, 1995).

3.5 Banano de Rechazo o de Sobreproducción

El banano de exportación se somete a un proceso de control de calidad intensivo, para que llegue a su destino en el estado de madurez acertado y libre de manchas, suciedades y cicatrices de maltrato. De acuerdo con la causa de rechazo, la fruta se clasifica en boleja, rechazo en empacadora y rechazo en puerto (Bello, et al., 1999).

Cuando las expectativas de demanda de banano de exportación no se cumplen en el tiempo estipulado, el momento de corte de los racimos se supera y no permite que sean aprovechados para exportaciones futuras. Esta fruta queda disponible en los campos y es la denominada boleja, la cual se estima entre un 5% y 10% de la producción de exportación anual (Bello, et al., 1999).

En la etapa de selección y empaque, se presentan rechazos en las operaciones de desgaje y desmane. En la primera se inspeccionan las dimensiones de la fruta, y en la segunda, las condiciones de la cáscara. De este modo, el rechazo de empacadora resulta de la exigencia de calidad estipulada por las comercializadoras de banano.

En las terminales portuarias, previamente al embarque del banano, se realiza un último control de calidad, para desechar la fruta que pudo maltratarse en el transporte desde las plantaciones a la terminal. El rechazo en puerto es mínimo (Bello, et al., 1999).

3.5.1 Aplicación del banano de rechazo

Las distintas partes de la planta, tanto del banano verde como del maduro, tienen diversos usos como alimento para humanos y ganado, así como en la industria no alimentaria y como fuente de sustancias con propiedades medicinales. Las hojas de la planta de banano se usan para tamales, techos, sombra y fibra; los tallos se usan para alimentación de ganado y como fibra; y la cáscara de banano para compost y fibra (ANON, 2002).

3.6 Hidrólisis Enzimática

Hidrólisis enzimática se entiende por una hidrólisis que se produce mediante un grupo de enzimas llamadas hidrolasas. Estas enzimas ejercen un efecto catalítico hidrolizante, es decir, producen la ruptura de enlaces por agua según: $H-OH + R-R' \rightarrow R-H + R'-OH$. Se nombran mediante el nombre del sustrato seguido de la palabra hidrolasa, y cuando la enzima es específica para separar un grupo en particular, éste

puede utilizarse como prefijo. En algunos casos este grupo puede ser transferido por la enzima a otras moléculas y se considera la hidrólisis misma como una transferencia del grupo al agua (Martonosi, vol 3 y 4).

3.6.1 Hidrólisis Enzimática de Polisacáridos.

Se necesitan más de 10 unidades de azúcar y a veces hasta miles de unidades para formar los polisacáridos. El almidón es la principal reserva de energía de las hortalizas de raíz y los cereales. Está formado por largas cadenas de glucosa en forma de gránulos, cuyo tamaño y forma varían según el vegetal del que forma parte. Los polisacáridos se pueden clasificar en:

1. Homopolisacáridos: un mismo constituyente en toda la cadena Ej. Almidón, glucógeno, celulosa, inulina
2. Heteropolisacáridos: Diferentes componentes en la cadena Ej. Heparina, ácido hialurónico, condroitinas (Universidad de Guayaquil).

3.6.2 Alfa Amilasa (Amilasas).

Las amilasas son enzimas dependientes de cloruro, completamente afuncionales en ausencia de iones de cloruro. Actúan a lo largo de cualquier punto de la cadena de los carbohidratos, descomponiéndolos en dextrina desde la amilopectina. Dado que puede actuar en cualquier punto de la cadena es más rápida que la β -amilasa (Anthea, et al., 1993).

- **Origen de alfa-amilasa:** Fúngico (*Aspergillus oryzae*), bacteriano (*B. stearothermophilus*, *B. subtilis*), de cereales y del páncreas.
- **Origen de beta-amilasa:** cereales, soya y camote.

La enzima alfa-amilasa se encuentra en poca cantidad en el trigo y abunda más en aquel que ha sido parcialmente germinado. La beta-amilasa, por el contrario, se encuentra en gran cantidad en este cereal.

La *alfa-amilasa* cataliza la hidrólisis de la cadena lineal (amilosa) y la ramificada (amilopectina) del almidón, rompiendo enlaces 1,4 interiores

(endoamilasa) para formar una mezcla de dextrinas; por ello se la conoce como enzima *dextrinogénica* (mezcla de amilodextrina, eritrodextrina, acrodextrina y maltodextrina) con poca producción de maltosa (Universidad de Chile).

Por su acción, la alfa-amilasa provee de fragmentos menores que pueden ser utilizados por la enzima beta-amilasa. La enzima alfa-amilasa requiere de un activador como, por ej., cloruro de sodio. Es sensible a una acidez elevada y se vuelve inactiva a pH 3,3 o a pH menor a 0°C por 15 min. El pH óptimo de acción está dentro del rango 5-7, siendo de 6,5 para la alfa-amilasa bacteriana y pancreática. La enzima es resistente al calor, pues a 70°C conserva un 70% de su actividad. Actúa sobre almidones crudos y gelatinizados.

La alfa-amilasa de *origen fúngico* (como es la que se obtiene por crecimiento del micelio del *Aspergillus oryzae* en fermentadores de cultivo sumergido que permiten una agitación y una aereación intensas), aunque puede ser menos potente que la de bacterias o de cereales, se puede obtener con baja actividad de proteasa (desdobladora del gluten) y de maltasa, conservándose así la maltosa, esencial para la fermentación (Universidad de Chile).

La alfa-amilasa de origen bacteriano es más estable al calor que la de hongos y de cereales, de manera que no se inactiva totalmente en el horno panificador. Por este motivo, su adición debe ser bastante cuidadosa para evitar una sobreproducción de dextrina residual y con ello una miga gomosa y pegajosa. Por otra parte, una actividad residual de la alfa-amilasa bacteriana en el pan tiene la ventaja de suministrarle una mejor conservación, al restringir durante el almacenamiento del pan la retrogradación de su almidón, causante del envejecimiento. Al sustituir la adición, de la amilasa por extracto, jarabe o harina malteados, debe tenerse presente la relativa termo-resistencia de su alfa-amilana y su considerable actividad proteolítica, cuyas desventajas se han señalado anteriormente (Universidad de Chile).

Acciones: Como es sabido, el almidón está formado por la fracción *amilosa* de cadena recta de moléculas de glucosa unidas por enlaces glucosídicos alfa-1,4; en tanto que la fracción *amilopectina*, además de la cadena recta, presenta ramificaciones con enlaces glucosídicos 1,6 (Universidad de Chile).

Aplicaciones: El uso de la alfa-amilasa para mejorar el valor panificador de harinas se basa en el hecho de que un adecuado y mantenido desprendimiento de anhídrido carbónico depende de la cantidad de maltosa y glucosa fermentescibles que estén presentes en la masa, y cuya formación depende, a su vez, de la acción sincronizada de la alfa- y la beta-amilasa; en mejor forma que por adición de extracto de malta usado también para este objeto. Mientras los cereales germinados contienen ambas enzimas, muchas harinas de trigo son deficientes en alfa-amilasa, siendo entonces conveniente su adición (Universidad de Chile).

3.6.3 Glucoamilasas

La glucoamilasa es una enzima clasificada como exohidrolasa, debido a que se adhiere primariamente al enlace alfa(1,4), exclusivamente en las puntas no reducidas de la glucosa y de los fragmentos provenientes de la hidrólisis por la alfa-amilasa (Beynumvan, 1985).

En relación con las enzimas industriales la glucoamilasa es relativamente nueva, por lo que su uso no se ha expandido (Beynumvan, 1985).

Debido a que su especificidad y su producción de glucosa es más grande comparada con la hidrólisis ácida, fue rápidamente adoptada la producción de jarabes de glucosa (Beynumvan, 1985).

La glucoamilasa es producida por un gran número de hongos y algunas especies de animales, sin embargo, solo aquellos provenientes de *Aspergillus sp* y *Rhizopus sp* son de importancia comercial.

La glucoamilasa provienente de *Aspergillus sp* (específicamente *Aspergillus niger*) es la enzima de elección para procesos industriales en los Estados Unidos Americanos (Beynumvan, 1985).

El hongo *Aspergillus niger* produce dos importantes isoenzimas de glucoamilasa, y es común encontrar ambas en preparaciones comerciales (Beynumvan, 1985).

3.6.4 Enzimas Desramificantes

Para la hidrólisis de enlaces $\alpha(1-6)$ glucosídicos se utilizan enzimas desramificantes como la isoamilasa y la polulanasa. La isoamilasa es obtenida principalmente de *Pseudomona sp*; la polulanasa se obtiene a partir de *Klebsiella aerogenes*; esta última usada comercialmente para incrementar el producto en la manufactura de dextrosa cristalina (Quintana, 1990).

La desramificación de estas dos enzimas incrementa el porcentaje de glucosa producido durante la hidrólisis efectuada por la amiloglicosidasa.

La acción combinada de una α -amilasa y una ($\alpha(1-6)$ -glucosidasa) puede, por lo tanto, degradar completamente la amilopectina a glucosa y maltosa (Gil, 1992).

4. Justificación

Debido a que el banano de sobreproducción o de rechazo, es un material que muchas industrias descartan, o que se utiliza para la alimentación de animales, se le puede dar un uso más adecuado, por su alto contenido en almidón. Es aprovechable para la extracción del almidón ya que en la fase inmadura del banano se encuentra en mayor concentración, puesto que el banano de rechazo se encuentra en esta fase de inmadurez.

Durante décadas, Guatemala ha tenido la superficie plantada más estable de todos los países exportadores de banano de América Latina. La superficie plantada durante las últimas cuatro décadas se han mantenido casi constante en 20, 000 hectáreas y la productividad de las tierras ha aumentado marginalmente (Arias, et al., 2004).

La síntesis de glucosa a partir del almidón de banano de sobreproducción puede ser una fuente de materia prima en la elaboración de medicamentos, ya sea como principio activo, preservante o vehículo, según el estado en el cual se encuentra (líquido o sólido).

La extracción de almidón de esta fruta inmadura es muy viable debido a que tiene un bajo costo y es sencilla, por lo que la glucosa sintetizada también tendría un costo menor, y si llega a cumplir con los estándares establecidos según los ensayos descritos en la Farmacopea USP XXXII, sería una materia prima de bajo costo y de buena calidad, lo que sería muy factible para su uso en las industrias en la elaboración de medicamentos y alimentos que utilicen glucosa dentro de los ingredientes, ya que esta farmacopea no presenta especificaciones de características físicas de glucosa líquida se hace necesario el uso de la Farmacopea Española Tercera Edición que sí cuenta con esta información para hacer una evaluación más completa de la glucosa obtenida.

5. Objetivos

5.1 Objetivo General

5.1.1 Extraer la glucosa, a partir de banano de sobreproducción, para su evaluación según los ensayos de la Farmacopea USP XXXII, y verificar si se puede utilizar como materia prima en la fabricación de medicamentos.

5.2 Objetivos Específicos

5.2.1 Extraer el almidón de banano de sobreproducción a nivel de laboratorio y evaluar su rendimiento en la extracción de glucosa.

5.2.2 Determinar las características físicas de la glucosa extraída, a partir del almidón de banano de sobreproducción.

5.2.3 Evaluar las características químicas según los ensayos establecidos en la Farmacopea USP XXXII.

5.2.4 Evaluar las características físicas de la glucosa líquida según los parámetros establecidos en la Farmacopea Española Tercera Edición.

6. Hipótesis

La glucosa obtenida a partir de la síntesis del almidón de banano de sobreproducción, cumple con los ensayos descritos en la Farmacopea USP XXXII y las pruebas de características físicas de la Farmacopea Española Tercera Edición, por lo que se puede utilizar como materia prima en la fabricación o elaboración de medicamentos.

7. Materiales y Métodos

7.1. Universo

Banano de desecho a de la Finca Santo Tomas, Puerto Barrios, Izabal

7.1.1 Muestra

3 Kilogramos de bananos de rechazo de la Finca Santo Tomas, Puerto Barrios, Izabal.

7.2 Materiales

7.2.1 Equipo

- Centrifugadora.
- Estufa
- Campana de Extracción
- Horno
- Mufla
- Balanza semi analítica

7.2.2 Reactivos

- Bisulfito de Sodio
- Buffer de fosfatos de sodio 0.2 M
- Buffer de fosfatos de sodio 0.1 M
- Ácido clorhídrico 0.5 N, 6.0 N
- Enzima Amiloglucosidasa.
- Tartrato Cúprico alcalino SR
- Fenolftaleína SR
- Hidróxido de Sodio 0.10 N, 4.0 N
- Almidón SR
- Yodo 0.10 N
- Cloruro cobaltoso

- Sulfato cuproso
- Hidróxido de sodio
- Ácido Nítrico
- Ácido clorhídrico
- Solución Estándar de Arsénico
- Cloruro estañoso
- Dietililditiocarbamato
- Tioacetamida SR
- Ácido cítrico
- Ácido acético 1.0 N
- Nitrato de plata
- Cloruro de Bario
- Hidróxido de Amonio 6.0 N

7.2.3 Cristalería e Instrumentos

- 5 Beakers de 1000 ml
- Papel pH
- 2 Varillas de Agitación
- 15 Tubos de ensayo
- 4 Probeta de 25 ml
- 4 Erlenmeyer
- 5 Beaker de 250 ml
- Papel filtro
- 2 Vidrios de Reloj
- Pinzas

7.3 Método

7.3.1 Extracción de Almidón de Banano

1 kg de banano (de rechazo), se licuan con buffer de fosfato de sodio al 0.2 M, tween 20 al 3% y Polivinilpirrolidina (PVP) al 6% por 5 minutos, luego se pasa por los diferentes mesh en el motor universal, posteriormente se elimina el sobrenadante y se filtra con una manta, y la solución resultante se diluye en agua destilada, en la cual queda el almidón, posteriormente se le realizan lavados con agua destilada para eliminar los restos del buffer para eliminar la enzima PPO.

7.3.2 Síntesis de Glucosa a partir de Almidón de Banano

Hidrólisis enzimática: Utilizar solución de amilasa al 1% que se prepara de la siguiente forma: Macerar 0.1g de alfa-amilasa en 10 ml de buffer de fosfatos de sodio y cloruro de sodio a pH de 6.8.

Solución de amilasa diluida. Diluir la solución de amilasa para una dilución 1:25.

Solución de almidón al 1.5%. 1.5g de almidón calentar 40ml de Buffer de fosfato de sodio y cloruro de sodio a pH de 6.8. Calentar a ebullición por 1 min y después enfríalo a temperatura ambiente (25°C).

A la solución de almidón al 1.5% hidrolizar con la solución de amilasa diluida a 40°C por 8 horas. Luego calentar la solución a 80°C, por 5 minutos para inactivar a la enzima alfa amilasa. Filtrar la solución resultante.

7.3.3 Pruebas para la Glucosa según USP XXXII

Glucosa Líquida

6.3.3.1 Identificación—Agregar algunas gotas de una solución (1 en 20) a 5 mL de tartrato cúprico alcalino SR caliente: se forma un copioso precipitado rojo de óxido cuproso (diferenciación de la sacarosa).

7.3.3.2 Acidez—A una solución de 5.0 g en 15 mL de agua, agregar 5 gotas de fenolftaleína SR: no se requieren más de 0.60 mL de hidróxido de sodio 0,10N para producir un color rosado.

7.3.3.3 Agua, Método h<921>Ia: no más de 21.0%, determinado en una muestra de 100 mg.

- Método de agua <921> Ia. Reactivo—Preparar el Reactivo de Karl Fischer como se indica a continuación: Agregar 125 g de yodo a una solución que contenga 670 mL de metanol y 170 mL de piridina y enfriar. Colocar 100 mL de piridina en una probeta graduada de 250 mL y, manteniendo la piridina fría en un baño de hielo, introducir dióxido de azufre seco hasta alcanzar un volumen de 200 mL. Agregar lentamente esta solución, agitando, a la mezcla de yodo enfriada. Agitar para disolver el yodo, transferir la solución al aparato y dejar en reposo la solución durante la noche antes de estandarizar. Un mL de esta solución recién preparada equivale aproximadamente a 5 mg de agua.
- Preparación de Prueba—A menos que se especifique algo diferente en la monografía individual, utilizar una cantidad pesada o medida con exactitud de la muestra que se está analizando con un contenido de agua estimado de 10 a 250 mg.
- Procedimiento—A menos que se especifique algo diferente, transferir de 35 a 40 mL de metanol o de otro disolvente adecuado al vaso de volumetría y valorar con el Reactivo hasta el punto final electrométrico o visual para consumir la humedad que pudiera estar presente. (No tener en cuenta este volumen consumido, ya que no se utiliza en los cálculos). Agregar rápidamente la Preparación de Prueba, mezclar y volver a valorar volumétricamente con el Reactivo hasta el punto final electrométrico o visual. Calcular el contenido de agua de la muestra tomada, en mg, por la fórmula: SF , en donde S es el volumen, en mL, del Reactivo consumido en la segunda volumetría; y F es el factor de equivalencia de agua del Reactivo.

7.3.3.4 Residuo de incineración h<281>I: no más de 0.5%.

- Método <281>I Procedimiento—Incinerar un crisol adecuado (por ejemplo de sílice, platino, cuarzo o porcelana) a 600+508 durante 30 minutos, enfriar el crisol en un desecador (gel de sílice u otro desecante adecuado) y pesarlo con exactitud. Pesarse con exactitud 1 a 2 g de la sustancia o la cantidad que se especifica en la monografía individual, en el crisol.

Humedecer la muestra con una pequeña cantidad (generalmente 1 mL) de ácido sulfúrico y luego calentar suavemente a una temperatura tan baja como sea posible hasta que la sustancia se carbonice totalmente. Enfriar; y luego, a menos que se indique algo diferente en la monografía individual, humedecer el residuo con una pequeña cantidad (generalmente 1 mL) de ácido sulfúrico; calentar suavemente hasta que no se generen humos blancos e incinerar a 600+508, a menos que se especifique otra temperatura en la monografía individual, hasta que el residuo este completamente incinerado. Asegurarse, durante todo el procedimiento, de que no se produzcan llamas en ningún momento. Enfriar el crisol en un desecador (gel de sílice u otro desecante adecuado), pesar con exactitud y calcular el porcentaje del residuo.

7.3.3.5 Sulfito—Disolver 5 g en 50 mL de agua, agregar 0.2 mL de yodo 0.1 N; luego agregar 0.5 mL de almidón SR: se produce un color azul.

7.3.3.6 Metales pesados h<231>I—Mezclar 2.0 g con agua para obtener 25 mL: el límite es 0.001%.

- *Método <231>I*: Solución Amortiguadora de Acetato de pH 3.5—Disolver 25.0 g de acetato de amonio en 25 mL de agua y agregar 38.0 mL de ácido clorhídrico 6N. Ajustar, si fuera necesario, con hidróxido de amonio 6N o ácido clorhídrico 6N hasta un pH de 3.5; diluir con agua hasta 100 mL y mezclar.
- *Preparación Estándar*—Pipetear 2 mL de la Solución Estándar de Plomo (20 mg de Pb), transferir a un tubo de comparación de color de 50 mL y diluir con agua hasta 25 mL. Usando un medidor de pH o un papel indicador de pH de intervalo corto como indicador externo, ajustar con ácido acético 1N o

hidróxido de amonio 6N hasta un pH entre 3.0 y 4.0; diluir con agua hasta 40 mL y mezclar.

- *Preparación de Prueba*—En un tubo de comparación de color de 50 mL, colocar 25 mL de la solución preparada para la prueba según se indica en la monografía individual; o usando el volumen de ácido indicado, cuando se especifica en la monografía individual, disolver y diluir con agua hasta 25 mL la cantidad, en gramos, de la sustancia a analizar, según se calcula, por la fórmula: $2.0/(1000L)$.

En donde L es el límite de Metales pesados, expresado como porcentaje. Usando un medidor de pH o un papel indicador de pH de intervalo corto como indicador externo, ajustar con ácido acético 1N o hidróxido de amonio 6N hasta un pH entre 3.0 y 4.0, diluir con agua hasta 40 mL y mezclar.

- *Preparación Control*—En un tercer tubo de comparación de color de 50 mL, colocar 25 mL de una solución preparada según se indica en la Preparación de Prueba y agregar 2.0 mL de la Solución Estándar de Plomo. Usando un medidor de pH o un papel indicador de pH de intervalo corto como indicador externo, ajustar con ácido acético 1N o hidróxido de amonio 6N hasta un pH entre 3.0 y 4.0; diluir con agua hasta 40 mL y mezclar.

- *Procedimiento*—A cada uno de los tres tubos que contengan la Preparación Estándar, la Preparación de Prueba, y la Preparación Control, agregar 2 mL de la Solución Amortiguadora de Acetato de pH 3.5; luego agregar 1.2 mL de tioacetamida–glicerina básica SR, diluir con agua hasta 50 mL, mezclar, dejar en reposo durante 2 minutos y observar hacia abajo sobre una superficie blanca: el color de la solución de la Preparación de Prueba no es más oscuro que el de la solución de la Preparación Estándar y el color de la solución de la Preparación Control es igual o más oscuro que el color de la solución de la Preparación Estándar.

7.3.3.7 Almidón—Disolver 5 g en 50 mL de agua, mantener la solución en ebullición durante 1 minuto, enfriar y agregar 0.2 mL de yodo 0.1 N: no se produce color azul. (USP 32, 2007)

7.3.4 Características Físicas de la Glucosa Líquida.

Líquido viscoso, límpido, incoloro a pardo, miscible con agua. Puede solidificarse parcial o totalmente a temperatura ambiente y se licua de nuevo por calentamiento a 50 °C. (Farmacopea Española, 2004)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

1.- Evaluar el proceso de extracción de almidón por medio de su rendimiento en glucosa (%).

Número de repeticiones: 10 extracciones y mediciones de glucosa de cada una.

Análisis: Promedio, desviación estándar y coeficiente de variación del porcentaje de glucosa.

2.- Evaluación de las características Físicas.

3.- Evaluación de las características Químicas.

Los resultados de los ensayos se clasifican según los resultados de la USP XXX en: “Cumple” y “No Cumple” (lo que indica que es un ensayo binomial).

Número de repeticiones: 10.

Según la tabla de la distribución binomial para un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y $n = 5$ (mínimo).

Análisis: Para cada ensayo es prueba de hipótesis binomial.

H_0 : $P \leq 0.5$ (no cumple)

H_a : $P > 0.5$ (si cumple)

Donde P = probabilidad de éxito ó cumplimiento.

Si $n = 10$, para rechazar H_0 se espera que como mínimo cumplan 9.

Para poder establecer que la glucosa extraída cumple en los ensayos, todos los análisis deben rendir satisfactoriamente la prueba de hipótesis anterior.

8. Resultados

Las pruebas de características físicas para la Glucosa Líquida en la Farmacopea Española, 3ra. Edición, consistían en los parámetros de; líquido viscoso, límpido, incoloro a pardo, miscible con agua, en las cuales los resultados pueden ser: Si cumple/No cumple. Las 5 muestras evaluadas en el proceso experimental dieron como resultado el cumplimiento significativo de estos parámetros ($p = 0.0313$) ya que si presentaban las características físicas requeridas pudiéndose observar estos resultados en la Tabla No. 1.

Tabla No. 1 Resultados de las pruebas de Características Físicas para Glucosa Líquida (Si Cumple/No Cumple).

Características	Líquido viscoso Límpido Incoloro a pardo Miscible con agua
Muestra 1	Si cumple
Muestra 2	Si cumple
Muestra 3	Si cumple
Muestra 4	Si cumple
Muestra 5	Si cumple

Fuente: Datos experimentales

Los porcentajes de rendimiento de la glucosa se calcularon a partir de 9.0g de almidón de banano de sobreproducción iniciales ya que solo se contaba con la cantidad de enzima para hidrolizar 9.0g de almidón, que eran 6ml de solución de enzima concentrada al 1% (ver Anexos-cálculos). Al finalizar la hidrólisis se realizaron los cálculos dando como resultado diferentes cantidades (en gramos) de glucosa resultante en la solución que tuvieron un promedio de 3.0133g, y posterior se calculó el porcentaje de rendimiento el cual tuvo un promedio de 33.4811% para las 5 muestras lo cual se puede observar detalladamente en la Tabla No. 2.

Tabla No. 2 Resultados del porcentaje de rendimiento de glucosa de las muestras.

Muestra 1	g iniciales de almidón para la hidrólisis	g resultantes de glucosa	% de rendimiento
Muestra 1	9.0 g	2.6723 g	29.6922 %
Muestra 2	9.0 g	3.2838 g	36.4867 %
Muestra 3	9.0 g	2.9749 g	33.0544 %
Muestra 4	9.0 g	2.8267 g	31.4078 %
Muestra 5	9.0 g	3.3088 g	36.7644 %
Promedio		3.0133	33.4811
Desviación Estándar		0.2798	3.4662
Coefficiente de Variación			0.1044 10.44%

Fuente: Datos experimentales.

Las pruebas que presenta la Farmacopea USP XXXII para glucosa líquida incluye las pruebas de Identificación, Agua, Acidez, Residuo de Incineración, Sulfitos, Metales Pesados y Almidón, los resultados de estas pruebas se presentan como: Si cumple/No cumple. Las 5 muestras evaluadas en este proceso experimental dieron diferentes resultados en las pruebas ya que no todas cumplieron con los parámetros especificados por la Farmacopea (ver Tabla No. 3). En las pruebas de identificación, residuo de incineración, sulfitos, metales pesados y almidón las 5 muestras cumplieron con los requerimientos de las pruebas. Para el ensayo de acidez las 5 muestras no cumplieron con la especificación ya que sobrepasaron con los mililitros utilizados de NaOH 0.1N para la neutralización de la solución los cuales eran 0.6ml y todas muestras dieron cantidades mayores (ver tabla No. 9 en Anexos). Para la prueba de agua solo la muestra No. 1 no cumplió con los requerimientos ya que contaba con un porcentaje mayor (30%) al permitido por la especificación (21%) y las demás muestras si cumplieron con el porcentaje (ver Tabla No. 11 en Anexos). En la prueba de Residuo de Incineración las muestras de 1 a la 4 si cumplen con las especificaciones pero la muestra No. 5 no cumple con las especificaciones ya que sobrepasa con la cantidad de residuos esperados que son 0.5% y la muestra presentó un 0.56% (ver tabla No. 13 en Anexos).

Resultados de las Pruebas de Glucosa Líquida según USP XXXII

Tabla No. 3 Resultados de las pruebas para la Glucosa Líquida según USP XXXII de las 5 muestras a evaluar.

PRUEBA	Especificación según USP XXXII	RESULTADOS: Si Cumple/ No Cumple					Prueba binomial (p)
		Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	
Identificación	Se forma un copioso precipitado rojo de óxido cuproso.	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple	0.0313
Acidez	No se requieren más de 0.60 ml de hidróxido de sodio 0.10N para producir un color rosado.	No cumple	No cumple	No cumple	No cumple	No cumple	> 0.9688
Agua	No más de 21.0%, determinado en una muestra de 100 mg.	No cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple	0.1875
Residuo de Incineración	No más de 0.5%.	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple	No cumple	0.1875
Sulfito	Se produce un color azul.	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple	0.0313
Metales Pesados	El color de la solución de la Preparación de Prueba no es más oscuro que el de la sol. de la Preparación estándar y el color de la Preparación Control es igual o más oscuro que el color de la sol. de la Preparación estándar.	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple	0.0313
Almidón	No debe cambiar a color azul.	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple	0.0313

Fuente: Datos experimentales.

La prueba binomial se interpreta con base al valor “p”, en los casos de si cumplimiento se puede decir que fue significativo ($p = 0.0313$), en los demás el valor $p > 0.05$ significa no cumplimiento.

La especificación de la prueba de acidez es: No utilizar más de 0.6ml de NaOH 0.1N para la neutralización de la solución, pero en las muestras trabajadas la cantidad de NaOH 0.1N utilizado para la neutralización sobrepasó el límite permitido obteniendo un promedio de 23.30ml (ver Tabla No. 4)

Tabla No. 4 Mililitros utilizados de NaOH 0.1N para la neutralización en la prueba de Acidez.

Muestras	Cantidad de NaOH 0.1N utilizado en la neutralización
Promedio	23.30 ml
Desviación Estándar	3.61

Fuente: Datos experimentales. Ampliación de la información en tabla No. 9 de Anexos.

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La glucosa líquida puede ser utilizada tanto como vehículo como materia prima en la elaboración de productos farmacéuticos, y ya que estos productos están destinados para la mejora de la salud del ser humano se debe contar con una buena calidad de los materiales a utilizar por lo que se hace necesario que todos tengan una certificación de calidad, las pruebas más aceptadas en Guatemala son las pruebas de la Farmacopea Estadounidense USP, pero ya que estas no incluían las pruebas de características físicas que debe tener la glucosa líquida se utilizó las especificaciones de la Farmacopea Española, Tercera Edición, para hacer más completa la evaluación de la glucosa a evaluar.

Para la extracción de almidón de banano de sobreproducción, se utilizaron 9 bananos, con la finalidad de obtener una pequeña cantidad de almidón ya que no se contó con una cantidad mayor de la enzima alfa amilasa para hidrolizar, y según lo calculado (ver Anexos-cálculos) se utilizaría 9.0g de almidón. Para esta extracción se utilizó una mezcla de buffer de fosfatos 0.2M, Polivinilpirrolidona y Tween 20 para extraerlo y poder eliminar a la enzima polifenol oxidasa y así obtener un almidón blanco, se licuaron los bananos en trozos con la mezcla y al compuesto obtenido se le hizo pasar por los diferentes mesh en el motor universal para disminuir el tamaño de la partícula y dejar sólo el almidón, posteriormente se le realizaron lavados con agua desmineralizada para eliminar contaminantes del almidón obtenido y así dejarlo limpio para poder hidrolizarlo y que la enzima no dañara el almidón resultante al tornarlo de color negro ya que la función de esa enzima es de dar esa coloración a las frutas en combinación con el oxígeno, luego la mezcla se guardó en refrigeración para evitar que se dañara por altas temperaturas.

La hidrólisis enzimática con alfa amilasa fue realizada en Buffer de fosfatos 0.1mol/L y Cloruro de sodio 0.05mol/L, alcanzando una solución al 1%, luego se llevaba a una dilución 1:25, para poder ser utilizada en la hidrólisis, y se realizó una solución de almidón al 1.5% con una mezcla igual a la de la enzima (Buffer de fosfatos 0.1mol/L y Cloruro de sodio 0.05mol/L), posteriormente se llevó a ebullición por 1 minuto y se enfrió a

temperatura ambiente. El almidón se llevó a ebullición para que con el calor las partículas de almidón se hincharan y se puedan hidrolizar con mayor facilidad.

Al obtener la solución de almidón al 1.5% y la solución de alfa amilasa diluida, se procedió con la hidrólisis, esta se realizó mezclando ambas soluciones, la cantidad se calculó según los 0.3g de la enzima alfa-amilasa liofilizada disponible, como se contaron con 30ml de solución de enzima concentrada y se obtuvieron 750ml de solución diluida de alfa-amilasa, por lo que estaban disponibles 150ml de solución para la hidrólisis de las 5 muestras, y se necesitaron 240ml de solución de almidón al 1.5% con 9.0g de almidón experimental (Ver Anexos, cálculos) y se calentó a 40°C por 8 horas en un horno. Con esto se favoreció a la hidrólisis, ya que la temperatura de la enzima para realizar hidrólisis es la mencionada. Luego del tiempo de calentamiento se llevó a temperatura ambiente y se procedió a filtrar para eliminar residuos de proteínas o almidón no hidrolizado para que no interfiriera con las pruebas posteriores que se le realizarían. Esta solución filtrada se calentó a 80°C por 3 minutos para inactivar a la enzima por calor ya que no era termorresistente (lo que significa que no resiste temperaturas mayores a 40°C). Al obtener la glucosa resultante de la hidrólisis enzimática se guardaron las muestras en el congelador.

Las muestras obtenidas de la hidrólisis enzimática por enzima alfa-amilasa a partir del almidón de banano de desecho presentaron buenas características físicas porque eran transparentes, límpidas e inodoras las cuales cumplían con los requisitos de la glucosa líquida (ver Tabla No.1) según la Farmacopea Española Tercera Edición.

El porcentaje de rendimiento de glucosa a partir del almidón de banano verde fue de 33.4811% en promedio (ver Tabla No.2), esto pudo deberse a que se dio una hidrólisis parcial por la enzima alfa-amilasa, porque luego de la síntesis de glucosa a partir del almidón de banano en las muestras se presentaba un precipitado de color blanco que fue filtrado para evitar residuos contaminantes en las soluciones, y este precipitado pudo ser almidón de cadena larga que no fue hidrolizado por la enzima, ya que en la prueba de almidón (ver Tabla No. 3), todas las muestras cumplían con la ausencia de este compuesto en la solución por lo que todo el almidón resultante se quedó en el papel filtro, al igual otros compuestos

como proteínas, cenizas, vitaminas, entre otros están presentes en el almidón. Se debe considerar que en la extracción de almidón de banano estos compuestos no pudieron ser eliminados y pudieron ser compuestos que le dieron mayor peso al almidón y que no sufren hidrólisis a través de la alfa-amilasa y pudieron precipitar por calor y por el buffer en el que estaban contenidos, teniéndose una menor cantidad de almidón para hidrolizar, este precipitado fue eliminado por filtración. El porcentaje de glucosa es bueno (33.4811% en promedio), ya que no es bajo y se puede decir que la hidrólisis fue efectiva, ya que rompió un gran porcentaje de las cadenas alfa 1,4 del almidón, aunque se hubiera obtenido un mayor porcentaje de rendimiento al haber utilizado una dilución mayor de la enzima (mayor a la dilución 1:25).

Ya que los resultados de las pruebas de la Farmacopea son: cumple/no cumple, el ensayo es binomial por lo que se permitía un mínimo de 5 muestras para las pruebas y todas debían cumplir con los requisitos para que la hipótesis fuera aprobada, se realizó el mínimo de muestra porque no se disponía de enzima como para obtener 10 muestras que fue lo recomendado.

Las pruebas de la farmacopea USP XXXII que se le realizaron a las muestras obtuvieron diferentes resultados ya que no todas cumplieron con los requisitos. En la prueba de Identificación se puede observar (ver Tabla No. 3) que todas las muestras cumplen con los requisitos lo que indica que si contienen glucosa en la solución evaluada. Para la prueba de acidez según la especificación (ver Tabla No.3) no se deben utilizar más de 0.6ml de NaOH 0.1N por lo que las muestras no cumplen con lo requerido ya que todas utilizaron mayor cantidad para neutralizar la muestra (ver Tabla No.3 y 4), esto nos indican que las muestras se encuentran más ácidas de lo que se requiere y puede ser debido a que la glucosa no se encontraba en agua sino en la solución de buffer de fosfatos que estos se encontraban a un pH de 6.8 esto pudo afectar en la acidez de la solución final y que no se procedió a neutralizar la solución lo que pudo afectar los resultados de esta prueba, otra causa puede ser que esta prueba no fue realizada inmediatamente después de la hidrólisis enzimática sino que las muestras se congelaron luego de su obtención para evitar su descomposición y fueron evaluadas luego de 4 meses lo cual pudo provocar un proceso de

fermentación de glucosa a alcohol dando una mayor acidez a la solución, y con estos resultados las muestras no cumplen con esta prueba. La acidez no pudo corregirse ya que las pruebas ya se habían realizado con la solución de glucosa líquida obtenida con el buffer y luego de las pruebas ya no quedaba mayor cantidad de la solución para neutralizar y repetirlas con la solución ya neutra.

Los resultados de la prueba de agua en la cual (especificación: no más del 21%) las muestras de la 2 a la 4 si cumplen con la especificación pero la muestra 1 posee 30% de Agua por lo que no cumple con lo requerido (ver Tabla No. 6), que puede deberse a que estaba más diluida que las demás muestras por lo que no puede utilizarse como materia prima en productos farmacéuticos, así también la solución no podría utilizarse ya que no se encontraba disuelta solo en agua sino en Buffer de fosfatos 0.1mol/L y Cloruro de sodio 0.05mol/L y no se encontraba en pH neutro (pH 7) sino que se encontraba a un pH más bajo de 6.8.

En la prueba de residuos de incineración no todas las muestras cumplieron con las especificaciones como la muestra 5 (ver Tabla No.3 y 7), ya que sobrepasó el límite de residuos esperados en las muestras que era de 0.5%, que nos indica que la muestra podía contener contaminantes que pudieran agregar peso a la muestra, entre los residuos que la solución podía contener se pudieron presentar proteínas que no fueron extraídas al momento de filtrar la muestra o almidones de cadena larga que la enzima no pudo cortar para formar azúcares pero en muy baja proporción ya que en la prueba de almidón esta muestra si cumple con las especificaciones (ver Tabla No.3) , las demás muestras si cumplieron con la especificación de residuos por lo que si contenían sólidos disueltos en la cantidad permitida.

Las muestras evaluadas no presentaron ningún contaminante por metales pesados como el Mercurio, Plomo, entre otros, ya que todas las muestras cumplieron con la especificación de la prueba de Metales Pesados (ver Tabla No.3), con lo que se puede tener seguridad de que estas muestras no poseen compuestos altamente dañinos para el ser humano y que todas

las sustancias utilizadas tanto para el proceso de extracción del almidón de banano como para la hidrólisis enzimática se encontraban libres de estos contaminantes.

Si durante la hidrólisis no se hubiera llevado a cabo la ruptura de todas las cadenas de almidón, este hubiera quedado en la solución como un contaminante aunque pudo haberse eliminado durante el proceso de filtrado, pero hubiera sido un factor que no hubiera permitido el cumplimiento con la prueba de Almidón, debido a que se observa cualitativamente si hay presencia de almidón en las muestras de glucosa líquida, y todas las muestras cumplieron con la especificación (ver Tabla No.3), por lo que se puede aseverar que la hidrólisis, fue completa y se obtuvieron únicamente azúcares en las diferentes soluciones.

Por los resultados presentados de las muestras a las diferentes pruebas la glucosa líquida obtenida en el proceso experimental, no se pueden utilizar para la elaboración de productos farmacéuticos ya que no cumplen con todos los requerimientos, y para ser aprobado deben cumplir con todas las pruebas sin excepción ya que si esto no sucede se pone en riesgo la vida de las personas a las cuales van dirigidos los productos farmacéuticos, o que pueden dar lugar a contaminación a los productos elaborados con estas materias primas.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 En el presente estudio se estableció que si es factible sintetizar glucosa a partir del almidón de banano.
- 10.2 El porcentaje de glucosa sintetizado a partir del almidón de banano de sobreproducción obtuvo un promedio de 33.48% al utilizar la enzima alfa-amilasa en dilución 1:25 para realizar la hidrólisis, por lo que sí puede obtenerse un alto porcentaje de rendimiento con respecto a una baja concentración de enzima.
- 10.3 Las características físicas de la glucosa sintetizada a partir del almidón de banano de sobreproducción cumplieron con los requisitos según la Farmacopea Española 3ra. Ed., ya que la solución resultante de todas las muestras fueron incoloras, inodoras, límpidas y transparentes.
- 10.4 La glucosa líquida obtenida en el proceso experimental no cumplió con todas las pruebas de las Farmacopea USP XXXII (Acidez, Agua, Residuos por Incineración) por lo que no puede ser utilizado como materia prima o vehículo en productos farmacéuticos.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Realizar un estudio para evaluar glucosa líquida proveniente de diferentes almidones como de arroz, papa, yuca, etc., y evaluar si la glucosa puede ser utilizada para alimentos o en otros productos, a dicho estudio también se le recomienda evaluar síntesis de glucosa a partir de almidón utilizando otro tipo de enzimas como las de la familia de amiloglucosidasas para y así comparar la calidad de la glucosa obtenida y porcentajes de rendimiento.
- 11.2 Llevar a cabo un proceso de hidrólisis enzimática de almidón de banano utilizando una cantidad mayor a 9 bananos, y así verificar si se obtiene una mayor cantidad de glucosa que pueda ser utilizada para otro tipo de productos diferentes a los medicamentos.

REFERENCIAS

- Afanador, A.M. (2005). El Banano Verde de Rechazo en la Producción de Alcohol Carburante. Revista EIA (Escuela de Ingeniería de Antioquia). ISSN 1794-1237. (Número 3). Medellín, Colombia. (51-58p).
- ANON. (2002). Banana INIBAP international network for the improvement of banana and plantain. Recuperado en: <http://www.inibap.org>.
- Anthea, M., Hopkins, J., McLaughlin C. (1993). Human Biology and Health. New Jersey, USA: Prentice Hall.,
- Aranal. (1999). Tecnología de almidones para alimentos. México. (Folleto).
- Arias, P., Dankers, C., (2004). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Depósito de documentos de la FAO. (s.I.): La Economía Mundial del Banano. Capítulo 2 Países Exportadores de Banano. (107 p). Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/007/y5102s/y5102s05.htm>
- ASOPTUR. Asociación Guatemalteca de Operadores en Turismo Receptivo. (s.I.): Categoría Agroturismo. Recuperado de: http://www.asoptur.org/index.php?option=com_content&view=article&id=181&Itemid=136
- Bello, L.A.; Agama, E.; Sanchez, L.; Paredes, O. (1999). Isolation and partial characterization of banana starches. Journal of Agricultural and Food Chemistry (47: 854-857).
- Beynumvan, G. (1985). Starch Conversion Technology. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. (967p).
- Bonilla, A.m Morúa, G. (2001). Extracción y caracterización parcial del almidón de banano verde utilizando una pectinasa. REVITECA. (vol 8).
- Carrera, J. (2002). Enzimas Industriales, Biorreactores, Variables de Control, Guías de Laboratorio y Biotecnología Agrícola y Vegetal. Módulos de Biotecnología. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad del Cauca. Popayán, Colombia.
- Carrera, J.E. (2003). Producción y Aplicación de Enzimas Industriales. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad del Cauca. Popayán, Colombia. Revista.

(Volumen 1 No. 1) Grupo de Investigación Asubagroin. Recuperado de: http://www.unicauca.edu.co/biotecnologia/index.php?option=com_content&task=view&id=31&Itemid=91

Cortés, A. (2004). Aplicación de Enzimas en la Producción Industrial. Revista Mundo Alimentario. (Edición Septiembre/Octubre). Colombia. Recuperado de: http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/MA002_enzimas4WSF.pdf

Da Mota, R.V.; Lajolo, F.M.; Ciacco, C.; Cordenunsi, B.R. (2000). Composition and functional properties of banana flour from different varieties. (63-68pp).

Devlin, T. (2006). Bioquímica. (4ta Edición). Editorial Reverté, S. A. Barcelona, España.

Eskin, N. A. (1990) Biochemistry of food spoilage: enzymatic browning. In Biochemistry of Foods. (2da Edición). Academic Press: New York. (401-432pp).

FAO (Food and Agriculture Organization of The United Nations). Producido por: Departamento Económico Social. Título: La Economía Mundial del Banano 1985-2002. Recuperado de: <http://www.fao.org>

FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of The United Nations). Unidad de Estadísticas. Producido por: Departamento Económico Social. Título: La Economía Mundial del Banano 1985-2002. Recuperado de: <http://www.fao.org>

Gil, N. (1992). Producción, Purificación y Caracterización de Jarabe de Glucosa a partir de Hidrólisis Enzimática del Almidón de Yuca *Manihot esculenta* Crantz. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. (50p).

Lee, C., Whitaker, J. (1995). Enzymatic browning and its prevention. ACS Symposium Series 600, American Chemical Society. Whashington , D. C.

INCAP (Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá). (1996). Tablas de composición de alimentos de Centroamérica. Organización Panamericana de la Salud.

Mayer, AM. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. Phytochemistry. Nov; 67 (21): 2318-2331.

Martonosi, AN. The Enzymes of Biological Membranes. (2da Edición). Editorial. Plenum, (Volúmenes. 3 y 4).

- Morales, J. y Uribe J. (1985). Utilización del banano de rechazo en la alimentación porcina. Medellín. (74 p).
- Núñez, F. (2003). Extracción y Caracterización del Almidón de Banano Verde y de su Residuo de pulpa. (Tesis de Licenciatura). Universidad Zamorano. Honduras. (29p).
- Prota, G. (1988). Progress in the chemistry of melanins and related metabolites. Med Res Rev. Oct-Dec; 8 (4): 525-556.
- Primo Yufera, E. (1996). Química Orgánica Básica y Aplicada, de la Molécula a la Industria. (Tomo I). Editorial Reverté, S. A. Barcelona, España. (782 p).
- Quintana, J. (1990). Utilización de Almidones de Yuca como Substrato para la Producción de Amilasa a partir de *Bacillus subtilis* ATCC 6:051. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. (45p).
- Real Farmacopea Española (2004). Tercera Edición. Madrid, España. 1752p. 3350pp.
- Saldarriaga, L. C. (1982). Estudio de materia prima y proyecto de planta piloto de alcohol de banano en Urabá. Medellín: Gobernación de Antioquia. (149 p).
- Universidad de Chile. Aplicación de Preparados Enzimáticos en las diferentes Industrias Alimentarias. Biblioteca Digital. Sistema de Servicios de Información y Bibliotecas SISIB. Recuperado de: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/schmidt02/parte07/01.html
- Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas. Escuela de Química y Farmacia. Departamento de Bioquímica. Práctica de Laboratorio. Tema: Separación de Carbohidratos por Cromatografía en Capa Fina. Santiago de Guayaquil, Ecuador.
- USP 32 NF 25. (2007). Farmacopea de los Estados Unidos de América. Formulario Nacional. (Volumen 1). Washington, Estados Unidos de América. (1151 pp).
- Waliszewski, K.N.; Aparicio, M.A.; Bello, L.; Monroy, J.A. (2002). Changes of banana starch due to physical and chemical modifications. Carbohydrate Polymers 20: 1-6. Recuperado de: http://ift.confex.com/ift/2002/techprogram/paper_12816.htm.
- Whistler, R.L.; BeMiller, J.N. (1997). Carbohydrate Chemistry for Food Scientists. Gagan Press. St. Paul, Minnesota. (241 p).

ANEXOS

Tabla No. 5 Peso de los bananos de sobreproducción para realizar las extracciones de almidón.

Peso de los bananos en gramos para las 5 extracciones				
Extracción 1	Extracción 2	Extracción 3	Extracción 4	Extracción 5
38.08	57.65	39.37	44.84	52.83
37.81	50.06	31.67	39.63	49.97
41.86	44.37	41.73	46.68	50.91
46.14	38.07	41.97	44.60	49.92
45.43	38.19	41.48	46.32	53.92
42.62	41.28	46.90	37.17	48.70
47.80	52.96	41.52	47.24	51.08
40.64	53.69	46.21	45.68	50.13
39.60	48.57	31.85	39.47	55.63

Fuente: Datos Experimentales.

Resultados de Cada Prueba de la Farmacopea USP XXXII para Glucosa Líquida en las 5 muestras experimentales.

Tabla No. 6 Resultados de las pruebas de Características Físicas para Glucosa Líquida (Si Cumple/No Cumple).

Característica	Líquido viscoso *	Límpido *	Incoloro a pardo *	Miscible con agua *
Muestra 1	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple
Muestra 2	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple
Muestra 3	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple
Muestra 4	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple
Muestra 5	Si cumple	Si cumple	Si cumple	Si cumple

*p = 0.0313.

Fuente: Datos experimentales

Tabla No. 7 Resultados de la prueba de Identificación.

IDENTIFICACIÓN Especificación: Se forma un copioso precipitado rojo de óxido cuproso.	Si Cumple *	No Cumple
Muestra 1	X	
Muestra 2	X	
Muestra 3	X	
Muestra 4	X	
Muestra 5	X	

* $p = 0.0313$.

Fuente: Datos experimentales.

Tabla No. 8 Resultados de la prueba de Acidez.

ACIDEZ Especificación: No se requieren más de 0.60 ml de hidróxido de sodio 0.10N para producir un color rosado.	Si Cumple	No Cumple *
Muestra 1		X
Muestra 2		X
Muestra 3		X
Muestra 4		X
Muestra 5		X

* $p > 0.9688$.

Fuente: Datos experimentales.

Tabla No. 9 Mililitros utilizados de NaOH 0.1N para la neutralización en la prueba de Acidez.

MUESTRA	Cantidad de NaOH 0.1N utilizado en la neutralización
Muestra 1	18.9 ml
Muestra 2	26.8 ml
Muestra 3	21.1 ml
Muestra 4	28.3 ml
Muestra 5	21.4 ml
Promedio	23.30
Desviación Estándar	3.61

Fuente: Datos experimentales.

Tabla No. 10 Resultados de la prueba de Agua para las muestras.

AGUA Especificación: No más de 21.0%, determinado en una muestra de 100 mg.	Si Cumple *	No Cumple
Muestra 1	X	
Muestra 2	X	
Muestra 3	X	
Muestra 4	X	
Muestra 5	X	

* p = 0.0313.

Fuente: Datos experimentales.

Tabla No. 11 Cantidad en mililitros de reactivo consumido para la prueba de agua y el porcentaje de agua en las muestras.

Muestra	ml utilizados de reactivo	% de agua
Muestra 1	6ml	30%
Muestra 2	4ml	20%
Muestra 3	4ml	20%
Muestra 4	4ml	20%
Muestra 5	3ml	15%
Promedio	4.2	21
Desviación Estándar	0.98	4.9

Fuente: Datos experimentales

Tabla No. 12 Resultados de la prueba de Residuo de Incineración a las muestras

Residuo de Incineración Especificación: No más de 0.5%.	Si Cumple	No Cumple *
Muestra 1	X	
Muestra 2	X	
Muestra 3	X	
Muestra 4	X	
Muestra 5		X

* p = 0.1875.

Fuente: Datos experimentales.

Tabla No. 13 Porcentaje de Residuo de Incineración para las muestras.

MUESTRA	% de residuo
Muestra 1	0.45%
Muestra 2	0.49%
Muestra 3	0.47%
Muestra 4	0.42%
Muestra 5	0.56%
Promedio	0.478
Desviación Estándar	0.047

Fuente: Datos experimentales

Tabla No. 14 Resultado de la prueba de Sulfito.

SULFITO	Si Cumple *	No Cumple
Especificación: Se produce un color azul.		
Muestra 1	X	
Muestra 2	X	
Muestra 3	X	
Muestra 4	X	
Muestra 5	X	

* $p = 0.0313$.

Fuente: Datos experimentales.

Tabla No. 15 Resultados de la prueba de Metales Pesados

METALES PESADOS	Si Cumple *	No Cumple
Especificación: El color de la solución de la Preparación de Prueba no es más oscuro que el de la sol. de la Preparación estándar y el color de la Preparación Control es igual o más oscuro que el color de la sol. de la Preparación estándar..		
Muestra 1	X	
Muestra 2	X	
Muestra 3	X	
Muestra 4	X	
Muestra 5	X	

* $p = 0.0313$.

Fuente: Datos experimentales.

Tabla No. 16 Resultados de la prueba de Almidón

ALMIDÓN Especificación: No debe cambiar a color azul.	Si Cumple *	No Cumple
Muestra 1	X	
Muestra 2	X	
Muestra 3	X	
Muestra 4	X	
Muestra 5	X	

* p = 0.0313.

Fuente: Datos experimentales.

CÁLCULOS

Extracción de Almidón de Banano de Sobreproducción

Solución para la extracción de almidón de banano de sobreproducción

Buffer de Fosfatos 0.2M:

A: NaH_2PO_4 = Disolver 27.6g en Agua destilada hasta 1 L.

B: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ = 35.6 g en Agua destilada hasta 1 L.

195 ml de solución A + 305 ml de solución B y agregar 500 ml de Agua destilada para 1L.

$$\text{PVP: utilizar un 6\%} = \frac{6\text{g}}{100\text{ml}} * \frac{1000\text{ml}}{1\text{L}} = \mathbf{60\text{g}}$$

$$\text{Tween 20: utilizar un 3\%} = \frac{3\text{ml}}{100\text{ml}} * \frac{1000\text{ml}}{1\text{L}} = \mathbf{30\text{ml}}$$

Hidrólisis Enzimática con la enzima Alfa-Amilasa

Solución de amilasa al 1%. Macerar 0.1g de enzima alfa-amilasa en 10 ml de buffer de Fosfato de Sodio y Cloruro de Sodio.

- Para hacer 1000ml de la solución

Buffer de Fosfatos 0.1 mol/L:

Fosfato monobásico: NaH_2PO_4 : Peso: 120g/mol

$$\frac{120\text{ g}}{\text{mol}} * \frac{0.1\text{ mol}}{1\text{L}} * \frac{1\text{L}}{1000\text{ml}} * 1000\text{ ml} = \mathbf{12\text{g}}$$

Fosfato dibásico: Na_2HPO_4 : Peso: 178g/mol

$$\frac{178\text{ g}}{\text{mol}} * \frac{0.1\text{ mol}}{1\text{L}} * \frac{1\text{L}}{1000\text{ml}} * 1000\text{ ml} = \mathbf{17.8\text{g}}$$

NaCl 0.05 mol/L: Peso: 58.45g/mol

$$\frac{58.45\text{ g}}{\text{mol}} * \frac{0.05\text{ mol}}{1\text{L}} * \frac{1\text{L}}{1000\text{ml}} * 1000\text{ ml} = \mathbf{2.9\text{g}}$$

Se realizaron las diluciones 1:25, por lo que es 1 ml de la solución concentrada de enzima en 25 ml de la solución de Buffer de fosfatos + Cloruro de Sodio. Y para realizar las 5 hidrólisis de Almidón se utilizaron 0.3g de enzima dando como resultado 30 ml de solución concentrada y 750 ml de solución diluida.

0.1 g → 10 ml de Buffer de Fosfatos 0.1M + NaCl 0.05M = Solución Concentrada

1 ml de sol. concentrada → 25 ml de Buffer de Fosfatos 0.1M + NaCl 0.05M = Solución diluida.

30 ml de Sol concentrada dieron como resultado 750 ml de solución diluida por los 0.3g de enzima utilizados.

Luego de hacer la solución de almidón al 1%

Solución de almidón al 1.5%.

Utilizar la misma solución de Buffer de Fosfatos y Cloruro de Sodio para la enzima.

Se realizaron pruebas en las que se podía utilizar y se pudo determinar que se podía utilizar 1.5g de almidón en 40ml de Buffer de Fosfatos 0.1M + NaCl 0.05M. por lo que para 240ml de Buffer se necesitaban 9.0g de almidón.

g de almidón a utilizar: $\frac{1.5 \text{ g de almidón} * 240\text{ml de sol.}}{40 \text{ ml de sol.}} = \mathbf{9.0 \text{ g}}$.

Ya que para 40 ml de solución de almidón al 1.5% se necesitan 25ml de solución de enzima diluida.

$\frac{25\text{ml de sol de enzima} * 240 \text{ ml de sol de almidón}}{40 \text{ ml de sol. de almidón}} = \mathbf{150 \text{ ml}}$ de sol. de enzima

Solución final: 390 ml

Gramos de glucosa resultante a partir de la hidrólisis enzimática de almidón.

Se calcula la concentración por peso específico a 25°C en un volumen de 25ml.

Peso del picnómetro vacío: 27.7806g

Peso del picnómetro con Agua: 37.9419g

Fórmula: $\frac{\text{Peso del picnómetro con Agua} - \text{Peso del picnómetro vacío}}{\text{Peso del picnómetro con muestra} - \text{Peso del picnómetro vacío}} = \frac{\text{Peso 1}}{\text{Peso 2}}$

Peso 2 – Peso 1 = g resultantes en la muestra.

Muestra 1:

Peso del picnómetro con muestra: 38.1132g

$\frac{37.9419\text{g} - 27.7806\text{g}}{38.1132\text{g} - 27.7806\text{g}} = \frac{10.1613}{10.3326} = 10.3326 - 10.1613 = 0.1713\text{g}$ en 25 ml

Para los 390ml = $\frac{0.1713\text{g} * 390\text{ml}}{25\text{ml}} = \mathbf{2.6723\text{g}}$ en la solución total

Muestra 2:

Peso del picnómetro con muestra: 38.1524g

$$\frac{37.9419\text{g} - 27.7806\text{g}}{38.1524\text{g} - 27.7806\text{g}} = \frac{10.1613}{10.3718} = 10.3718 - 10.1613 = 0.2105\text{g en 25ml de solución.}$$

$$\text{Para los 390ml} = \frac{0.2105\text{g} * 390\text{ml}}{25\text{ml}} = \mathbf{3.2838\text{g en la solución total}}$$

Muestra 3:

Peso del picnómetro con muestra: 38.1325g

$$\frac{37.9419\text{g} - 27.7806\text{g}}{38.1325\text{g} - 27.7806\text{g}} = \frac{10.1613}{10.3520} = 10.3520 - 10.1613 = 0.1907\text{g en 25ml de solución.}$$

$$\text{Para los 390ml} = \frac{0.1907\text{g} * 390\text{ml}}{25\text{ml}} = \mathbf{2.9749\text{g en la solución total}}$$

Muestra 4:

Peso del picnómetro con muestra: 38.1231g

$$\frac{37.9419\text{g} - 27.7806\text{g}}{38.1231\text{g} - 27.7806\text{g}} = \frac{10.1613}{10.3425} = 10.3425 - 10.1613 = 0.1812\text{g en 25ml de la solución.}$$

$$\text{Para los 390ml} = \frac{0.1812\text{g} * 390\text{ml}}{25\text{ml}} = \mathbf{2.8267\text{g en la solución total}}$$

Muestra 5:

Peso del picnómetro con muestra: 38.1540g

$$\frac{37.9419\text{g} - 27.7806\text{g}}{38.1540\text{g} - 27.7806\text{g}} = \frac{10.1613}{10.3734} = 10.3734 - 10.1613 = 0.2121\text{g en 25ml de la solución.}$$

$$\text{Para los 390ml} = \frac{0.2121\text{g} * 390\text{ml}}{25\text{ml}} = \mathbf{3.3088\text{g en la solución total}}$$

Porcentaje de Rendimiento de Glucosa resultante de la Hidrólisis a partir del Almidón de Banano de Sobreproducción

9.0g de almidón → 100%

g resultantes → X %

$$\text{Fórmula: } \frac{\text{g resultantes} * 100\%}{9.0\text{g de almidón}} = X\%$$

Muestra 1:

$$X_1: \frac{2.6723\text{g} * 100\%}{9.0\text{g}} = \mathbf{29.6922\%}$$

Muestra 2:

$$X_2: \frac{3.2838\text{g} * 100\%}{9.0\text{g}} = \mathbf{36.4867\%}$$

Muestra 3:

$$X_3: \frac{2.9749\text{g} * 100\%}{9.0\text{g}} = \mathbf{33.0544\%}$$

Muestra 4:

$$X_4: \frac{2.8267\text{g} * 100\%}{9.0\text{g}} = \mathbf{31.4078\%}$$

Muestra 5:

$$X_5: \frac{3.3088\text{g} * 100\%}{9.0\text{g}} = \mathbf{36.7644\%}$$

Pruebas USP XXXII:

Agua:

Fórmula: SF, donde S es la cantidad en mililitros utilizada del Reactivo consumido en la segunda volumetría; y F es el factor de equivalencia de agua del Reactivo. El factor de equivalencia es de 5 mg.

Muestra 1: 6ml utilizados de Reactivo

$$\text{SF: } (6) * (5) = \mathbf{30}$$

Muestra 2: 4ml utilizados de Reactivo

$$\text{SF: } (4) * (5) = \mathbf{20}$$

Muestra 3: 4ml utilizados de Reactivo

$$\text{SF: } (4) * (5) = \mathbf{20}$$

Muestra4: 4ml utilizados de Reactivo

$$\text{SF: } (4) * (5) = \mathbf{20}$$

Muestra5: 3ml utilizados de Reactivo

$$\text{SF: } (3) * (5) = \mathbf{15}$$

Residuo de Incineración:

Fórmula:
$$\frac{\text{Peso del crisol con las cenizas} - \text{Peso del crisol vacío}}{\text{Peso de la muestra}} * 100 = \text{Residuos}$$

Muestra 1

Peso del crisol: 41.5146g

Peso de la muestra: 1g

Peso resultante (crisol + muestra): 41.5146g + 1g = 42.5126g

Peso final del crisol + muestra incinerada: 41.5191g

$$\text{Residuos resultantes: } \frac{41.5191\text{g} - 41.5146\text{g}}{1\text{g}} * 100 = \mathbf{0.45\%}$$

Muestra 2:

Peso del crisol: 40.6330g

Peso de la muestra: 1g

Peso resultante (crisol + muestra): 40.6330g + 1g = 41.6330g

Peso final del crisol + muestra incinerada: 40.6379g

$$\text{Residuos resultantes: } \frac{40.6379\text{g} - 40.6330\text{g}}{1\text{g}} * 100 = \mathbf{0.49\%}$$

Muestra 3:

Peso del crisol: 35.3164g

Peso de la muestra: 1g

Peso resultante (crisol + muestra): 35.3164g + 1g = 36.3164g

Peso final del crisol + muestra incinerada: 35.3211g

$$\text{Residuos resultantes: } \frac{35.3211\text{g} - 35.3164\text{g}}{1\text{g}} * 100 = \mathbf{0.47\%}$$

Muestra 4:

Peso del crisol: 33.9022g

Peso de la muestra: 1g

Peso resultante (crisol + muestra): $33.9022\text{g} + 1\text{g} = 34.9022\text{g}$

Peso final del crisol + muestra incinerada: 33.9064g

Residuos resultantes: $\frac{33.9064\text{g} - 33.9022\text{g}}{1\text{g}} * 100 = \mathbf{0.42\%}$

Muestra 5:

Peso del crisol: 43.4217g

Peso de la muestra: 1g

Peso resultante (crisol + muestra): $43.4217\text{g} + 1\text{g} = 44.4217\text{g}$

Peso final del crisol + muestra incinerada: 43.4273g

Residuos resultantes: $\frac{43.4273\text{g} - 43.4217\text{g}}{1\text{g}} * 100 = \mathbf{0.56\%}$

Metales Pesados

Cantidad de muestra para analizar por la fórmula: $2.0/(1000L)$

Donde L es el límite específico para cada muestra: 0.001% para glucosa líquida

$2.0/(1000L) = 2.0/(1000 * 0.001\%) = \mathbf{2g}$ de muestra para analizar.