

Estudio de la hidrólisis enzimática de la harina de plátano (*Musa* sp.), clones: 'Cachaco' y 'Pelipita'

Study of the enzymatic hydrolysis of plantain (*Musa* sp.) flour, 'Cachaco' and 'Pelipita' clones

Estudo da hidrólise enzimática de farinha de banana (*Musa* sp.), os clones: 'Cachaco' e 'Pelipita'

Alba P. Montalvo Puente¹, Yuri J. Pardo Plaza² y
Emy Luz Sanchez³

¹Semillero de Investigación Bioquímica Animal, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Córdoba. Cra. 6 N° 74-103, Córdoba-Colombia. Correo electrónico: albampuente@correo.unicordoba.edu.co. ²Grupo de Investigación en Bioquímica, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Córdoba. Cra. 6 N° 74-103, Córdoba-Colombia. Correo electrónico: yuripardo15@hotmail.co. ³Grupo de Investigación Química de los Productos Naturales, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Córdoba. Cra. 6 N° 74-103, Córdoba-Colombia. Correo electrónico: elsanchez@correo.unicordoba.edu.co

Resumen

A partir de la hidrólisis de almidón de plátano (*Musa* sp.) ABB, clones 'Cachaco' y 'Pelipita', (*acuminata* (A) y *balbisiana* (B)), se determinaron las condiciones óptimas de la hidrólisis enzimática en la producción de jarabe de glucosa; empleando α -amilasa y glucoamilasa. Como factor de respuesta se determinó la concentración de azúcares reductores (AR), empleando la técnica con DNS. Obtenidos los jarabes se inició la fermentación con *Saccharomyces cereviceae* para la obtención de etanol, monitoreando las variables: °Brix, concentración de biomasa y concentración de etanol. Para α -amilasa la temperatura óptima fue de 70 °C en ambos clones y la concentración de AR 92,90 y 90,08 g·L⁻¹ para 'Pelipita' y 'Cachaco', respectivamente. Para glucoamilasa la temperatura óptima fue de 60 °C en ambos clones y la concentración de AR fue de 159,25 y 150,17 g·L⁻¹ para 'Pelipita' y 'Cachaco', respectivamente. Este estudio permitió observar el comportamiento de las enzimas durante la hidrólisis.

Palabras clave: α -amilasa, bioetanol, glucoamilasa, licuefacción, sacarificación.

Recibido el 13-04-2016 • Aceptado el 12-10-2016

*Autor de correspondencia. Correo electrónico: albampuente@correo.unicordoba.edu.co

Abstract

The optimum conditions of the enzymatic hydrolysis in the production of glucose syrup were determined with the hydrolysis of plantain starch (*Musa* sp.) ABB, clones 'Cachaco' and 'Pelipita', (*acuminata* (A) and *balbisiana* (B)) and using α -amylase and glucoamylase. As a response factor, the concentration of reduced sugar (RS) was determined using the technique with DNS. After obtaining syrups, fermentation with *Saccharomyces cereviceae* began in order to obtain ethanol, by monitoring the variables: °Brix, biomass concentration and ethanol concentration. For α -amylase the optimum temperature was 70 °C in both clones, and the AR 92.90 and 90.08 g·L⁻¹ for 'Pelipita' and 'Cachaco', respectively. For glucoamylase, the optimum temperature was 60 °C in both clones and RS concentration of 159.25 and 150.17 g·L⁻¹ for 'Pelipita' and 'Cachaco', respectively. This study allowed observing the behavior of enzymes during hydrolysis.

Key words: α -amylase, bioethanol, glucoamylase, liquefaction, saccharification.

Resumo

A partir da hidrólise de amido de banana clones (*Musa* sp.) ABB 'Cachaco' e 'Pelipita', (*acuminata* (A) e *balbisiana* (B)), as condições ótimas de hidrólise enzimática foram determinadas na produção de xarope de glucose; usando α -amilase e glucoamilase. Como factor de resposta foi usada a concentração de açúcares redutores (AR), determinada usando a técnica de DNS. Com os xaropes obtidos começou a fermentação com *Saccharomyces cereviceae*, para a obtenção de etanol por variáveis de monitoramento: °Brix, concentração de biomassa e concentração de etanol. Para amilase a temperatura ótima foi de 70 °C em ambos os clones e concentração de 92,90 e 90,08 AR g·L⁻¹ 'Pelipita' e 'Cachaco', respectivamente. Para glucoamilase a temperatura ótima foi de 60 °C em ambos os clones e da concentração de AR 159,25 e 150,17 fue de g·L⁻¹ 'Pelipita' e 'Cachaço', respectivamente. Este estudo permitiu observar o comportamento das enzimas durante a hidrólise.

Palavras-chave: α -amilase, bioetanol, glucoamilase, liquefação, sacarificação.

Introducción

Entre la diversidad de especies promisorias de fuente de carbono para la producción de bioetanol se encuentran los clones de plátano ABB 'Cachaco' y 'Pelipita', los cuales son poco conocidos dentro del mercado debido a que crecen de manera silvestre en climas tropicales

Introduction

Among the diversity of promissory species source of carbon for the production of bioethanol are the clones of plantain ABB 'Cachaco' and 'Pelipita', which are little known in the market since these grow wildy in tropical weather (Echeverry, 2000); thus, the totality

(Echeverry, 2000); de forma que no se aprovecha en su totalidad su riqueza composicional y el potencial de carbohidratos presentes en el fruto (Mazzeo *et al.*, 2010). En consecuencia, es preciso buscar nuevas fuentes de carbono para la producción de jarabes de glucosa mediante la hidrólisis del almidón por vía enzimática debido a la gran disponibilidad de nuevas enzimas (Quitiguiña y Santacruz, 2012), que presentan la ventaja del control de la formación de productos no deseables y mayor flexibilidad del producto.

En el desarrollo de la hidrólisis es necesario el uso de enzimas denominadas celulasas, que presentan distintas actividades enzimáticas y cuya acción conjunta produce la degradación de la celulosa (Ovando y Waliszewski, 2005). Usualmente la hidrólisis enzimática es realizada mediante procesos secuenciales: gelatinización del almidón, licuefacción y sacarificación, estas dos últimas mediante el uso de dos enzimas, α -amilasas y glucoamilasas (Zhang *et al.*, 2011).

Los principales productos después del proceso de licuefacción por la α -amilasa son oligosacáridos con grado de polimerización (GP) menor a siete, entre ellos, la maltosa, maltotriosa y dextrinas como los mayores productos de degradación (Brandam *et al.*, 2003). Consecutivamente, la sacarificación por glucoamilasas tiene como principal producto la glucosa.

En este contexto, en esta investigación se estudió el comportamiento de las enzimas

of its compositional richness and the potential of carbohydrates in the fruit are not exploited (Mazzeo *et al.*, 2010). Consequently, it is necessary to look for carbon sources for the production of glucose syrups through starch hydrolysis by enzymatic production due to the huge availability of new enzymes (Quitiguiña and Santacruz, 2012), that have an advantage on the formation control of undesirable products and more flexibility of the product.

In the development of the hydrolysis is necessary the use of enzymes known as cellulase that have different enzymatic activities and whose action produce the degradation of the cellulose (Ovando and Waliszewski, 2005). Usually the enzymatic hydrolysis happens through sequential processes: gelatinisation of starch, liquefaction and saccharification, the last two occur using two enzymes, α -amylase and glucoamylase (Zhang *et al.*, 2011).

The main products after the liquefaction process by α -amylase are oligosaccharides with a polymerization degree lower to seven, among those are maltose, maltotriose and dextrins as the main degradation products (Brandam *et al.*, 2003). Consequently, the saccharification by glucoamylase has glucose as its main product.

In this context, this research studied the behavior of the enzymes α -amylase and glucoamylase during the hydrolysis of the starch coming from plantain flour (*Musa* sp.) of the clones 'Cachaco' and 'Pelipita'.

α -amilasa y glucoamilasa durante la hidrólisis del almidón proveniente de la harina de plátano (*Musa* sp.) de los clones 'Cachaco' y 'Pelipita'.

Materiales y métodos

Obtención de la harina y preparación de los hidrolizados

A partir del fruto de plátano de los clones 'Cachaco' y 'Pelipita' se preparó la harina, para ello se determinó en la pulpa (mesocarpio y endocarpio) fresca el contenido de humedad usando una modificación del método AOAC 934.06 (AOAC, 1997). Los frutos pre-almacenados se sometieron a lavado en solución de hipoclorito de sodio comercial (10 mg $\cdot$ L⁻¹) antes de ser separados de la cáscara (epicarpio), la pulpa fue seccionada en rodajas de espesor <0,5 mm usando un cortador comercial y las muestras fueron sometidas a secado por 6 h en un horno ThermoScientific® 29 con acople de vacío, de acuerdo a la metodología propuesta por Espitia *et al.* (2013). Se utilizaron en total 450 g de muestra de harina para cada uno de los clones estudiados.

Producción de jarabe de glucosa

Una vez obtenida la harina, se prepararon soluciones de 100, 150 y 200 g $\cdot$ L⁻¹ de 'Cachaco' y 'Pelipita', ajustándose a pH 6,0; luego se ajustó la concentración de iones Ca⁺² a 150 mg $\cdot$ L⁻¹ mediante la adición de CaCl₂ $\cdot$ 2H₂O; posteriormente, se transfirieron a un matraz de 500 mL, donde se calentaron a 80 °C con agitación constante hasta obtener un gel consistente (Hernández *et al.*, 2008).

Materials and methods

Obtaining of the flour and preparation of the hydrolysates

Flour was prepared after the plantain fruits of the clones 'Cachaco' and 'Pelipita', for that was determined in the fresh pulp (mesocarp and endocarp) the humidity content using a modification of the AOAC 934.06 method (AOAC, 1997). The pre-stored fruits were washed in a commercial sodium hypochlorite solution (10 mg $\cdot$ L⁻¹) before being divided from the peel (epicarp); the pulp was selected in slices with a thickness of <0.5 mm using a commercial cutter, and the samples were dried for 6 h in an oven ThermoScientific® 29 using a vacuum coupler according to the methodology proposed by Espitia *et al.* (2013). A total of 450 g of the sample of flour was used for each of the clones studied.

Production of glucose syrup

Once obtained the flour solutions of 100, 150 and 200 g $\cdot$ L⁻¹ of 'Cachaco' and 'Pelipita' were prepared, adjusting at a pH 6.0; later, the ions concentration Ca⁺² at 150 mg $\cdot$ L⁻¹ was adjusted using the addition of CaCl₂ $\cdot$ 2H₂O; later, were transferred to a flask of 500 mL where were heated at 80 °C with constant agitation until obtaining a consistent gel (Hernández *et al.*, 2008).

Once gelatinized the starch the liquefaction started adding α -amylase (BAN® 480 L, Novozymes) at a concentration of 0.02% of enzymes and 10, 15 and 20% m $\cdot$ v⁻¹ of the substrate, for each clone, leaving to stand and react for 2 h. The enzymatic activity was evaluated at 60, 70 and 80 °C, the follow-up was done to the hydrolysis through the RS analysis

Una vez gelatinizado el almidón se inició la licuefacción adicionándose α -amilasa (BAN® 480 L, Novozymes) con una concentración de 0,02% de enzima y 10, 15 y 20% $m \cdot v^{-1}$ de sustrato, para cada clon, dejándose reaccionar durante 2 h. La actividad enzimática se evaluó a 60, 70 y 80 °C, se realizó el seguimiento a la hidrólisis mediante el análisis de AR por el método espectrofotométrico del DNS (Mera *et al.*, 2003; Huanca *et al.*, 2015).

Durante la sacarificación, la solución resultante de la licuefacción se le ajustó el pH a 4,5 con ácido cítrico concentrado, luego se adicionó la solución de glucoamilasa (Spirizyme® Fuel) a una concentración de 0,025% $m \cdot m^{-1}$, manteniendo agitación constante a 500 rpm durante 4 h. La actividad enzimática se evaluó a 50, 60 y 70 °C, posteriormente, se monitoreó la hidrólisis de las dextrinas mediante la concentración de AR y sólidos totales (°Brix).

Fermentación separada

Los hidrolizados de la harina para ambos clones fueron complementados con extracto de levadura (6,5 $g \cdot L^{-1}$), KH_2PO_4 (0,1 $g \cdot L^{-1}$), $(NH_4)_2SO_4$ (0,96 $g \cdot L^{-1}$) y $MgSO_4$ (0,5 $g \cdot L^{-1}$); posteriormente, se fermentaron en un biorreactor en condiciones de anaerobiosis, a 28 °C, 100 rpm y un pH inicial de 4,5; permitiéndose el intercambio de CO_2 con el objetivo de obtener la mayor producción de etanol. A los jarabes obtenidos se les determinaron la variación de AR, °Brix, aumento de biomasa y concentración de alcohol por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

by the spectrophotometric method of DNS (Mera *et al.*, 2003; Huanca *et al.*, 2015).

During the saccharification, the pH was adjusted at 4.5 with concentrated citric acid to the solution obtained from the liquefaction, later the glucoamylase solution (Spirizyme® Fuel) was added at a concentration of 0.025% $m \cdot m^{-1}$ with constant agitation at 500 rpm for 4 h. The enzymatic activity was evaluated at 50, 60 and 70 °C; then, the hydrolysis of the dextrins was monitored through the concentration of RS and total solids (°Brix).

Separated fermentation

The hydrolises of the flour for both clones were complemented with yeast extract (6.5 $g \cdot L^{-1}$), KH_2PO_4 (0.1 $g \cdot L^{-1}$), $(NH_4)_2SO_4$ (0.96 $g \cdot L^{-1}$) and $MgSO_4$ (0.5 $g \cdot L^{-1}$); later, were fermented in a bioreactor in anaerobiosis conditions at 28 °C, 100 rpm and an initial pH of 4.5 allowing the interchange of CO_2 with the aim of obtaining the highest production of ethanol. To the syrups obtained were determined the variation of RS, increment of the biomass and alcohol concentration by high resolution liquid chromatography (HPLC).

Experimental design

A multi-level split plot design was used for evaluating the liquefaction and saccharification, considering the main factors which were the liquefaction temperature and the concentration of the plantain flour using three levels for each factor corresponding to the reaction conditions specified for the enzyme used. The treatment of the data was used in the Statistical Software Minitab 16.

Diseño experimental

Para la evaluación del proceso de licuefacción y sacarificación, se realizó un diseño factorial de múltiples niveles; se consideró que los principales factores fueron la temperatura de licuefacción y la concentración de harina de plátano, empleando tres niveles para cada factor, correspondientes a las condiciones de reacción especificadas para la enzima utilizada. El tratamiento de los datos se realizó en el programa Minitab 16 Statistical Software.

Resultados y discusión

Licuefacción del almidón

Con la finalidad de garantizar la máxima producción de sustrato fermentable en las etapas de licuefacción y sacarificación, se establecieron las condiciones óptimas de trabajo para estas etapas. En la licuefacción se utilizó como factor respuesta el contenido de AR y °Brix con respecto a la temperatura, para las diferentes concentraciones ensayadas (cuadro 1). La acción de la enzima α -amilasa agregada al sustrato presentó una mayor actividad a la temperatura de 70 °C, para todas las concentraciones evaluadas de ambos clones, evidenciándose en los resultados un valor máximo de 92,90 g·L⁻¹ para 'Pelipita' y 90,08 g·L⁻¹ para 'Cachaco' a una concentración de 200 g·L⁻¹. Aunque la diferencia entre los clones no fue muy marcada, esto podría estar relacionado a la concentración de amilosa para cada una de las especies estudiadas. Los datos del cuadro 1 evidenciaron una disminución en los

Results and discussion

Liquefaction of the starch

The optimum working conditions for these phases were established with the aim of guaranteeing the maximum protection of the fermented substrate in the phases of liquefaction and saccharification. In the liquefaction was used RS content and °Brix as response factor in relation to the temperature for the different concentrations essayed (table 1). The action of the enzyme α -amylase added to the substrate presented higher activity of the temperature of 70 °C for all the evaluated concentrations of both clones, evidencing in the results a maximum value of 92.90 g·L⁻¹ for 'Pelipita' and 90.08 g·L⁻¹ for 'Cachaco' at a concentration of 200 g·L⁻¹. Even though the difference among the clones was not to marked, this might be related to the concentration of amylose for each of the species studied. The data of table 1 evidenced a reduction in the °Brix for both clones as the variations of temperature and concentration of hydrolysates were produced.

A working concentration of 200 g·L⁻¹ was selected with these results avoiding it to cause a dysfunctional limitation during the hydrolysis process provoked by an increment of the viscosity, which reduced rapidly once added the enzyme. The results of this research agreed with the information stated by Mera *et al.* (2003), who characterized the α -amylase, reporting the highest enzymatic activity at a temperature of 70 °C for the hydrolysis of cassava starch.

Cuadro 1. Concentración de azúcares reductores y grados °Brix en la etapa de licuefacción de los clones de plátano (*Musa* sp.) ‘Cachaco’ y ‘Pelipita’.

Table 1. Concentration of reduced sugar and degree °Brix in the liquefaction phase of the plantain clones (*Musa* sp.) ‘Cachaco’ and ‘Pelipita’.

Temperatura (°C)	‘Pelipita’ 100 g · L ⁻¹		‘Pelipita’ 150 g · L ⁻¹		‘Pelipita’ 200 g · L ⁻¹	
	AR (g · L ⁻¹)	°Brix	AR (g · L ⁻¹)	°Brix	AR (g · L ⁻¹)	°Brix
60	45,883	9,92	60,722	12,67	70,643	14,83
70	48,284	11,33	69,885	13,33	92,897	17,08
80	39,911	8,75	65,788	10,75	76,015	12,25
Temperatura (°C)	‘Cachaco’ 100 g · L ⁻¹		‘Cachaco’ 150 g · L ⁻¹		‘Cachaco’ 200 g · L ⁻¹	
	AR (g · L ⁻¹)	°Brix	AR (g · L ⁻¹)	°Brix	AR (g · L ⁻¹)	°Brix
60	48,358	9,75	60,196	13,83	85,525	14,42
70	46,999	10,92	67,695	14,33	90,075	15,58
80	33,887	9,5	42,481	10,08	42,076	10,33

°Brix para ambos clones a medida que se produjeron variaciones de temperatura y concentración de los hidrolizados.

Con estos resultados se seleccionó como concentración de trabajo 200 g · L⁻¹, sin que ésta causara una limitación difusional durante el proceso de hidrólisis provocado por un aumento de la viscosidad, la cual disminuyó rápidamente una vez adicionada la enzima. Los resultados de esta investigación estuvieron en concordancia con los datos publicados por Mera *et al.* (2003), quienes caracterizaron la α-amilasa, reportando la mayor actividad enzimática a una temperatura de 70

Saccharification of the hydrolysates

The concentration and working temperature were selected for the saccharification phase with a higher content of RS in the liquefaction phase, the hydrolysis of the flour of ‘Pelipita’ had a higher production of RS than the flour ‘Cachaco’ (table 2), maybe due to the higher availability of non-reducing extremes of the dextrin produced in the previous phase (liquefaction), producing that the glucoamylase had a higher production of glucose for the second clone than for the first substrate used.

It was observed that the temperatures with more production

°C, para la hidrólisis de almidón de yuca.

Sacarificación de los hidrolizados

Para la etapa de sacarificación se seleccionó la concentración y temperatura de trabajo con mayor contenido de AR en la etapa de licuefacción, la hidrólisis de harina de ‘Pelipita’ tuvo una mayor producción de AR que la harina de ‘Cachaco’ (cuadro 2), probablemente a consecuencia de la mayor disponibilidad de extremos no reductores de las dextrinas producidas en la etapa anterior (licuefacción), lo que hizo que la glucoamilasa tuviera una mayor producción de glucosa para el segundo clon que para el primer sustrato usado.

Se evidenció que las temperaturas en donde hubo mayor producción de AR correspondieron a 50 y 60 °C, registrándose valores de 148,31 y 159,25 g·L⁻¹, respectivamente, mientras que a 70 °C se presentó un significativo descenso de los AR. Sin

of RS corresponded to 50 and 60 °C, registering values of 148.31 and 159.25 g·L⁻¹, respectively; meanwhile, at 70 °C was observed a significant reduction of the RS. However, as well as with the enzyme α-amylase, the denaturing started at high temperatures when increasing the vibrational energy of the molecules causing the rupture of the basic interactions (electrostatic interactions, hydrogen bonding, Van der Waals strengths and covalent bounds among the residues of cysteine present in the molecule), which allowed keeping the tridimensional structure of the enzyme (Lehninger, 1982).

The tendency for the clone ‘Cachaco’ was similar to the one of ‘Pelipita’, as observed in table 2, the temperatures that reported higher content of RS were 50 and 60 °C, but with a significant difference of 30 units compared to 11 units for the previous substrate among these two temperatures. The highest production

Cuadro 2. Concentración de azúcares reductores y °Brix en la etapa de sacarificación de los clones de plátano (*Musa* sp.) ‘Cachaco’ y ‘Pelipita’.

Table 2. Concentration of reduced sugar and degree °Brix in the saccharification phase of the plantain clones (*Musa* sp.) ‘Cachaco’ and ‘Pelipita’.

Temperatura (°C)	‘Cachaco’ 200 g·L ⁻¹		‘Pelipita’ 200 g·L ⁻¹	
	AR (g·L ⁻¹)	°Brix	AR (g·L ⁻¹)	°Brix
50	120,161	16,25	148,311	16,75
60	150,169	17,50	159,252	17,75
70	108,817	13,25	118,260	13,50

embargo, al igual que con la enzima α -amilasa, la desnaturalización empezó a altas temperaturas, al aumentar la energía vibracional de las moléculas ocasionando la ruptura de las interacciones básicas (interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals y enlaces covalentes entre los residuos de cisteína presentes en la molécula), las cuales permitieron mantener la estructura tridimensional de la enzima (Lehninger, 1982).

La tendencia para el clon 'Cachaco' fue similar al de 'Pelipita', como se ve claramente en el cuadro 2, las temperaturas que reportaron mayor contenido de AR fueron 50 y 60 °C, aunque con una diferencia significativa de 30 unidades frente a 11 unidades para el anterior sustrato, entre estas dos temperaturas. La de mayor producción de AR fue 60 °C con una concentración de 150,17 g L⁻¹.

En lo referente a las condiciones óptimas para la enzima glucoamilasa, Ruiz *et al.* (2011), reportaron para la hidrólisis enzimática del almidón de yuca, una temperatura óptima de 70 °C y un pH de 4,5; la diferencia con los datos obtenidos en este trabajo fue causado por factores intrínsecos de cada matriz, por ejemplo, la lignina es un factor de interferencia en los distintos procesos de hidrólisis, causando un efecto negativo sobre la actividad de la enzima. Por otra parte, Lizarazo *et al.* (2015) reportaron las condiciones óptimas para esta enzima en la etapa de sacarificación, correspondientes a 75 °C y pH entre 4 y 4,7.

of RS was 60°C with a concentration of 150.17 g L⁻¹.

Regarding the optimum conditions for the glucoamylase enzyme, Ruiz *et al.* (2011) reported for the enzymatic hydrolysis of cassava starch an optimum temperature of 70 °C and a pH of 4.5; the difference with the data obtained in this research was caused by intrinsic factors, causing a negative effect on the activity of the enzyme. On the other hand, Lizarazo *et al.* (2015) reported the optimum conditions for this enzyme in the saccharification, corresponding to 75 °C and pH from 4 to 4.7.

Separated fermentation

°Brix showed that once initiated the fermentation process there was a slow consumption of the RS (table 3) that at the same time agreed to the increment of the biomass; in that point, the concentration of ethanol obtained was low as a consequence of the consumption of hexoses by the *Saccharomyces cerevisiae* that use them as their food, leaving little substrate to make to be converted in ethanol (Lizarazo *et al.*, 2015).

The alcohol production increased after 14 h until reaching a maximum at 38 and 48 h for 'Pelipita' and 'Cachaco', respectively. When comparing the clones, a variation was observed, in this way the maximum value obtained for 'Cachaco' was 8.26% v v⁻¹ meanwhile, for 'Pelipita' the value corresponded to 9.17% v v⁻¹.

The results obtained for the clone 'Pelipita' were similar to the reported by Bringhenti and Cabello (2005), who

Fermentación separada

Los °Brix reflejaron que una vez iniciado el proceso de fermentación hubo un consumo lento de los AR (cuadro 3) que a su vez coincidieron con el aumento de la biomasa; en este punto la concentración de etanol obtenida fue baja, como consecuencia del consumo de las hexosas por parte de *Saccharomyces cerevisiae* que las convierte en su alimento, quedando muy poco sustrato para ser convertido en etanol (Lizarazo *et al.*, 2015).

La producción de alcohol aumentó a partir de las 14 h hasta alcanzar un máximo a las 38 y 48 h para ‘Pelipita’ y ‘Cachaco’, respectivamente. Al comparar los clones se observó una variación, de tal manera que el valor

obtained an ethanol concentration of 9.76% v v⁻¹ after cassava starch, but were lower the reported by Gallardo *et al.* (2011) who found ethanol concentrations of 11.28% v v⁻¹ in malted sorghum.

Conclusions

According to the results described in this research, it is possible to obtain ethanol with any of the plantain species of the clones ‘Cachaco’ and ‘Pelipita’ employed in this research and using enzymatic hydrolysis with the described conditions.

End of English version

Cuadro 3. Fermentación del medio de cultivo ‘Cachaco’ con *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763), en Bioreactor.

Table 3. Fermentation of the culture mean ‘Cachaco’ with *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763), in Bioreactor.

Muestra	Tiempo (h)	‘Cachaco’		°Brix	Etanol (%v·v ⁻¹)	‘Pelipita’		°Brix	Etanol (%v·v ⁻¹)
		Biomasa (g·L ⁻¹)	A R (g L ⁻¹)			Biomasa (g·L ⁻¹)	A R (g·L ⁻¹)		
1	0	0,912	171,586	16	1,572	0,598	161,406	15,75	1,956
2	14	1,897	6,809	6,5	7,741	1,793	41,405	9	6,894
3	23	1,894	4,737	6	8,121	1,896	3,609	6,25	8,603
4	38	1,955	2,268	5,75	8,099	1,897	7,51	6,25	9,17
5	48	1,993	4,188	6,25	8,262	1,892	5,925	6,25	8,948
6	72	1,986	4,798	6	8,025	1,924	5,651	6,25	8,832

máximo obtenido para ‘Cachaco’ fue de 8,26% v v⁻¹ mientras que para ‘Pelipita’ correspondió a 9,17% v v⁻¹.

Los resultados obtenidos para el clon ‘Pelipita’ fueron similares al reportado por Bringhenti y Cabello (2005), quienes obtuvieron una concentración de etanol de 9,76% v v⁻¹ a partir de almidón de yuca, pero estuvieron por debajo de los reportados por Gallardo *et al.* (2011) quienes encontraron concentraciones de etanol de hasta 11,28% v v⁻¹ en su trabajo con sorgo malteado.

Conclusiones

De acuerdo a los resultados descritos en esta investigación, es posible obtener bioetanol con cualquiera de las especies de plátano de los clones ‘Cachaco’ y ‘Pelipita’ empleadas en esta investigación, haciendo uso de la hidrólisis enzimática con las condiciones descritas.

Literatura citada

- AOAC, 1997. Official Methods of the Association of Official Analytical Chemist, 16th ed. Washington, DC.
- Brandam, C., X. Meyer, J. Proth, P. Strehaiano and H. Pingaud. 2003. An original kinetic model for the enzymatic hydrolysis of starch during mashing. *Biochem. Eng. J.* 13:43-52.
- Bringhenti, L. e C. Cabello. 2005. Qualidade do álcool produzido a partir de resíduos amiláceos da agroindustrialização da mandioca. *Rev. Energ Agric.* 20:36-52.
- Echeverry, E. 2000. Fertilización orgánica vs fertilización inorgánica de plátano Cachaco común en Colombia. *INFOMUSA* 10(2):7-10.
- Espitia, P., J. Pardo y A. Montalvo. 2013. Características del análisis proximal de harinas obtenidas de frutos de plátanos variedades Papocho y Pelipita (*Musa* ABB Simmonds). *Acta Agron.* 62(3):189-195.
- Gallardo, I., L. Rodríguez, Y. Rodríguez, L. Alemán y M. Pérez. 2011. Producción de bioetanol empleando las enzimas generadas del sorgo malteado. *AFINIDAD LXVIII.* 552:144-149.
- Hernández, J., S. Rodríguez y L. Bello. 2008. Obtención de jarabe fructosado a partir de almidón de plátano (*Musa paradisiaca* L.). Caracterización parcial. *Interciencia* 33(5):372-375.
- Huanca, S., C. Espinal and P. Mollinedo. 2015. Quality assessment of glucoses produced by enzymatic hydrolysis of alpha-amylase and amyloglucosidase from starch of *Manihot esculenta* (yuca). *Rev. Bol. Quim.* 32(2):24-29.
- Lehninger, A.L. 1982. Principios de Bioquímica. Omega S.A., Barcelona. Cap. 8.
- Lizarazo, S., G. Hurtado y L. Rodríguez. 2015. Análisis técnico económico de la producción de bioetanol a partir de papa a nivel de laboratorio en Boyacá. *Rev. Colomb. Cienc. Hortic.* 9(1):97-111.
- Mazzeo, M., L. León, L. Mejía, L. Guerrero y J. Botero. 2010. Aprovechamiento industrial de residuos de cosecha y poscosecha del plátano en el Departamento de Caldas. *Rev. Educación en Ingeniería* 9:128-139.
- Mera, I., J. Hoyos, J. Carrera, C. Forero y R. Velasco. 2003. Caracterización enzimática de alfa-amilasa y glucoamilasa en la hidrólisis de almidón de yuca (*Manihot esculenta*). *Facultad de Ciencias Agropecuarias* 1(1):83-86.
- Ovando, A. y K. Waliszewski. 2005. Preparativos de celulasas comerciales y aplicativos en procesos extractivos. *Universidad y Ciencia* 21(42):111-120.

- Quitiguiña, C. y S. Santacruz. 2012. Obtención de jarabe de glucosa a partir de la hidrólisis enzimática de almidón de banano, *Musa cavendish*. Rev. Bol. Quim. 29(1):55-62.
- Ruiz, M., C. Sánchez, R. Torres and R. Molina. 2011. Enzymatic hydrolysis of cassava starch for production of bioethanol with a colombian wild yeast strain. J. Braz. Chem. Soc. 22(12):2337-2343.
- Zhang, L., H. Shao, M. Gan, Y. Jin, X. Gao, Q. Chen, J. Guan and Z. Wan. 2011. Application of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) from viscosity reducing of raw sweet potato for bioethanol production at laboratory, pilot and industrial scale. Bioresour. Technol. 102:4573-4579.