

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio de Ciencias e Ingeniería

**Utilización de almidón de banano (*Musa cavendish*) para la
elaboración de jarabe de glucosa**

Juan Andrés Donoso Reece

Stalin Santacruz, Ph.D., Director de Tesis

Tesis de grado presentada como requisito
para la obtención del título de Ingeniero Químico

Quito, diciembre de 2014

Universidad San Francisco de Quito
Colegio de Ciencias e Ingeniería

HOJA DE APROBACION DE TESIS

**Utilización de almidón de banano (*Musa cavendish*) para la
elaboración de jarabe de glucosa**

Juan Andrés Donoso

Stalin Santacruz, Ph.D.,

Director de Tesis

.....

Daniela Almeida, Ph.D.,

Miembro del Comité de Tesis

.....

Valeria Almeida, M.S.,

Miembro del Comité de Tesis

.....

Ximena Córdoba, Ph.D.,

Decana de la Escuela de Ingenierías
Del Colegio de Ciencias e Ingeniería

.....

Quito, diciembre de 2014

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a lo dispuesto en la Política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma:

Nombre:

C. I.:

Fecha:

Dedicatoria:

A mi familia, quienes siempre me han brindado su apoyo y amor incondicional a través de todos estos años. Las palabras no son suficientes para expresar mi agradecimiento por todo lo que he recibido.

Este es un tributo en honor a todo el amor y confianza que depositaron en mí.

Agradecimientos:

Quisiera agradecer a mi director de tesis, Stalin Santacruz, por todo el apoyo y por permitirme colaborar con sus investigaciones y conocer esta rama de la ingeniería.

También quiero agradecer a Carolina Andino, Manuel Chuquimarca y Jorge Gualotuña, quienes me ayudaron a desarrollar la parte experimental de este trabajo. Su ayuda, consejos y soporte me permitieron concluir este trabajo.

También quisiera agradecer a todos mis profesores, quienes más que tutores, han sido mis amigos, compañeros y ahora, colegas. Atesoro todo el conocimiento y experiencias que me han transmitido en estos años.

Resumen

El banano (*Musa cavendish*) es el cultivo agropecuario más importante del Ecuador. Sin embargo cerca del 20% de la producción es desechada o subutilizada. En el presente trabajo se analiza la posibilidad de utilizar un sustrato aislado de banano de rechazo para la producción de jarabe de glucosa, hidrolizando por medio de enzimas el almidón presente en la fruta verde. Para esto se utilizó un proceso de reducción de tamaño y tamizado, obteniéndose un aislado con 28.62% de almidón. Se seleccionó a través de un diseño completamente al azar el mejor tratamiento de hidrólisis utilizando como parámetros dos tipos de enzimas (α -amilasa y α -amilasa termoestable) y dos temperaturas (90 y 120°C). El mejor tratamiento correspondió al uso de α -amilasa proveniente de *Bacillus amyloliquefaciens* a 120 °C por dos horas. Se obtuvo un rendimiento de glucosa del 32.83 %. El precio de la glucosa obtenida (3.98 USD por kilogramo) hace que el proceso no sea económicamente rentable ya que el costo es mayor al jarabe comercialmente disponible.

Abstract

Banana (*Musa cavendish*) is the most important crop in Ecuador. However, nearly 20% of the production is discarded or underused. This work analyzes the possibility of using an insulated substrate from cull bananas for the production of glucose syrup by enzymatic hydrolysis of the starch present in the green fruit. To do this, the fruit was blended and sieved, obtaining a substrate with 28.62% of starch. The best hydrolysis treatment was selected using a completely randomized experiment design, using as parameters 2 temperatures (90 and 120°C) and 2 types of enzymes (α -amylase and thermostable α -amylase). The best treatment corresponded to the use of α -amylase from *Bacillus amyloliquefaciens* at 120 °C for two hours. The total yield of the reaction based on glucose was 32.83%. The price of the obtained glucose was \$ 3.98 per kilogram and therefore the process is not economically viable since its price is higher than the commercially available product.

Tabla de Contenidos

1. Introducción	12
1.1 Antecedentes.....	12
1.2 Propiedades químicas del almidón	16
1.3 Usos industriales del jarabe de glucosa.....	18
1.4 Desarrollo del proceso.....	19
1.5 Objetivo principal del proyecto.....	21
1.6 Objetivos específicos del proyecto	22
2. Materiales y Métodos	22
2.1. Obtención de sustrato	22
2.2 Enzimas utilizadas.....	23
2.3 Método de hidrólisis enzimática y diseño experimental.....	24
2.4 Método de cuantificación de almidón	28
2.5 Determinación de azúcares reductores	28
2.6 Clarificación y concentración del jarabe.....	29
2.7 Diagrama del proceso de obtención del jarabe.....	30
3. Resultados y Discusiones	32
3.1 Rendimiento del proceso de obtención de sustrato.....	32
3.2 Selección de mejores condiciones de hidrólisis	34
3.3 Rendimiento de proceso de clarificación e hidrólisis para el jarabe	38
3.4 Rendimiento total de proceso.	41
4. Conclusiones.....	42
5. Recomendaciones	44
6. Referencias Bibliográficas.....	45

Lista de figuras

Figura 1: Distribución de la producción de bananas en el mundo (2012-2013) (FAO, 2014a)	13
Figura 2: Distribución de la producción de banano (2012-2013) (FAO, 2014a).....	13
Figura 3: Producción de banano de los 5 mayores exportadores (TM) (2012-2013) (FAO, 2014a)	14
Figura 4: Molécula de amilosa.....	17
Figura 5: Molécula de amilopectina	18
Figura 6: Molécula de Glucosa	19
Figura 7: Mecanismo de reacción de hidrólisis de la maltosa (Dos unidades de glucosa)	20
Figura 8: Rendimiento comparativo de cada tratamiento	36
Figura 9: Cambio de color por clarificación con solución de Carrez	39
Figura 10: Muestra de jarabe obtenido	40

Lista de tablas

Tabla 1: Composición de la variedad de banano Musa cavendish por 100 g de porción comestible. (FAO, 2014c).....	16
Tabla 2: Tratamientos DCA. Factores temperatura y tipo de enzima, $\alpha 1$ =alfa amilasa y $\alpha 2$ =alfa amilasa termoestable.....	26
Tabla 3: Presentación de datos en ANOVA de dos vías con repetición.....	27
Tabla 4: Resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) del rendimiento de los tratamientos de hidrólisis	35
Tabla 5: Rendimiento de los tratamientos de hidrólisis enzimática	37

Lista de diagramas

Diagrama 1: Flujo de proceso de fabricación de jarabe.....	31
--	----

1. Introducción

1.1 Antecedentes

Banano es un término general para referirse a las plantas e híbridos del género *Musa* de la familia de las musáceas, originalmente nativas del sureste asiático (Persley & George, 1996). El banano es producido en zonas con climas tropicales y subtropicales. La producción mundial de *Musa* en el año 2013 fue de 101'992,743 toneladas métricas (TM) (FAO, 2014a).

Debido a las condiciones climáticas específicas requeridas para el desarrollo de este cultivo su producción es casi exclusiva de los países en desarrollo, siendo éstos los mayores exportadores de esta fruta para Norteamérica y Europa. Esto se debe principalmente por la distribución geográfica de estos países, ya que la mayoría se ubica en zonas ecuatoriales cálidas. Este cultivo es de gran importancia para los agricultores de estos países ya que es una fuente importante de ingresos y alimento. La producción está altamente concentrada en pocos países, como lo demuestra la Figura 1.

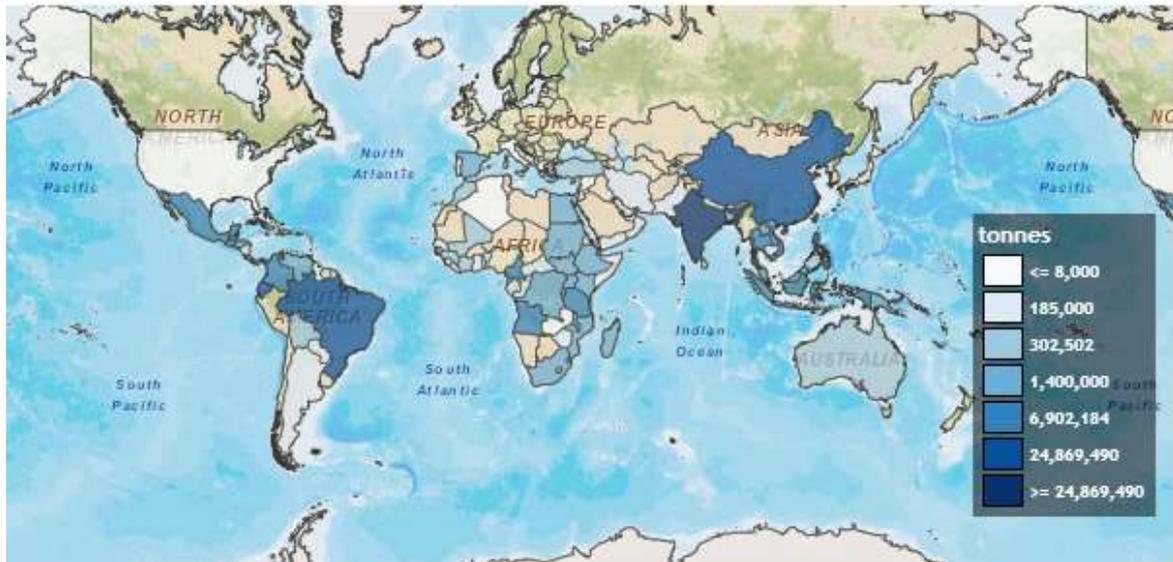


Figura 1: Distribución de la producción de bananas en el mundo (2012-2013) (FAO, 2014a)

Diez países productores de banano representan alrededor del 75% de la producción mundial, siendo India, Ecuador, Filipinas y China los principales productores (FAO, 2014a). La distribución de las exportaciones por continente se muestra en la Figura 2

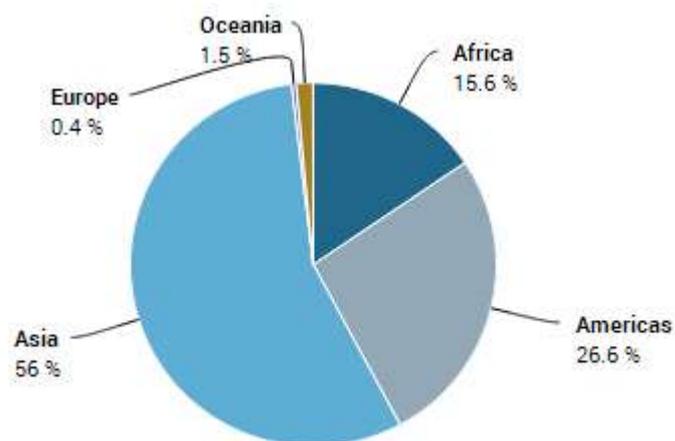


Figura 2: Distribución de la producción de banano (2012-2013) (FAO, 2014a)

Ecuador es uno de los productores de banano más grandes del mundo (FAO, 2014b), y el mayor en Latinoamérica con 4 millones y medio de toneladas de esta fruta exportadas en el

2013 (Fresh Plaza Produce, 2014). Si bien Ecuador es un país pequeño se encuentra entre los 5 productores más grandes de banano a nivel mundial, como se observa en la Figura 3.

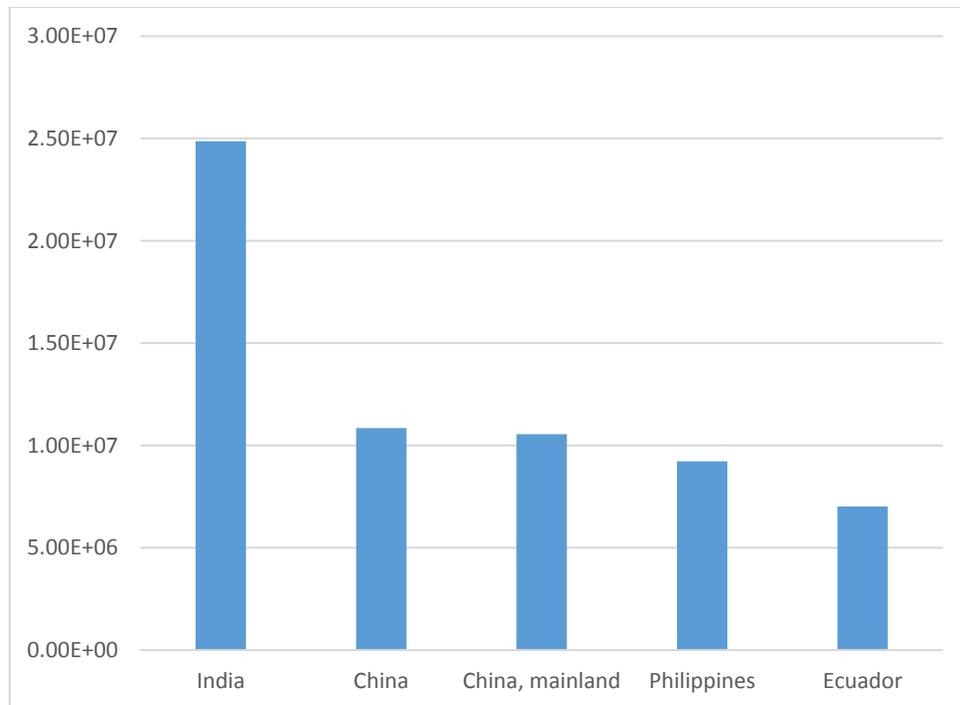


Figura 3: Producción de banano de los 5 mayores exportadores (TM) (2012-2013) (FAO, 2014a)

De enero a abril de 2014 ha existido un incremento en la producción de 2'055,000 TM. a 2'078,000 TM. Lo que representa un aumento en ingresos de 10,1 millones de dólares (USD), si bien el precio de la fruta se mantuvo (Bucheli, 2014). Sin embargo, no toda la fruta que es recogida cumple con los requisitos de forma, tamaño y apariencia necesarios para la exportación, por lo que este rechazo debe permanecer en el país para venta al mercado local.

Cerca de un quinto de todas las bananas recolectadas son consideradas rechazo. Cuando los racimos llegan a las estaciones de transporte las frutas que no cumplen con el requisito de tamaño son removidas, junto con aquellas que tienen daños o áreas negras, las cuales pueden causar contaminación microbiana al racimo (Zhang, Whistler, BeMiller, &

Hamaker, 2005). Los bananos rechazados usualmente son desechados de manera inadecuada (Diario La Hora, 2011). Se han hecho intentos para aprovechar este producto como alimento animal o usado en la producción de chips y harina, pero su uso es limitado debido al bajo valor agregado de estos productos. El mal manejo de este producto ocasiona problemas ambientales ya que muchas veces se desecha estos residuos en ríos y lagos, y al tener un contenido alto de carbohidratos requiere una alta demanda bioquímica de oxígeno (DBO) para ser digerido, lo cual afecta a las poblaciones de peces y otros animales acuáticos (Zhang, et al., 2005).

Dado el volumen de la producción muchas veces la cantidad de rechazo representa una pérdida importante para las compañías exportadoras de banano. La utilización de este rechazo como materia prima de valor agregado es un tema que puede interesar mucho al sector bananero, ya que sería una fuente continua de ingresos alrededor del año. Es así que el gobierno ecuatoriano está impulsando proyectos de generación de valor, como por ejemplo la utilización de harina de banano en el pan para reducir la importación de harina de trigo (Diario El Ciudadano, 2014).

Es importante recalcar que la industria bananera en el Ecuador sufre continuamente altibajos por diversos problemas políticos, económicos, climáticos y de logística ya que dependen enteramente del mercado internacional (Diario El Telégrafo, 2011). Un uso industrial de los bananos de rechazo aliviaría el problema del desecho, además de ofrecer empleo y ganancias económicas considerables.

El almidón de banano tiene el potencial de volverse un producto importante debido a sus propiedades específicas y su potencial de producción a partir de rechazo de banano de

bajo costo. El banano verde cuenta con un alto porcentaje de carbohidratos, como muestra la Tabla 1, por lo cual puede convertirse en una alternativa viable para la producción de almidón refinado o cualquier producto obtenido a partir de la hidrólisis del mismo. El contenido de almidón es variable según el grado de madurez de la fruta, por lo que en la tabla se presenta como carbohidratos totales y disponibles (FAO, 2014c).

Tabla 1: Composición de la variedad de banano Musa cavendish por 100 g de porción comestible. (FAO, 2014c)

Agua (g)	77.1
Proteínas (g)	0.9
Grasas (g)	0.1
Cenizas (g)	0.8
Fibra dietética (g)	0.5
Carbohidratos totales (g)	21.1
Carbohidratos disponibles (g)	20.6

1.2 Propiedades químicas del almidón

Químicamente el almidón es un polisacárido formado por unidades de glucosa unidas mediante enlaces glucosídicos. Este tipo de enlaces es común en los anómeros (azúcares cíclicos) en donde una molécula de glucosa se une junto con otra por medio del carbono anomérico. El almidón consiste de dos tipos de polisacáridos: amilosa y amilopectina (BeMiller & Whistler, 2009).

El almidón es la forma más común de almacenamiento de energía para las plantas y uno de los carbohidratos más comunes en la naturaleza. Es usado por las plantas, microbios y organismos superiores, por lo que existe una gran variedad de enzimas que pueden

catalizar la reacción de hidrólisis. El almidón se encuentra en todas las plantas en forma de gránulos, los cuales tienen diferentes tamaños y características físicas según la especie. Las diferencias químicas son menos marcadas y la mayor diferencia es la proporción de amilosa y amilopectina (Chaplin & Bucke, 2014).

La amilosa es una cadena lineal con forma de hélice y enlaces lineales $\alpha(1 \rightarrow 4)$ (Figura 4). Debido a su estructura lineal se empaqueta fácilmente por lo que es más resistente a la digestión enzimática y química. Si bien es una fuente de energía menos digerible que la amilopectina, esta ocupa un espacio menor (BeMiller & Whistler, 2009).

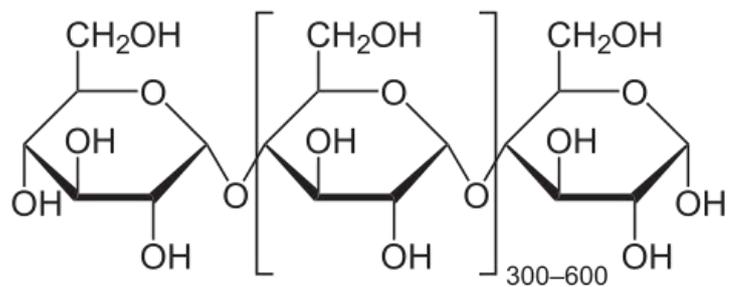


Figura 4: Molécula de amilosa

La amilopectina es un polisacárido de glucosa altamente ramificado. Esto ocurre debido a la presencia de los enlaces $\alpha(1 \rightarrow 6)$, los cuales ocurren cada 25-30 unidades de glucosa (Figura 5). Estas moléculas son fácilmente degradables ya que tienen muchos puntos a los cuales las enzimas pueden acoplarse (BeMiller & Whistler, 2009).

¹ Molécula de amilosa. Wikimedia Commons. Recuperado el 10 de octubre de 2014 de: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Amylose2.svg>

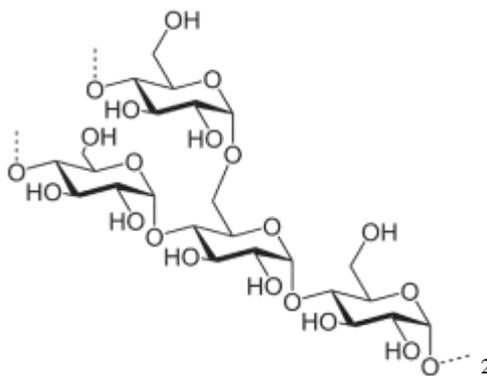


Figura 5: Molécula de amilopectina

1.3 Usos industriales del jarabe de glucosa

El jarabe de glucosa es una solución acuosa refinada y concentrada compuesta principalmente por glucosa, maltosa y oligómeros de glucosa obtenidos mediante la hidrólisis controlada de almidón (European Starch Industry Association, 2012). Este producto es usado como materia prima dentro de las industrias farmacéuticas, alimenticias, cosméticas y otras. Su importancia radica principalmente en la industria confitera y de alimentos procesados, donde es utilizada para brindar textura, brillo y disminuir el punto de congelamiento. Esto es especialmente importante en la fabricación de helados y alimentos similares. Recientemente ha ganado importancia en mercados internacionales ya que es la materia prima para la producción de polioles y maltodextrinas, azúcares cuyo uso se ha expandido considerablemente como endulzantes, especialmente en países donde no se produce caña de azúcar (sobre todo los E.E.U.U.) (Donnell, 2012).

En Ecuador no se produce glucosa y, por lo tanto, se importan más de 5 millones de dólares en jarabe de glucosa cada año, lo que representa alrededor de 10 mil toneladas de dicho producto (Banco Central del Ecuador, 2014). El jarabe de glucosa (Figura 6) a nivel

² Molécula de amilopectina. Wikimedia Commons. Recuperado el 10 de octubre de 2014 de: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Amylopektin_Sessel.svg

industrial se sintetiza a través de una hidrólisis selectiva de almidón refinado, principalmente de maíz, y clarificado posteriormente usando varias técnicas de purificación y evaporación (CassavaBiz, 2005).

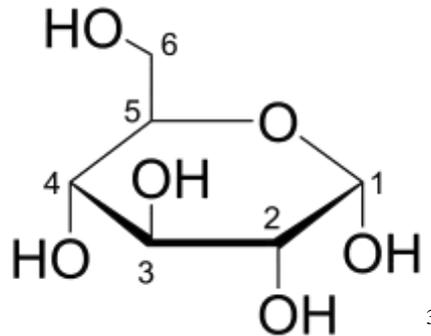


Figura 6: Molécula de Glucosa

1.4 Desarrollo del proceso

La reacción de hidrólisis involucra el rompimiento de los enlaces glucosídicos $\alpha(1 \rightarrow 4)$ y $\alpha(1 \rightarrow 6)$ utilizando una molécula de agua como donador de protones y de grupos hidroxilo, según el mecanismo mostrado en la Figura 7. Existen dos mecanismos principales para esta reacción: la hidrólisis ácida y la hidrólisis enzimática.

³ Molécula de D-glucosa. Wikimedia Commons. Recuperado el 10 de octubre de 2014 de: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Glucose_Haworth.png

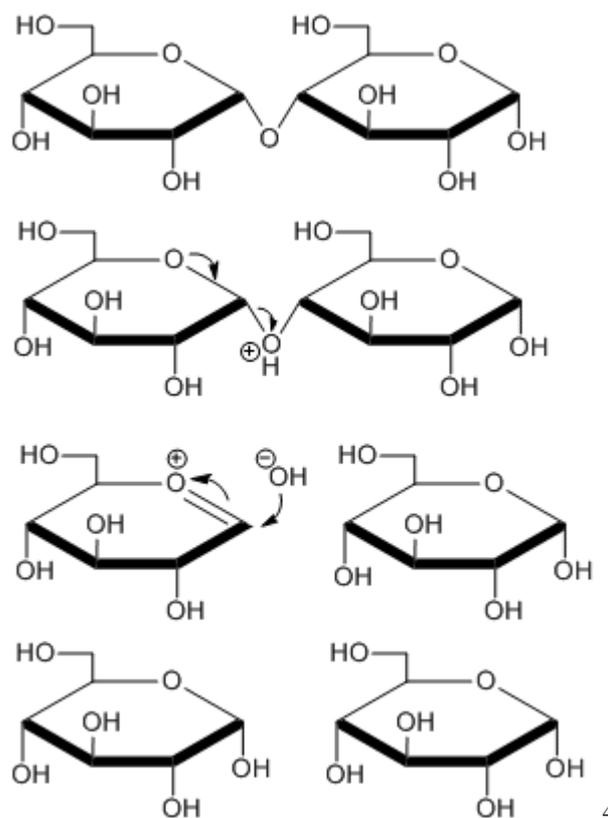
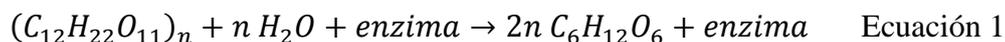


Figura 7: Mecanismo de reacción de hidrólisis de la maltosa (Dos unidades de glucosa)

La hidrólisis ácida de almidón fue el método predominante para la elaboración de jarabe de glucosa en el pasado. El método ácido tiene algunas desventajas, como la obtención de un producto heterogéneo (ya que la hidrólisis ácida no es selectiva), la necesidad de usar materiales resistentes a la corrosión, requiere una mayor cantidad de energía para procesos de calentamiento, el control del proceso es más complicado y puede provocar coloración indeseada en el producto, así como la formación de sales después de la neutralización con sosa (Chaplin & Bucke, 2014). Los productos obtenidos con este método varían en configuración y tamaño. Estos limitantes al proceso aumentan el costo de producción además de la necesidad de trabajar con reactivos peligrosos.

⁴ Hidrólisis enzimática. MCAT Review (2008). Recuperado el 10 de octubre de 2014 de: <http://mcat-review.org/glycoside-hydrolysis.gif>

La hidrólisis enzimática al ser una reacción catalítica tiene un mecanismo más complejo, debido a que se requiere un mayor número de pasos intermedios debido a la acción de la enzima. En términos generales cumple la ecuación 1.



El método de hidrólisis enzimático es preferido a nivel industrial debido a que tiene condiciones de operación que requieren bajas temperaturas (menores que el punto de ebullición del agua) y presión, ya que se requiere una menor energía de activación para iniciar la reacción. Las principales enzimas utilizadas para la hidrólisis de almidón son las α -Amilasas (Número EC 3.2.1.1), β -Amilasas (Número EC 3.2.1.2), y Glucoamilasas (Número EC 3.2.1.3) (Chaplin & Bucke, 2014).

El presente trabajo tiene relación con el trabajo realizado por (Santacruz & Donoso, 2014) sobre la utilización de banano para la producción de glucosa. En dicho proyecto se trabajó con el banano en su totalidad, mientras que en el presente se pretende obtener un sustrato concentrado rico en almidón. Esto ayudaría a reducir el tiempo y la dificultad de los procesos de clarificación y concentrado, lo que permite obtener una glucosa más pura y de mejor calidad.

1.5 Objetivo principal del proyecto

- Determinar la factibilidad y el rendimiento del proceso de fabricación de jarabe de glucosa a partir de almidón de banano (*Musa Cavendish*).

1.6 Objetivos específicos del proyecto

- Aislar el almidón de banano. Determinar el rendimiento de proceso de extracción de sustrato.
- Comparar los productos obtenidos por hidrólisis con alfa amilasa termo estable y alfa amilasa a diferentes temperaturas y seleccionar el tratamiento con mayor rendimiento.
- Obtener jarabe de glucosa refinado y concentrado.
- Determinar el rendimiento del proceso en base a un kilogramo de materia prima y el precio aproximado del producto final. Comparar costos con la glucosa comercialmente disponible.

2. Materiales y Métodos

2.1. Obtención de sustrato

El banano utilizado en la elaboración del jarabe fue adquirido en el mercado de Tumbaco, Quito. Las frutas fueron compradas apenas un día después de llegadas a la ciudad, lo que garantiza su frescura. Se eligieron los bananos con menor grado de maduración para aumentar el rendimiento de almidón en el sustrato, para esto se eligieron aquellos que tenían hasta 1.2 grados Brix. Se descartaron las frutas maduras y aquellas que presentaban defectos (color negro, podredumbre o mal olor). El método de extracción utilizado es una variación del método recomendado para la extracción de almidón en tubérculos (International Starch Institute, 1998).

Se cortaron las puntas de cada fruta, así como secciones defectuosas. Las frutas fueron licuadas con cáscara en una licuadora industrial con agua en proporción 1:1 hasta que se haya formado una pasta líquida espesa de color verde. Esta pasta fue suspendida en un recipiente con agua para facilitar la sedimentación del almidón y la separación física de la cáscara. Se separaron las partículas gruesas con un tamiz malla 4. El producto obtenido fue tamizado poco a poco en un tamiz malla 80, añadiendo agua, según fue necesario, al proceso con el fin de mantener suspendidas las partículas de almidón y evitar que se quedaran en el tamiz. La materia obtenida fue lavada con un tamiz de malla 80. Este tamaño de malla fue seleccionado considerando el tamaño promedio de los gránulos de almidón que, según Ling, Osman, Fernandes, & Reilly (1982), es de $15\mu m$. En este proceso se utilizó un exceso de agua para permitir el movimiento de partículas sobre el tamiz y mejorar el rendimiento de la extracción. El producto resultante del proceso fue un sólido color crema, similar al de la harina de banano. El material obtenido (sustrato) se secó al sol para eliminar toda la humedad y así prevenir la descomposición de la materia.

2.2 Enzimas utilizadas

Se utilizaron dos tipos de α -amilasa para el primer proceso de hidrólisis y amiloglucosidasa para la segunda hidrólisis. La primera parte de la reacción consiste en la utilización de enzimas α -amilasa, las cuales son hidrolasas que pueden hidrolizar los enlaces glucosídicos $1,4 - \alpha - D$ y pueden sobrepasar, pero no hidrolizar, los enlaces $1,6 - \alpha - D$ (Chaplin & Bucke, 2014). Se utilizaron dos tipos de amilasas la primera corresponde a α -amilasa proveniente de *Bacillus amyloliquefaciens* (Sigma-Aldrich) y la segunda es α -amilasa termoestable (Sigma-Aldrich), la cual es una enzima similar pero con mejores propiedades de resistencia térmica.

La segunda etapa del proceso reactivo consiste en añadir amiloglucosidasa proveniente de *Aspergillus niger*, (Sigma-Aldrich), una exohidrolasa que ataca la última unión glucósida del extremo no reductor de los polisacáridos. Esta enzima puede hidrolizar los enlaces $1,4 - \alpha - D$ además de los enlaces $1,6 - \alpha - D$ presentes en la amilopectina (Sigma-Aldrich, 2014).

2.3 Método de hidrólisis enzimática y diseño experimental

El tiempo de hidrólisis requerido para la reacción inicial con α -amilasa fue determinado experimentalmente en Quitigüiña & Santacruz (2010), en donde se encontró que el tiempo óptimo para la reacción de la amilasa en almidón de banano es de 2h a 90°C mientras que, para la amiloglucosidasa fue de 16h a 60°C, por lo cual el tiempo de reacción no fue una variable en el presente diseño experimental. Para el presente trabajo se utilizaron las dos temperaturas de mayor rendimiento obtenidas en dicho trabajo (90 y 120 °C) para la determinación de las mejores condiciones de reacción.

El calentamiento de las muestras se realizó basado en los trabajos de Santacruz & Donoso (2014), Quitigüiña & Santacruz (2010) y Rodríguez & Santacruz (2011). Se empleó un autoclave para calentar las muestras a 120°C por dos horas. Los experimentos a 90°C se realizaron en un baño maría.

La mezcla reaccionante es una solución al 5% en peso de sustrato seco y agua. El pH de esta solución fue ajustado a 5.5 con una solución de ácido sulfúrico en los casos que fue necesario. La solución fue precalentada a 75 °C, temperatura a la cual ocurre el proceso de gelatinización de los gránulos del género *cavendish* (Ling et al., 1982). Este es un paso

importante en el proceso ya que cuando se calienta el almidón en exceso de agua ocurre una transición de fase en la cual el gránulo aumenta radialmente su tamaño, pierde su orden cristalino y las dobles hélices de amilosa se disocian y desenrollan, facilitando el camino para el ataque enzimático (Donovan, 1979) (Evans & Haismann, 1982).

La cantidad de enzima agregada fue escalada del proceso descrito en Santacruz & Donoso (2014), añadiéndose 1 mg de alfa amilasa para la primera reacción y 3 mg de amiloglucosidasa para la hidrólisis final.

Para determinar la influencia de la temperatura y el tipo de enzima en la hidrólisis enzimática se dispuso un diseño completamente al azar (DCA), con un arreglo factorial 2x2, el cual corresponde a la combinación de los factores tipo de α -amilasa y temperatura de hidrólisis. Cada tratamiento tuvo 3 repeticiones. Este diseño permite analizar todas las posibles combinaciones de los factores analizados (temperatura y tipo de enzima) con el fin de encontrar, con significado estadístico, el que tenga mayor varianza en el resultado final.

El factor A fue la temperatura (90 y 120 °C) y el factor B el tipo de enzima (alfa amilasa, alfa amilasa termoestable). La variable de respuesta analizada fue el rendimiento, expresado como porcentaje de azúcares reductores.

La Tabla 2 muestra los tratamientos realizados. La enzima $\alpha 1$ corresponde a alfa amilasa y $\alpha 2$ corresponde a la alfa amilasa termoestable. Ambos tratamientos utilizan la misma amiloglucosidasa

Tabla 2: Tratamientos DCA. Factores temperatura y tipo de enzima, $\alpha 1 = \alpha$ -amilasa y $\alpha 2 = \alpha$ -amilasa termoestable

Tratamiento	Temperatura (°C)	Enzima
T1E1	90	$\alpha 1$
T1E2	90	$\alpha 2$
T2E1	120	$\alpha 1$
T2E2	120	$\alpha 2$

Los datos fueron interpretados por medio del análisis de varianza (ANOVA) de dos factores con repetición y las medias fueron testeadas por la prueba de medias de Tukey al 5% de significancia.

El análisis de ANOVA se realiza con el fin de identificar cómo la variación de uno de los factores afecta el rendimiento obtenido. Asimismo permite determinar si la interacción de los factores es significativa. El ANOVA realizado prueba o descarta 3 hipótesis nulas: las medias de los resultados agrupados por el primer factor son iguales, las medias de los resultados agrupados por el segundo factor son iguales, y no hay interacción entre los dos factores (Montgomery & Runger, 2003). La prueba de interacción indica si los efectos de un factor dependen del otro.

Los resultados del análisis de varianza se muestran en la Tabla 3. El factor A es la temperatura de la hidrólisis, mientras que el factor B es el tipo de enzima utilizada. a es el número de factores de la fuente A (2) y b es el número de factores de la fuente B (2). n es el número de repeticiones que se realizaron por experimento (3). Los resultados de las sumas de cuadrados se obtienen del análisis estadístico obtenido en Excel (Anexo 2).

Tabla 3: Presentación de datos en ANOVA de dos vías con repetición

Fuente de Variación	Suma de cuadrados (SC)	Grados de libertad (GL)	Cuadrados Medios (CM)	Valor F - Estadístico
Factor A	De los datos	a-1	SC(A)/GL	CM(A)/CM(Interacción)
Factor B	De los datos	b-1	SC(B)/GL	CM(B)/CM(Interacción)
Interacción AxB	De los datos	(a-1)(b-1)	SC(AxB)/GL	CM(A*B)/CM(Interacción)
Error	De los datos	ab(n-1)	SC(Err)/GL(Err)	-
Total	Sumatoria Total	abn-1	-	-

El valor F de referencia (F tabulado) se obtiene de la tabla de distribución del valor F para ANOVA de 2 vías. Se considera una diferencia significativa si el valor de F estadístico es mayor al valor de F tabulado. En el caso del presente análisis el valor de F , con una significancia del 95%, que corresponde al valor obtenido para $F_{(0.5,1,8)} = 5.32$ (Dinov, 2014).

La prueba de Tukey utiliza un estimador que permite observar si existe una diferencia estadística significativa entre las medias de dos grupos. Para esta prueba se utiliza el estadístico q , definido como:

$$q = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\left(\frac{MSS_{error}}{n}\right)}}$$

Donde \bar{X}_1 es el rendimiento promedio del primer tratamiento a comprobar y \bar{X}_2 es la media del segundo tratamiento a comprobar. MSS_{error} es la suma de cuadrados medios del error experimental obtenido en ANOVA y n es el número de replicaciones por tratamiento.

La prueba de Tukey analiza la hipótesis nula que las dos medias son iguales ($\mu_1 = \mu_2$). Se considera que existe una diferencia estadística si el valor q obtenido es mayor al valor q de referencia ($q_{calc} > q_{crit}$) (Montgomery & Runger, 2003). Este valor de referencia se obtiene de tablas del valor q para la prueba de Tukey, donde el valor crítico está dado por $q(\alpha, k, df_{error})$. α es el valor de confianza que se quiere usar en la prueba, k es el número de tratamientos y df_{error} son los grados de libertad del valor del error obtenidos en ANOVA.

2.4 Método de cuantificación de almidón

El método utilizado para la determinación de almidón fue el AOAC 920.83 el cual consiste en una digestión en medio ácido y un análisis espectrofotométrico para la determinación cuantitativa de almidón en la muestra. Este método se basa en una hidrólisis combinada entre α -amilasa termoestable (EC 3.2.1.1), pulanasa (EC 3.2.1.41), amiloglucosidasa (EC 3.2.1.3), y glucosa oxidasa peroxidasa-4-aminoantipirina (GOPOD) (McClearty, Gibson, Solah, & Mugford, 1994). El laboratorio de la universidad no cuenta con las enzimas pulanasa y GOPOD requeridas para este procedimiento, por lo cual este análisis fue solicitado a Multianalytica Cia. Ltda.

2.5 Determinación de azúcares reductores

Para determinar el porcentaje de azúcares reductores se utilizó el método del reactivo de Fehling descrito por Lane & Eynon (1923). El método consiste en la titulación constante

de una mezcla de los reactivos de Fehling A y B utilizando la solución problema previamente centrifugada por 5 minutos a 4000 rpm (radio de centrífuga = 12 cm). Los azúcares reductores reaccionan reduciendo el cobre de la solución de Fehling precipitándolo como óxido de cobre (I), utilizando como indicador el azul de metileno (Lancashire, 2000).

2.6 Clarificación y concentración del jarabe

Para la realización del jarabe se parte de la solución hidrolizada, la cual fue obtenida utilizando el proceso de hidrolisis más favorable (T2E1). La primera etapa de purificación consiste en una centrifugación a 4000 rpm (radio centrífuga= 12 cm) por 10 min en la cual se remueven todos los sólidos no disueltos.

Para clarificar la solución centrifugada se utilizaron los reactivos de Carrez I (15g de $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ en 100ml agua) y II (30g de $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 7H_2O$ en 100ml agua). Estos reactivos son utilizados comúnmente para la desproteización de soluciones (Megazyme, 2014). Se agregó 1mL de cada solución por cada 100mL de muestra hidrolizada. Estos reactivos tienen la propiedad de precipitar proteínas y grasas, además de remover el material particulado sobrante. Este método de clarificación requiere el uso de 1 mL de cada una de las soluciones por cada 100mL de solución hidrolizada. Luego de mezclar los reactivos la solución debe reposar por 10 minutos para que ocurra la sedimentación de las proteínas. El líquido es filtrado en un papel Whatman #1 y la torta es desechada (Nollet, 2013).

La solución clarificada pasa entonces al proceso de concentración por evaporación al vacío. Este proceso se llevó a cabo en un rotavapor (BUCHI) con bomba de vacío, la cual

creaba una diferencia de presión de 500 mmHg. La temperatura a la cual se realizó la evaporación fue 50 °C. La solución fue evaporada hasta que se obtuvo una lectura de 75 °Brix en un refractómetro Abbe.

2.7 Diagrama del proceso de obtención del jarabe

El Diagrama 1 resume los procesos arriba mencionados. Aquí se muestran las operaciones unitarias realizadas en cada paso y los productos obtenidos de cada una de éstas.

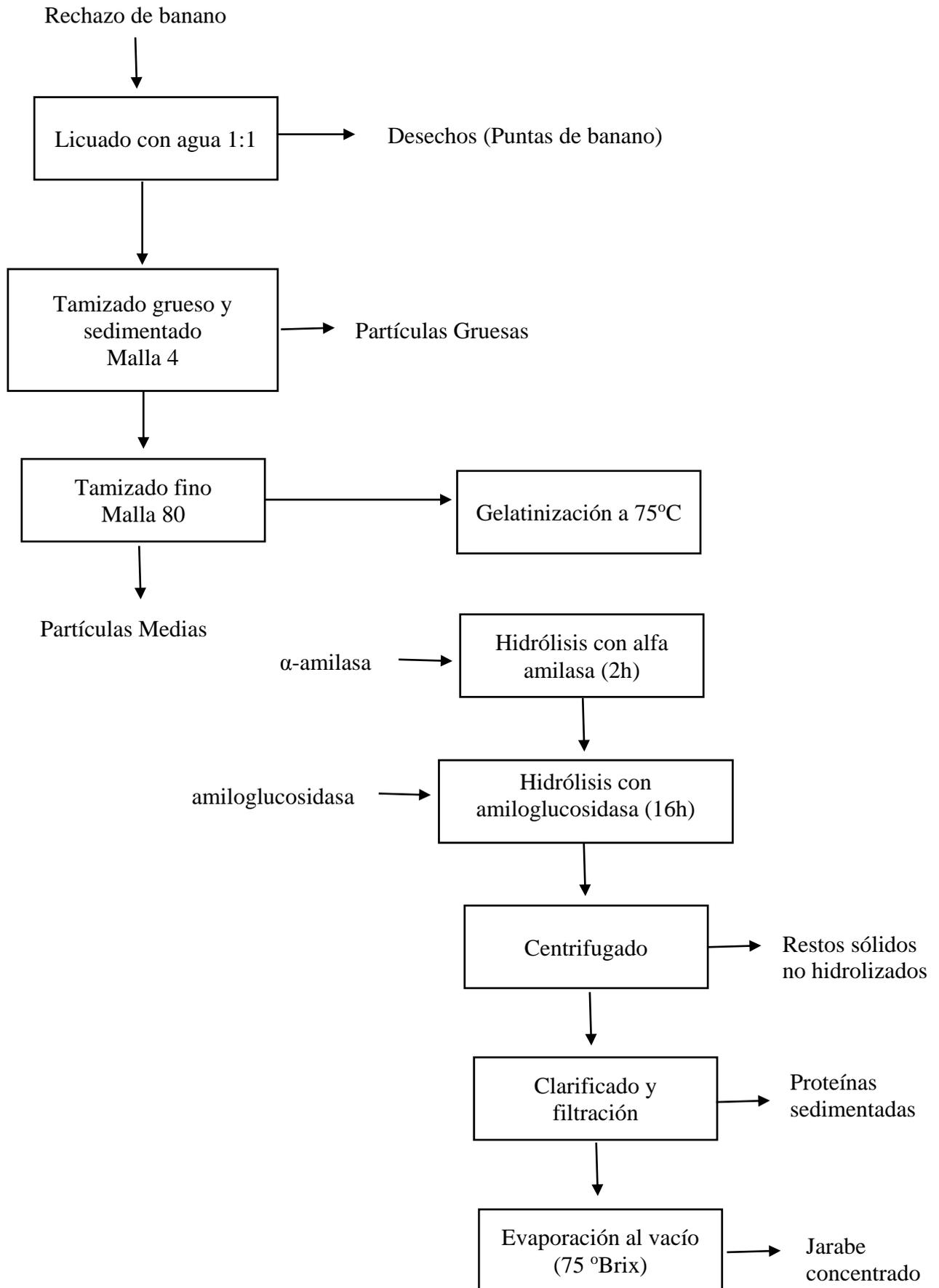


Diagrama 1: Flujo de proceso de fabricación de jarabe

3. Resultados y Discusiones

3.1 Rendimiento del proceso de obtención de sustrato

Para determinar el rendimiento del proceso se tomó como referencia una muestra de 1003.47 g de banano verde, con cáscara y sin puntas. Este fue procesado con la suficiente cantidad de agua para poder sedimentar y suspender las partículas sólidas al momento del tamizado. El material obtenido fue secado al sol de manera que no se afecte químicamente las propiedades del sustrato. Es importante observar que si el sustrato va a ser usado inmediatamente este paso no es necesario, ya que la mezcla puede entrar al proceso de hidrólisis con el agua que se utiliza para tamizar. Se obtuvo en total 40.22 g de sustrato en base seca, lo cual significa un rendimiento del 4.01%.

Los resultados del contenido de almidón se encuentran en el Anexo 1. Este análisis determinó que existe un porcentaje de almidón de 28.62% en las muestras entregadas. Si bien este resultado es menor a la cantidad de carbohidratos contenida dentro de la fruta, diversas fuentes bibliográficas han demostrado que el rendimiento de este proceso puede diferir considerablemente según la fase de maduración y especie de la fruta (Zhang et al., 2005).

Evidentemente la cantidad de almidón presente en el sustrato no es representativa si se compara con la cantidad de carbohidratos presentes en el banano, la cual se muestra en la Tabla 1. El principal problema con el proceso de extracción utilizado es que si bien la fruta fue licuada al menor tamaño de partícula posible es difícil separar por completo los gránulos de almidón de la materia orgánica donde están retenidos originalmente. Además

de esto, la gran cantidad de desechos no hidrolizables (principalmente celulosa) dificultan el proceso de filtrado y pueden retener un porcentaje alto de almidón en los tamices. Para una mejora de la eficacia del proceso se podría considerar tamizar una cantidad más pequeña de sustrato a la vez, permitiendo un mejor contacto entre el material y la malla del tamiz. Adicionalmente se debe utilizar una cantidad grande de agua en comparación al sustrato utilizado, la cual permita una suspensión de los gránulos de almidón y mejore la eficiencia del proceso. La cantidad adicional de agua utilizada puede ser ingresada a la etapa de reacción, de manera que el costo de producción no se incremente.

Alternativas a este proceso pueden ser el uso de tamices rotatorios continuos al vacío. La ventaja que dan estos filtros es la posibilidad de realizar la filtración de manera continua, y lavar continuamente el material a filtrar. Además de esto la diferencia de presión permitiría un mejor paso de los gránulos de almidón a través del tamiz. Este tipo de equipo filtrante es recomendado en Geankoplis (1998) para una separación eficiente de partículas pequeñas en volúmenes grandes de material. Este equipo requiere un costo de inversión alto, pero tiene un costo de operación unitario bajo. En la industria se utiliza también separación con el uso de hidrociclones para remover el almidón de líquidos enriquecidos y mezclas con sólidos (Dickey, et.al., 1997).

Otros procesos de hidrolisis de almidón de banano han usado un enfoque distinto a este problema. En el proceso descrito en Verhoff, Blatteis, & Barrett (1998), se procede a moler el banano entero y llevar toda la mezcla a reaccionar. Esto permite que todo el almidón que se encuentre en la pulpa pase al proceso de hidrólisis. Sin embargo, crea el problema de que se debe manejar una cantidad de material mucho mayor en todo el proceso. Además de que es necesaria la separación de los materiales no hidrolizados de la

mezcla reactiva antes de la refinación final. Adicionalmente se debe tener en cuenta la presencia de otros materiales en el banano, los cuales pueden contaminar el producto final obtenido, y su purificación puede ser difícil o costosa.

El proceso descrito en Whistler (1998), propone el uso de bisulfito de sodio, temperatura ambiente o ligeramente más alta y un pH ácido para promover la activación de las enzimas pectinasas y poligalacturonasas presentes naturalmente en la fruta y degradar las paredes celulares y otras fibras no hidrolizables. El reactivo es agregado a la fruta en el proceso de molienda húmeda y se permite reaccionar por 4-8 h. La mezcla obtenida es centrifugada y después filtrada. Si bien este proceso no es complejo el rendimiento no es necesariamente mayor, ya que en otros estudios se han obtenido rendimientos entre 11.8% (Bello-Perez, Agama-Acevedo, Sanchez-Hernandez, & Paredes-Lopez, 1999) y 33.8% (Waliszewski, Aparicio, Bello, & Monroy, 2003) utilizando esta técnica.

3.2 Selección de mejores condiciones de hidrólisis

Para la determinación del proceso óptimo de hidrólisis se partió del diseño aleatorio mostrado en la Tabla 2. El resumen del análisis de varianza (ANOVA) de dos vías con repetición se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4: Resumen del Análisis de Varianza (ANOVA) del rendimiento de los tratamientos de hidrólisis

Fuentes de Variación	SC	GL	CM	F calculada	F tabulada
Temperatura (A)	134.71	1	134.71	144.59**	5.32
Tipo de enzima (B)	5.32	1	5.32	5.71**	5.32
Interacción AxB	0.16	1	0.16	0.17	5.32
Error Experimental	7.45	8	0.93		
Total	147.65	11			

** Significativo al 5% de probabilidad para la prueba F.

Se observa que el factor de variación más importante para la reacción es la temperatura. El tipo de enzima es una fuente de variación, sin embargo no es tan significativa como la diferencia de temperatura. La interacción de ambos factores no es significativa. Esto sugiere que ambas enzimas pueden resistir la temperatura de 120°C sin desnaturalizarse.

La Figura 8 muestra la distribución y media de los resultados obtenidos. Se observa como el aumento de temperatura modifica significativamente el rendimiento obtenido. Sin embargo, el tipo de enzima no tiene el mismo efecto en el rendimiento.

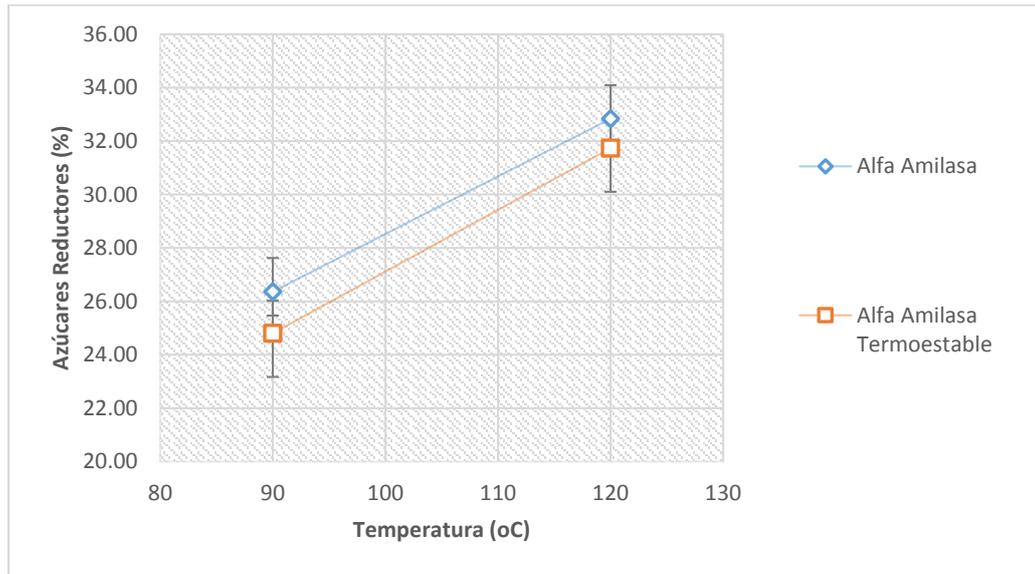


Figura 8: Rendimiento comparativo de cada tratamiento

Utilizando como referencia el valor $(q_{(0.5,4,11)} = 4.256$ (Duke University, 2008) se determinó la diferencia estadística entre las medias de cada tratamiento. Ya que la temperatura fue la fuente de variación más significativa se comparó las medias de los tratamientos a la misma temperatura con el fin de determinar si hay una diferencia entre usar una enzima u otra. En la Tabla 5 se resumen los rendimientos promedio de azúcares reductores obtenidos para cada tratamiento del DCA. Los valores de azúcares reductores que están acompañados de letras iguales (a o b) no difieren entre sí por el análisis realizado.

Tabla 5: Rendimiento de los tratamientos de hidrólisis enzimática

Tratamiento	% Azúcares Reductores^a	Significativo
T1E1 (Alfa Amilasa - 90°C)	26.36 ^a	NO
T1E2 (Alfa Amilasa Termoestable - 90°C)	24.80 ^a	NO
T2E1 (Alfa Amilasa - 120°C)	32.83 ^b	SI
T2E2 (Alfa Amilasa Termoestable - 120°C)	31.73 ^b	SI

* Los resultados seguidos por las mismas letras no difieren entre sí al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

Se elige el tratamiento T2E1 como el mejor método para el proceso, por tener un rendimiento ligeramente más alto.

Si bien el rendimiento no es tan alto, se ha descubierto que la digestibilidad enzimática del almidón de banano es relativamente baja, en comparación a otros almidones encontrados en diferentes plantas (Zhang et al., 2005). Este fenómeno se debe a una interacción de factores, entre ellos el tamaño de gránulo, la proporción amilosa/amilopectina, el grado de cristalinidad, la longitud de la cadena de amilosa y la presencia de complejos amilosa-lípidos, y la retrogradación del almidón. El almidón de banano nativo tiene una resistencia alta a la hidrólisis por enzimas, como se ha descubierto en estudios de la acción de las enzimas digestivas sobre el banano (Cummings & Englyst, 1991).

Otra posible razón para el rendimiento obtenido puede ser la retrogradación del almidón, fenómeno por el cual el almidón se vuelve insoluble y precipita espontáneamente, formándose cristales inaccesibles para el ataque enzimático. Este proceso es favorecido por una baja de temperatura, que en este proceso se da al momento de pasar de la primera hidrólisis (90 o 120°C) a la segunda etapa (60°C). Además, este cambio de temperatura no ocurre abruptamente sino sobre un periodo de tiempo, lo cual favorece la nucleación de los cristales retrogradados en la mezcla. (Ottenhof & Farhat, 2004). En el proceso realizado la muestra permanecía a temperatura ambiente al menos 20 o 30 minutos hasta que se introducía al baño María a 60°C de manera que el enfriamiento se diera más rápido que solamente introduciéndolo al baño. No se sumergió a los frascos en agua fría ya que es posible que el shock térmico debilite el frasco de reacción.

3.3 Rendimiento de proceso de clarificación e hidrólisis para el jarabe

Para la realización del jarabe se utilizaron 500 mL en total de la solución sustrato-agua. El proceso de hidrólisis fue el descrito anteriormente, utilizando las condiciones del tratamiento T2E1. La solución fue centrifugada y se le agregaron los reactivos de Carrez I y II. La solución paso de un color ámbar a un débil color amarillo, como se muestra en la Figura 9.



Figura 9: Cambio de color por clarificación con solución de Carrez

Para el análisis del proceso se determinaron los azúcares reductores obtenidos en la solución hidrolizada y en la solución concentrada. En la solución hidrolizada se obtuvo un total de 26.01% de azúcares reductores. En el proceso de evaporación se utilizó vacío para reducir el punto de ebullición de la mezcla. Si bien la temperatura utilizada fue de alrededor de 50 °C se observó un cambio de color en el producto concentrado según iba avanzando la evaporación del agua. Esto podría deberse a que los compuestos que daban el color a la solución original se concentraron en la muestra evaporada, volviéndose más notorio según se iba reduciendo el contenido de agua. Se obtuvieron 8.56 g de jarabe concentrado. El producto final obtenido se muestra en la Figura 10.



Figura 10: Muestra de jarabe obtenido

No se comparó la absorbancia del producto final obtenido con la glucosa comercial ya que el color del producto obtenido es evidentemente diferente a la glucosa comercial, que es cristalina. El producto es dulce, sin embargo no tiene el dulzor que tiene el azúcar blanco (poder edulcorante 1.00), lo cual es característico de la glucosa (poder edulcorante 0.70) (Carbajal, 2002).

Otra posible explicación al cambio de color de la solución está dada por la reacción de caramelización de los azúcares. Durante el calentamiento, los disacáridos u oligómeros pasan por un proceso de hidrólisis donde se crean monosacáridos, los cuales reaccionan y se vuelven enoles. Estos enoles se deshidratan, produciendo derivados furánicos, los cuales al polimerizarse dan lugar a pigmentos macromoleculares oscuros (Díaz & Clotet, 1995).

Si bien las reacciones de caramelización están favorecidas por temperaturas altas, éstas también pueden darse a temperaturas menores al punto de ebullición del agua, como se demuestra en el estudio realizado por Díaz y Clotet (1995). Aunque la temperatura

utilizada en la evaporación no es tan alta, ésta fue mantenida por un periodo considerable hasta lograr la concentración adecuada, por lo que no se descarta la posibilidad que haya ocurrido esta reacción a velocidades bajas.

Asimismo es posible que otra de las razones por las cuales el jarabe se tornó oscuro es por la reacción de Maillard. Ésta es una reacción endotérmica entre un azúcar y un grupo amino. La glucosa, al ser un azúcar reductor y un monómero, requiere una cantidad menor de energía de activación para producir una reacción de Maillard, ya que es una molécula reactiva. Al estar presentes en el jarabe compuestos con grupos amino (proteínas no precipitadas en el proceso de clarificación) y añadirse calor a la solución se crea un ambiente favorable para la reacción de Maillard. La característica principal de ésta reacción es la formación de melanoidinas, moléculas que presentan un color pardo (Markowicz, Monaro, Siguemoto, & Séfora, 2012).

3.4 Rendimiento total de proceso.

El banano de rechazo fue comprado a un precio de 5.2 centavos por kilogramo de materia fresca (un saco de 28.8 kg por 1.50\$). Este precio podría ser inclusive menor, ya que el banano fue comprado a un minorista. El precio al productor podría estar en las fracciones de centavo por kilogramo.

Para la fabricación de 8.56 g de jarabe se utilizaron 26.3 g de sustrato seco para el cual, considerando el rendimiento obtenido para el proceso de extracción, se necesitaría un total de 0.657 kg de banano fresco (0.0342 USD). Para un kilogramo de jarabe se requerirían

3072.43 g de sustrato, utilizando 76.65 kg de fruta lo que representaría un total de 3.98 USD.

En el país la glucosa comercial se vende por a precio de 1.80 USD por kilogramo (Casa del Químico, Quito). Si bien es cierto que el valor de la materia prima para el proceso es bastante más alto al valor comercial de la glucosa es importante observar que el material fue comprado a un intermediario, y que de mejorarse el proceso de extracción o hidrólisis el precio final del jarabe podría reducirse considerablemente si se compraría la materia prima directamente a las empresas bananeras.

Se podría realizar un análisis económico para determinar si es más rentable el transporte y posterior venta del rechazo en la ciudad que la producción de jarabe in situ en las plantaciones de banano. Además también se puede considerar que el material sólido separado en el proceso de obtención de sustrato puede ser un subproducto con valor agregado, ya que es rico en fibra y se puede utilizar para alimentación de ganado.

4. Conclusiones

El jarabe de glucosa obtenido demuestra que el proceso es viable. Se obtuvo un rendimiento de 4.01% en el proceso de extracción de sustrato, el cual tuvo un contenido total de almidón de 28.62%. El bajo rendimiento en esta parte del proceso se puede explicar por la baja afinidad de las partículas de almidón a separarse de las paredes celulares y fibras no hidrolizables. El proceso de separación también juega un papel fundamental en la recuperación de sustrato, la selección de tamices para la separación debe

realizar por pasos conjuntamente con la utilización de suficiente agua que permita la suspensión del almidón en la solución.

El factor más influyente en el proceso de hidrólisis enzimática fue la temperatura, mejorando el rendimiento a temperaturas más altas. El tipo de enzima tiene una influencia menor en el proceso, lo que sugiere que ninguna de las dos enzimas usadas se desnaturaliza a temperaturas altas. Se observó que la interacción entre temperatura y tipo de enzima no es estadísticamente significativa para el resultado final de la hidrólisis.

El mejor tratamiento de hidrólisis se da a dos horas de reacción con alfa amilasa a 120 °C seguido por 16 horas de reacción con amiloglucosidasa a 60 °C, el cual tuvo un rendimiento promedio de 32.83% de azúcares reductores. Aparentemente el rendimiento se ve limitado por la propiedad del almidón de retrogradarse al disminuir la temperatura, lo que hace que estas moléculas se vuelvan inaccesibles para las enzimas y la reacción se detenga.

La solución de Carrez es un método efectivo para la clarificación de la solución hidrolizada, lográndose una reducción significativa de color. Sin embargo al momento de la concentración al vacío se produjo una coloración parda, posiblemente por darse la reacción de caramelización de azúcares o a reacción de Maillard con las proteínas aun presentes.

Para obtener 8.56 g de jarabe concentrado se requirieron 26.3 g de sustrato y 500 mL de agua. El precio total de la materia requerida para un kilogramo de jarabe es de 3.98\$ mientras que la misma cantidad de glucosa se comercializa en 1.80\$ en el mercado. Se

concluye que este proceso no es económicamente rentable considerando los precios a los que se obtuvo la materia prima. Sin embargo se podría analizar la posibilidad de instalar este proceso in situ donde se obtendría la fruta fresca (con mayor contenido de almidón) y a un precio considerablemente menor.

5. Recomendaciones

Es necesario mejorar el proceso de extracción de sustrato. El uso de reactivos o enzimas que permitan degradar las paredes celulares podría aumentar el rendimiento de almidón obtenido. Además de esto se puede intentar el uso de otro tipo de métodos de extracción de sólidos finos, de manera de aprovechar mejor la materia prima. El rendimiento obtenido con el proceso de aislamiento de sustrato como se describe en este trabajo podría ser comparado con el uso de todo el material licuado como se describe en Verhoff, et al., (1998). Se debe determinar si el proceso de refinación es más eficiente antes o después de la hidrólisis.

Utilizar un intercambiador de calor para las reacciones a altas temperaturas ya que es difícil el control de tiempo de reacción en un autoclave presurizado y los cambios bruscos de temperatura pueden ocasionar la gelatinización del almidón.

Probar otros métodos de clarificación y purificación del jarabe, tales como resinas de intercambio iónico. Buscar condiciones de evaporación que no resulten en el pardeamiento del producto final.

6. Referencias Bibliográficas

- Banco Central del Ecuador. (2014). *Importaciones Jarabe de Glucosa*. Obtenido de Sectore Externo - BCE: <http://www.portal.bce.fin.ec>
- Bello-Perez, L. A., Agama-Acevedo, E., Sanchez-Hernandez, L., & Paredes-Lopez, O. (1999). Isolation and partial characterization of banana starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 854-857.
- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (2009). *Starch chemistry and technology* (3ra ed.). Londres: Academic.
- Bucheli, R. (11 de Junio de 2014). *Balanza comercial del Ecuador enero-abril año 2014*. Obtenido de EIProductor: <http://elproductor.com/2014/06/11/balanza-comercial-del-ecuador-enero-abril-ano-2014/>
- Carbajal, A. (Septiembre de 2002). *Hidratos de Carbono*. Obtenido de Universidad Complutense de Madrid: <http://pendientedemigracion.ucm.es/info/nutri1/carbajal/manual-07.htm>
- CassavaBiz. (2005). *Production of glucose syrup*. Obtenido de International Institute of Tropical Agriculture: <http://www.cassavabiz.org/postharvest/gsyru01.htm>
- Chaplin, M., & Bucke, C. (6 de Agosto de 2014). *The use of enzymes in starch hydrolysis*. Obtenido de Enzyme Technology: <http://www1.lsbu.ac.uk/water/enztech/starch.html>
- Cummings, J. H., & Englyst, H. N. (1991). Measurement of starch fermentation in the human large intestine. *Canadian Journal of Physiological Pharmacology*, 69, 121-129.
- Diario El Ciudadano. (25 de Enero de 2014). *Gobierno impulsará consumo de pan hecho con harina de banano*. Obtenido de <http://www.elciudadano.gob.ec/gobierno-impulsara-consumo-de-pan-hecho-con-harina-de-banano/>
- Díaz, N., & Clotet, R. (1995). Cinética de la caramelización de soluciones azucaradas simples. *Alimentaria*(35), 35-38.
- Dickey, L. C., Dallmer, M. F., Radewonuk, E. R., Parris, N., Kurantz, M., & Craig, J. C. (Septiembre/Octubre de 1997). Hydrocyclone Separation of Dry-Milled Corn. *Cereal Chemistry*, 74(5), 676-680.
- Dinov, I. (09 de Mayo de 2014). *F Distribution Tables*. Obtenido de University of California, Los Angeles: http://www.socr.ucla.edu/applets.dir/f_table.html
- Donnell, K. (2012). *Sweeteners and sugar alternatives in food technology* (2nd ed.). Chichester, West Sussex, U.K.: Wiley-Blackwell.

- Donovan, J. W. (1979). Phase transitions of starch–water systems. *Biopolymers*, 18(2), 263-275.
- Duke University. (2008). *The studentized range statistic (q)*. Recuperado el 15 de Septiembre de 2014, de Department of Statistical Science: <https://stat.duke.edu/courses/Spring98/sta110c/qtable.html>
- European Starch Industry Association. (2012). *Starch sweeteners / Glucose syrups*. Obtenido de <http://www.aaf-eu.org/starch-sweeteners-glucose-syrups/>
- Evans, J. D., & Haismann, D. R. (1982). The effect of solutes on the gelatinization temperature of potato starch. *Starch/Staerke*, 34, 224-231.
- FAO. (13 de Agosto de 2014a). *Crop Data*. Obtenido de FAOStat: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/browse/Q/QC/E>
- FAO. (Enero de 2014b). *Banana Market Review and Banana Statistics 2012-2013*. Obtenido de FAO.org: <http://www.fao.org/docrep/019/i3627e/i3627e.pdf>
- FAO. (2014c). *Composición del banano Musa Cavendish*. Obtenido de Tabla de composición de alimentos: <http://www.rlc.fao.org/es/conozca-fao/que-hace-fao/estadisticas/composicion-alimentos/busqueda/?clave=C506>
- Fresh Plaza Produce. (28 de January de 2014). *Ecuador exported 253 million boxes of bananas in 2013*. Obtenido de Global Fresh Produce and Banana News: <http://www.freshplaza.com/article/117317/Ecuador-exported-253-million-boxes-of-bananas-in-2013>
- Geankoplis, C. J. (1998). *Procesos de transporte y Operaciones Unitarias*. Mexico: El filtro rotatorio continuo al vacío que se ilustra.
- International Starch Institute. (Octubre de 1998). *ISI 25-2e Preparation of Starch from Tubers*. Obtenido de Laboratory Methods: <http://www.starch.dk/isi/methods/25prep.htm>
- Lancashire, R. (Noviembre de 2000). *Fehling's Test*. Obtenido de The Department of Chemistry, University of the West Indies: <http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/Fehling.html>
- Lane, J. H., & Eynon, L. (1923). Determination of reducing sugars by means of Fehling's solution with methylene blue as internal indicator. *J. Soc. Chem. Ind. Trans*, 32-36.
- Las grandes comercializadoras mandan en mercado bananero*. (28 de Agosto de 2011). Obtenido de Diario El Telégrafo: <http://www.telegrafo.com.ec/noticias/informacion-general/item/las-grandes-comercializadoras-mandan-en-mercado-bananero.html>

- Lii, C.-Y., Chang, S.-M., & Young, Y.-L. (1982). Investigation of the Physical and Chemical Properties of Banana Starches. *Journal of Food Science*, 47(5), 1493–1497.
- Ling, L., Osman, E. M., Fernandes, J. B., & Reilly, P. J. (1982). Physical Properties of Starch from Cavendish Banana Fruit. *Starch/Stärke*, 34(6), 184–188.
- Markowicz, D., Monaro, E., Siguemoto, E., & Séfora, M. (2012). Maillard Reaction Products in Processed Food: Pros and Cons. En B. Valdez (Ed.), *Food Industrial Processes - Methods and Equipment*. INTECH Open Access Publisher.
- McClearty, B., Gibson, T., Solah, V., & Mugford, D. (1994). Total Starch Measurement in Cereal Products: Interlaboratory Evaluation of a Rapid Enzymatic Test Procedure. *Cereal Chemistry*, 71(5), 501-505. Obtenido de http://www.aaccnet.org/publications/cc/backissues/1994/documents/71_501.pdf
- Megazyme. (2014). *Analytical Applications - Deproteinisation*. Obtenido de http://www.megazyme.com/docs/analytical-applications-downloads/deproteinisation_110120.pdf?sfvrsn=2
- Montgomery, D., & Runger, G. (2003). *Applied Statistics and Probability for Engineers* (3ra ed.). New York: Wiley.
- Msagati, T. (2012). *The Chemistry of Food Additives and Preservatives*. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Nollet, L. M. (2013). *Food analysis by HPLC* (3ra ed.). Boca Raton: CRC Press.
- Otra bananera con multa por contaminación ambiental*. (16 de Noviembre de 2011). Obtenido de Diario La Hora: http://www.lahora.com.ec/index.php/noticias/show/1101236827#.VHPTdyLF_Yg
- Ottenhof, M. A., & Farhat, I. A. (2004). Starch retrogradation. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 21, 215-228. Obtenido de <http://www.nottingham.ac.uk/ncmh/BGER/pdf/Volume%2021/BGER21-9.pdf>
- Persley, G., & George, P. (1996). *Banana Improvement: Research Challenges and Opportunities*. Washington, D.C.: World Bank Publications.
- Quitigüña, C., & Santacruz, S. (2010). *Obtención de jarabe de glucosa a partir de la hidrólisis enzimática de almidón de banano Musa Cavendish*. Quito: Universidad San Francisco. Obtenido de <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/711>
- Ranganna, S. (1986). *Handbook of Analysis and Quality Control for Fruit and Vegetable Products*. New Delhi: Tata McGraw-Hill Education.

- Rodríguez, C., & Santacruz, S. (Julio de 2011). *Estudio comparativo entre los métodos de hidrólisis ácida y enzimática de banano (Musa Cavendish) para la obtención de jarabe de glucosa*. Obtenido de Repositorio USFQ: <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/1219>
- Santacruz, S., & Donoso, J. (2014). Aprovechamiento de los excedentes de exportación de banano (Musa Cavendish) para la elaboración de jarabe de glucosa. *Sin Publicar*.
- Sigma-Aldrich. (2014). *Amyloglucosidase*. Obtenido de Biochemicals and Reagents: <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/biochemicals/biochemical-products.html?TablePage=111642840>
- Verhoff, F. H., Blatteis, C. S., & Barrett, C. L. (1998). *USA Patente nº WO 1997023652 A1*.
- Waliszewski, K. N., Aparicio, M. A., Bello, L. A., & Monroy, J. A. (2003). Changes of banana starch by chemical and physical modification. *Carbohydrate Polymers*, 52, 237-242.
- Whistler, R. L. (1998). *USA Patente nº US 5797985 A*.
- Zhang, P., Whistler, R. L., BeMiller, J. N., & Hamaker, B. R. (2005). Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility—a review. *Carbohydrate Polymers*(59), 443–458.

Anexo 1



INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-FQ.15692

SA 16645a

Cliente:	DONOSO JUAN ANDRES	Lote:	--
Dirección:	CUMBAYA	Fecha Elaboración:	---
Muestreado por:	El Cliente	Fecha Vencimiento:	--
Muestra de:	ALIMENTO	Fecha Recepción:	08/07/2014
Descripción:	SISTRATO DE BANANO	Hora Recepción:	13:00
		Fecha Análisis:	09/07/2014
		Fecha Entrega:	15/07/2014
		Código:	---

Características Muestra

Color:	Característico
Olor:	Característico
Estado:	Sólido
Contenido Declarado:	20g
Contenido Encontrado:	---
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio

RESULTADO FISICO-QUIMICO

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO INTERNO	METODO DE REFERENCIA
ALMIDON CUANTITATIVO	%	28,62	MFQ-126	AOAC 920.83



Anexo 2: Resultado de ANOVA de dos factores con replicación

Anova: Two-Factor With Replication

SUMMARY	AlfaA1	AlfaAT2	Total
	<i>90</i>		
Count	3	3	6
Sum	79.09397	74.4047	153.4987
Average	26.36466	24.80157	25.58311
Variance	1.25509	0.253758	1.336514

	<i>120</i>		
Count	3	3	6
Sum	98.50206	95.20318	193.7052
Average	32.83402	31.73439	32.28421
Variance	2.156074	0.061764	1.249888

	<i>Total</i>		
Count	6	6	
Sum	177.596	169.6079	
Average	29.59934	28.26798	
Variance	13.92026	14.54543	

ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Sample	134.714	1	134.714	144.5939	2.11051E-06	5.317655
Columns	5.317544	1	5.317544	5.707532	0.043921302	5.317655
Interaction	0.161099	1	0.161099	0.172914	0.688465121	5.317655
Within	7.45337	8	0.931671			
Total	147.646	11				