1. Tratamiento enzimático para la hidrolisis del almidón de la pulpa de parchita (*Passiflora edulis flavicarpa*)

Efraín A. García, Hilda Parra

Centro de Investigaciones del Estado para la Producción Experimental Agroindustrial,
División de Frutas y Hortalizas, San Felipe, Venezuela
efrainagarcia6418@gmail.com,Tlf. (0254) 2313392

2. Resumen

La parchita amarilla, posee características organolépticas muy apreciables, el almidón forma parte de su composición, el cual sufre trasformaciones estructurales por efecto térmico, esto crea una barrera en la transferencia de calor y esto a su vez redunda sobre las características sensoriales y nutritivas de la misma, de allí nace el interés de aplicar mejoras tecnológicas a través de tratamientos enzimáticos mediante la utilización de amilasas específicas que rompan la molécula de almidón, dando lugar a la formación de moléculas como alfa dextrinas, maltotriosa, maltosa y glucosa. Esto favorece la eliminación del fenómeno de gelatinización, además que incrementa el contenido de sólidos solubles de la pulpa, aumenta el nivel azucares reductores mejora el dulzor del producto, disminuye la viscosidad, disminuye la turbidez del producto v permite alcanzar niveles de sólido soluble más elevado y menos daños en la exposición térmica bien sea en la pasteurización o durante el proceso de evaporación. El desarrollo de esta investigación, tiene como objetivo evaluar las enzimas α amilasa, glucoamilasa y pululanasa de las marcas comerciales Sigma y Abe Enzymes bajo condiciones definidas de pH, temperatura y concentración sobre la molécula del almidón, se trabajó con parchita proveniente de Quibor estado Lara, destacándose en la caracterización un contenido de almidón de 3,47 %, la enzima con las mejores actividad enzimática bajo condiciones óptimas previamente definida sobre almidón puro resultó ser la enzima pululanasa con un valor óptimo de 319,58 mg de glucosa/ml/min, la enzima amiloglucosidasa Gammadex cal de la casa comercial Abe Enzymes, fue la mejor cuando el sustrato era la pulpa de parchita, a su pH optimo con un valor nominal de 104,98 mg de glucosa /ml/min y de 30,53 mg de glucosa/ml/min sin ajustar el pH natural de la enzima, además mediante centrifugación se pudo corroborar que la enzima Gammadex cal fue la que presentó mayor solubilización, los resultados destacan que la pulpa de parchita posee dentro de su composición elementos inhibitorios que afectan la actividad enzimática de manera general.

Palabras claves: **Passiflora edulis flavicarpa**, actividad enzimática, alfa amilasa, amiloglucosidasa, pululanasa

3. Introducción

Las pulpas de frutas con alto contenido de sólidos sufren durante los tratamientos térmicos cambios, alguno de los cuales traen consigo problemas de carácter tecnológicos que afectan las características fisicoquímicas, así como la calidad organoléptica del producto.

La presencia de macromoléculas en las pulpas de fruta como celulosa, pectina y almidón, crean un problema tecnológico durante los procesos de filtración, pasteurización, evaporación, esterilización entre otros afectando la calidad del producto a desarrollar Carrín *et al.* (2004).

La pulpa de parchita se caracteriza por presentar almidón dentro de su composición y cuando es sometida a tratamientos térmicos ocurre el fenómeno de gelatinización lo cual afecta negativamente la transferencia de calor, aumenta la viscosidad y crea turbidez, considerando además que el calor promueve reacciones químicas que le quitan el carácter de frescura a la pulpa, desarrollando olores y sabores diferentes al de la fruta natural (Flores *et al.* 2007).

De allí, el interés de aplicar mejoras tecnológicas a través de la hidrólisis enzimática, mediante la utilización de las enzimas α-amilasa, glucoamilasa, y pululanasa las cuales son específicas en la hidrólisis de la molécula de almidón, dando lugar a la formación de moléculas como α dextrinas, maltotriosas, maltosas, glucosas. Esto incrementa el contenido de sólidos solubles, mejora el dulzor, disminuye la viscosidad, disminuye la turbidez y permite alcanzar niveles de sólido soluble más elevado y menos daño térmico durante la pasteurización, esterilización o evaporación.

Con el desarrollo de este trabajo de investigación, se tiene previsto evaluar diferentes enzimas que hidrolizan el almidón, de tal manera de determinar bajo qué condiciones cual de ella (s) es más efectiva, el logro del mismo permitirá colocar a la disposición la tecnología desarrollada, a las necesidades de aplicar mejoras en el procesamiento y desarrollo de productos a partir de pulpas de frutas para el consumo humano.

4. Materiales y métodos

4.1. Materiales.

4.1.1. Materia prima

Las parchitas amarilla utilizada en los ensayos experimentales fue recolectadas en cestas plásticas de 30 kg de capacidad. La recolección se hizo en función del color amarillo que presentaba la superficie del fruto. El lugar de recolección se hizo a lo largo de toda una hectárea perteneciente a un productor ubicado en los valles de Quibor en el estado Lara. La cantidad de frutos recolectados fueron de 300 kg distribuidos en diez cestas plásticas perforadas.

4.1.2. Enzimas: Las enzimas utilizadas fueron:

4.1.2.1. α-amilasa de AB Enzymes: Enzima con nombre comercial Gammafungase A65L de la casa comercial AB Enzymes GmbH, es una enzima proveniente del hongo *Aspergillus oryzae*. Valor de pH óptimo: 4,8 – 5,5 Temperatura Optima: 50 – 55°C. Valores óptimos que fueron utilizados en la evaluación de las enzimas tanto en el almidón como en la pulpa como sustrato.

4.1.2.2. **α-Amilasa de Sigma**: Enzima proveniente del *Bacillus licheniformis* Numero A 3403 de la marca comercial Sigma. Tiene un rango de acción entre pH 5-9. Es estable entre las temperaturas de 40 a 60 °C. Valores óptimos que

fueron utilizados en la evaluación de las enzimas tanto en el almidón como en la pulpa como sustrato.

4.1.2.3. Amiloglucosidasa de AB Enzymes: Nombre comercial Gammadex Cal de la casa comercial AB Enzymes GmbH, del *Aspergillus niger*. Valor de pH óptimo: 3,5 – 5,0 Temperatura Optima: 55 – 60°C. Valores óptimos que fueron utilizados en la evaluación de las enzimas tanto en el almidón como en la pulpa como sustrato.

4.1.2.4. Amiloglucosidasa de Sigma: Código A7095 de Sigma, del Aspergillus niger. Rango de temperatura entre 25 y 70 °C y el rango de pH está entre 3 y 6. Valores óptimos que fueron utilizados en la evaluación de las enzimas tanto en el almidón como en la pulpa como sustrato

4.1.2.5. Pululanasa de la casa comercial Sigma: Proveniente del *Bacillus subtilis* identificada con el numero E2412, sinónimo **Promozyme. La** concentración, la temperatura y el pH fueron evaluados para determinar su valor óptimo.

4.2. Métodos

4.2.1. Caracterización fisicoquímica de la materia prima.

La materia prima, diez cestas con un total de 300 kilogramos proveniente de los valles de Quibor en el estado Lara, fueron traslada a las instalaciones de la Planta piloto de la Fundación Ciepe, donde fueron pesadas y lavadas en la lavadora de cepillo con agua por aspersión con el fin de eliminar el sucio superficial, luego fueron colocadas en las cestas plásticas y almacenadas en la cava de refrigeración a 10 °C y 85 % de humedad relativa, ubicada en el laboratorio de post cosecha. Se tomaron muestras para la determinación de las características dimensionales, rendimiento, características fisicoquímica de la materia prima.

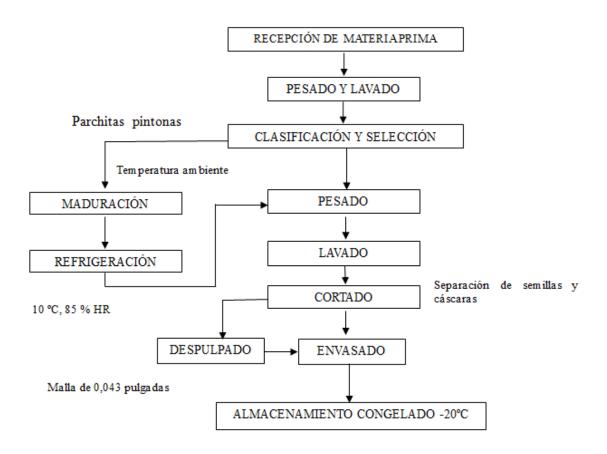


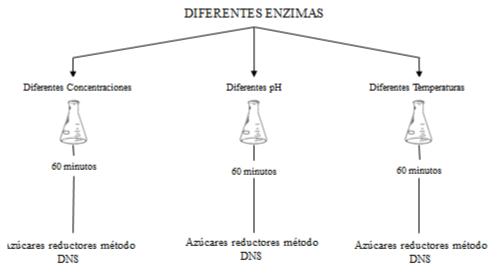
Figura 1. Esquema tecnológico para la producción de pulpa de parchita

4.2.3. Determinación de las condiciones óptimas de hidrolisis enzimáticas para las enzimas alfa amilasa, amiloglucosidasa y pululanasa utilizando el almidón de maíz como sustrato.

4.2.3.1. Esquema de utilización de las enzimas: En el cuadro 1 y las figura 2 se pueden visualizar el diseño experimental utilizado para cada una de los ensayos aplicados para cada enzima (alfa amilasa, amiloglucosidasa y pululanasa) de manera particular, para definir las condiciones más adecuadas de cada enzima. Se utilizó como sustrato una solución de almidón de maíz al 5%.

Cuadro 1. Evaluación de la concentración, pH, temperatura de las diferentes enzimas sobre almidón como sustrato

Enzimas	Concentración de enzima (% v/p)			рН			Temperatura (°C)		
Alfa amilasa sigma	2	3	4		5,0-5,5		40-60		
Alfa amilasa Abe Enzymes	2	3	4		4,8-5,5		50-55		
Amiloglucosidasa sigma	1	2	3		3,0-6,0		25-70		
Amiloglucosidasa Abe Enzymes	1	2	3		3,5-5,0			55-6	0
Pululanasa	1	2	3	4,6	5,6	6,6	40	50	60



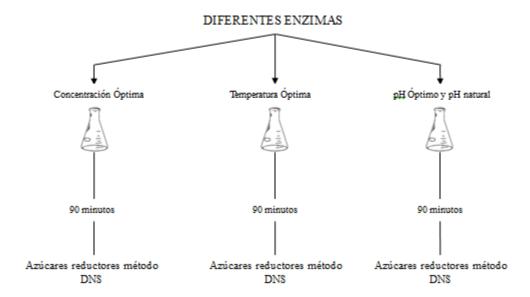
- Fiolas de 250 ml
- 25 ml de Almidón al 5 %
- Baño de María con agitador orbital 120 rpm
- Ajuste de pH con Ácido clorhídrico
- Control de temperatura con termostato

Figura 2. Evaluación de las diferentes enzimas sobre solución de almidón al 5% para definir las condiciones óptimas de concentración, pH y temperatura.

4.2.4. Evaluación de las mejores condiciones de hidrolisis enzimáticas sobre la pulpa de parchita

Cuadro 2. Comportamiento de la actividad enzimática en el tiempo para las diferentes enzimas bajo condiciones óptimas y bajo el pH natural de la pulpa de parchita.

Enzimas	Condiciones optimas				pH natural									
	Tiempo (minutos)				Tiempo (minutos)									
Alfa amilasa sigma	0	15	30	45	60	75	90	0	15	30	45	60	75	90
Alfa amilasa Abe Enzymes	0	15	30	45	60	75	90	0	15	30	45	60	75	90
Amiloglucosidasa sigma	0	15	30	45	60	75	90	0	15	30	45	60	75	90
Amiloglucosidasa Abe Enzymes	0	15	30	45	60	75	90	0	15	30	45	60	75	90
Pululanasa	0	15	30	45	60	75	90	0	15	30	45	60	75	90



- Fiolas de 250 ml
- 25 ml de pulpa de parchita
- Baño de María con agitador orbital 120 rpm
- Ajuste de pH con hidróxido de sodio
- Control de temperatura con termostato
- Muestreo cada 15 minutos por 90 minutos

Figura 3. Evaluación de la actividad enzimática sobre pulpa de parchita para las diferentes enzimas bajo condiciones óptimas de concentración, pH óptimo, pH natural y temperatura cada quince minutos durante un periodo de 90 minutos.

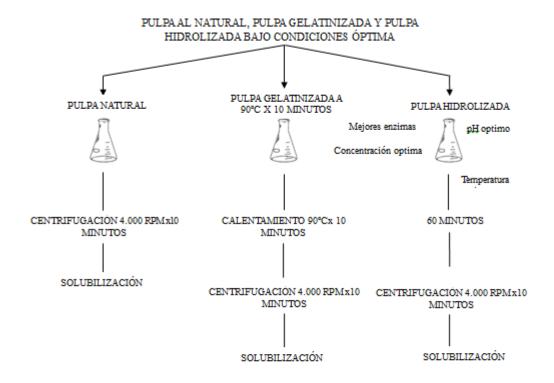


Figura 4. Evaluación de la solubilidad y sedimentación por centrifugación de la pulpa de parchita al natural, pulpa de parchita gelatinizada y pulpa de parchita hidrolizada con las mejores enzimas bajo condiciones optima de temperatura, concentración, pH en un tiempo de reacción de 60 minutos.

5. Resultados y discusión

5.1. Caracterización de la parchita amarilla

En el cuadro 3, se puede apreciar los valores obtenidos de las medidas físicas obtenidos, en la misma destaca que las dimensiones promedio de peso 179,01 g; diámetro de 7,47 cm, longitud 9,2 cm; y el ratio 1,23 están por encima de los valores reportados por Aular y Rodríguez (2003), Espinoza et al. (2008) y por Kulkani (2010), mientras que Sindoni et al. (2012) en estudio con 19 cultivares de parchita amarilla, el cultivar Anzoátegui, supera en el peso con 196,44 g y en diámetro con 7,87 cm, mas no en la longitud del mismo, mientras que el cultivar Flor Blanca, supera en diámetro con

7,85 pero la longitud es idéntica y el peso con 171,05 gramos está por debajo a los valores aquí alcanzado. Estas diferencias encontradas en las características físicas de los frutos, se deben a su estado de desarrollo así como en las condiciones diferencias climáticas, suelo, prácticas culturales y edad de las plantas.

Cuadro 3. Medidas físicas de la parchita procedentes de Quibor estado Lara

Muestra	Peso (g)	Diámetro (cm)	Longitud (cm)	L/D
1	184,2	7,3	8,9	1,22
2	146,6	7,5	8,4	1,12
3	252,1	7,6	9,9	1,30
4	174,5	7,6	8,9	1,17
5	128,5	7,4	8,9	1,20
6	152	7,4	9,4	1,27
7	215,2	7,5	10	1,33
PROMEDIO	179,01	7,47	9,2	1,23
Desviación estándar	42,88	0,11	0,59	0,08

Los resultados en el **cuadro 4,** muestra el rendimiento en pulpa obtenido en el cual se destaca que el mismo (45,39 %) está por encima a los valores alcanzado por Aular y Rodríguez (2003) de 41,86 %, Kulkani (2010) con 33,0 % y por Sindoni *et al.* (2012) con 33,45 % en la mejor de las 19 cultivos en estudio. Estas variaciones encontradas para el rendimiento en pulpa pueden ser atribuidas a las características genéticas del cultivo, al clima, a la nutrición, al riego, a las prácticas agrícolas y la edad de las plantas.

Cuadro 4. Rendimiento en pulpa obtenido de un lote de parchitas procedentes de Quibor estado Lara

Parchita	Peso (g)	Rendimiento (%)
Cascara	575,1	48,66
Pulpa	536,4	45,39
Semillas	70,3	5,95
Total	1181,8	100

En el **cuadro 5**, se muestran los resultados fisicoquímicos obtenidos de la pulpa de parchita y en él hay que destacar el contenido de almidón con un promedio de 3,47 % valor por encima al 3,0 % reportado por Kulkarni y Vijayanand (2010), esto puede ser resultado del grado de madurez del fruto, durante el cual se lleva a cabo la acción hidrolítica de amilasas presente de manera natural que intervienen en la hidrolisis del almidón.

En cuanto a los valores de pH, acidez, solidos solubles y ratio están por debajo a los valores reportados por Aular y Rodríguez (2003) de 2,78; 4,65; 17,08 y 3,76 respectivamente y los valores encontrados por Kulkarni y Vijayanand (2010), de 2,86; 4,02; 17,0 y 4,22; en ese mismo orden de idea, esta variabilidad puede estar influenciado por las características genéticas del cultivo aunado a factores agronómicos climáticos los cuales influyen en la calidad del producto final.

Cuadro 5. Características físico-química de la pulpa de parchitas procedentes del Quibor estado Lara

Características	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Promedio
Almidón (%)	3,88	3,27	3,27	3,47
рН	2,991	2,994	2,999	2,99

Sólidos solubles(°Brix)	14,8	14,8	14,8	14,8
Acidez (% ácido citrico)	3,98	3,98	3,98	3,98
Ratio °Brix/ácidez	3,72	3,72	3,72	3,72
Humedad (%)	84,37	84,27	84,38	84,34
Sólidos Totales (%)	15,63	15,73	15,62	15,66
Azúcares Reductores (%)	7,33	7,33	7,33	7,33
Azúcares Totales (%)	13,07	13,07	13,07	13,07
Color L x b /a	138,54	141,10	134,98	138,20
Vitamina C (mg/100 g)	15,9	15,7	15,7	15,77
Potasio (% p/p)	2,37	2,35	2,41	2,38
Calcio (% p/p)	0,027	0,024	0,021	0,024
Fibra (% p/p)	0,32	0,38	0,41	0,37
Pectina (% p/p Pectato de calcio)	0,037	0,052	0,055	0,048
Viscosidad (cp.)	1,72	1,69	1,75	1,72

5.2. Condiciones óptimas de la hidrolisis enzimática de las enzimas alfa amilasa, amiloglucosidasa y pululanasa.

En la **figura 5**, se destaca que las enzimas alfa amilasa de las casa comerciales Sigma y Abe Enzymes presentaron 4 % de concentración de sustrato como óptimos para una mayor actividad enzimática y de 2 % para el resto de las enzimas en estudio para una mayor actividad enzimática, valores que determinaron la concentración a ser utilizada durante los ensayos aplicados. Se destaca que las enzimas pululanasa y amiloglucosidasa de la casa sigma presentaron mayor niveles de actividad enzimática en la producción de glucosa con respecto al resto de las tres enzimas.

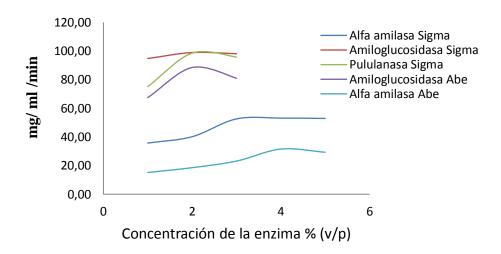


Figura 5. Hidrólisis enzimática de diferentes enzimas a diferentes concentraciones sobre solución de almidón maíz al 5 %, bajo condiciones optimas de temperatura y pH.

En la **figura 6**, se reflejan que el pH óptimo alcanzado fue de 4,6 para la enzima pululanasa con una variación de actividad enzimática muy baja entre el 6 y 1 % para los pH 5,6 y 6,6 valores muy parecido fueron logrados en otros estudios a pH de 5,0 por Roy **et al.** (2003) y Wu **et al.** (2009), pH de 5,9 por Kriegshauser y Liebl, (2000); pH de 6,0 alcanzado Kuroiwa **et al.** (2005) Citados todos por Zhang y Jin, (2011).

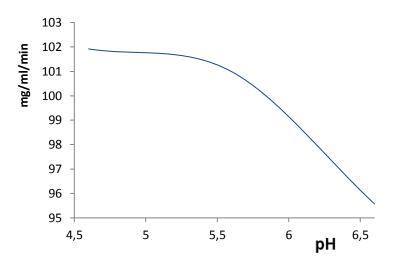


Figura 6. Actividad enzimatica de la enzima pululanasa al 2% sobre una solución de 5 % de almidon a diferentes pH a 40 °C en un tiempo de reacción de una hora

En cuanto, a los valores de temperatura óptima alcanzada fue de 60° Celsius como se puede visualizar en la **figura 7**, pero con una variación de 27 y 4 % de actividad enzimática para las temperaturas de 40 y 50° C respectivamente. Este valor es igual al alcanzado por Swamy y Seenayya, (1996), hay reporte donde se han alcanzado valores óptimos de 75 °C (Kuriki, Park, y Imanaka, 1990; Messaoud, Ammar, Mellouli, y Bejar, 2002), y de 90 °C por Badal, Saha, y Zeikus, 1989; Kriegshauser y Liebl, (2000) Citados por Zhang y Jin, (2011). Estas diferencias pueden ser debido al tipo de sustrato y origen de la enzima utilizada.

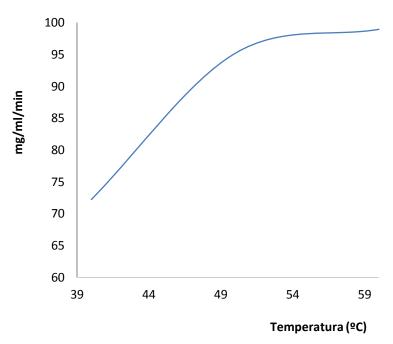


Figura 7. Efecto de la temperatura sobre la producción de glucosa por la enzima pululanasa

En la **figura 8**, se reflejan el comportamiento cinético de las diferentes enzimas en el tiempo en la producción de glucosa a partir de almidón de maíz bajo condiciones óptimas de concentración, pH y temperatura, donde se destaca que la enzima pululanasa presentó una mayor actividad enzimática en cantidad y tiempo desde el momento en que se inició la reacción y alcanzó su mayor producción a los 15 minutos, punto desde el cual se aprecia una marcada y paulatina caída durante el tiempo en estudio, todas las demás enzimas reflejan un comportamiento parecido y hay una diferencia entre 16 y 65 % de actividad enzimática entre la mayor y menor actividad enzimática en su punto óptimo, siendo la alfa amilasa de sigma la que mostró los niveles más bajos. Casimir (1981), reporta que el contenido de amilosa en pulpa de parchita es de 8,7 % de allí que esto influya en la baja capacidad enzimática de la alfa amilasa la cual rompe al azar solo los enlaces alfa (1,4), es probable que esto impida un fácil acople de la enzima con el sustrato.

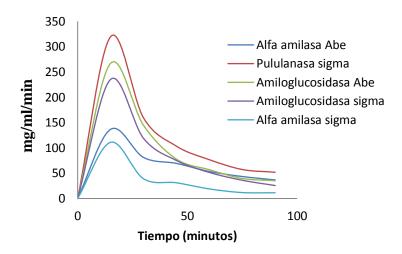


Figura 8. Comportamiento de la actividad enzimática de las diferentes enzimas en el tiempo sobre almidon de maiz al 5 % como sustrato

Trabajo realizado por Hyun y Zeikus (1985), sobre extractos enzimáticos segregados por el *Clostridium thermohydrosulfuricum*, destacan que la alfa amilasa presentó mayor actividad enzimática que las enzimas pululanasa y glucoamilasa sobre almidón soluble. Además este valor está en un 63,8 % por encima del valor logrado por Ling *et al.* (2009). Cabe destacar que Asgher *et al.* (2007) en trabajo con alfa amilasa del *Bacillus subtilis* alcanzaron el punto máximo de actividad enzimática de 44,48 U/ml, a la a las 48 horas de reacción, lo cual representa un 59,80% por debajo al alcanzado por la alfa amilasa en este estudio. Estas diferencias tan marcadas están influenciadas por diferentes factores como origen de la enzima, el tipo de sustrato utilizado, así como las condiciones bajo el cual se haga el estudio.

5.3. Evaluación de las mejores condiciones de hidrolisis enzimática de las enzimas alfa amilasa, amiloglucosidasa y pululanasa sobre la pulpa de parchita.

En la figura 9, están representados el comportamiento enzimático de las diferentes enzimas en estudio bajo condiciones óptimas sobre la pulpa de parchita, en donde se puede apreciar que la enzima con mejores resultados en actividad enzimática lo presenta las enzimas amiloglucosidasa de Abe Enzymes y la pululanasa alcanzando a los 15 minutos valores de 104,98 y 40,94 mg/ml/min, respectivamente esto representa una diferencia de 61 % entre ambas enzimas, la enzima pululanasa presenta una actividad enzimática estable durante los 120 minutos de evaluación y la amiloglucosidasa de Abe Enzymes presentó los resultados más alto en menor tiempo. La alfa amilasa de Abe presentó los valores más bajo, estos resultados pueden estar influenciado por la presencia de componentes naturales de la pulpa de parchita que inhiben la reacción enzimática.

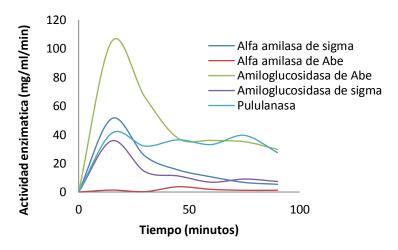


Figura 9. Comportamiento de la actividad enzimática de las diferentes enzimas sobre la pulpa de parchita en el tiempo bajo condiciones óptimas

En la **figura 10**, se puede apreciar de manera comparativa los mejores resultados logrados con el almidón y la pulpa de parchita como sustrato y en donde aprecia de manera marcada la diferencia entre ambas enzimas estando ambas

sometidas a sus condiciones óptimas de concentración, pH y temperatura, cabe destacar además que las mejores enzimas son la pululanasa en el almidón y la amiloglucosidasa de Abe Enzymes en la pulpa de parchita pero con una marcada diferencia en el punto óptimo de 67,15 % a favor de la pululanasa, es evidente que los diferentes elementos que constituyen la pulpa de parchita determinan que hay elementos inhibitorios que afectan de manera significativa la actividad enzimática de las enzimas en general.

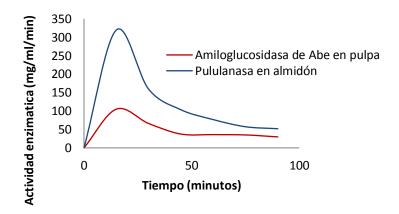


Figura 10. Representación comparativa de los mejores resultados de actividad enzimatica en su respectivos sustratos

En la **figura 11**, está reflejado el comportamiento de las diferentes enzimas bajo sus condiciones óptimas de concentración y temperatura pero sin realizar ajustes en el pH natural que posee la pulpa de parchita (2,99), se puede destacar que la enzima con mejores resultados en la mayor actividad enzimática es la amiloglucosidasa de Abe Enzymes con 30,53 mg de glucosa/ml/min, este valor representa una disminución de 70,92 % con respecto al valor obtenido con ajuste al pH óptimo de la enzima, hecho

que determina que el pH de 2,99 de la pulpa, afecta significativamente la actividad enzimática, lo que a su vez puede estar influenciada por la presencia de elementos inhibitorios constituyente de la pulpa. La gran mayoría de las enzimas amilolíticas de diferentes orígenes poseen un amplio rango de acción de pH, pero son pocas las que tienen como optimo el valor de la pulpa, Pandey *et al*, (2000) reportan una alfa amilasa segregada por el *Alicyclobacillus acidocaldarius* con pH óptimo de 3,0.

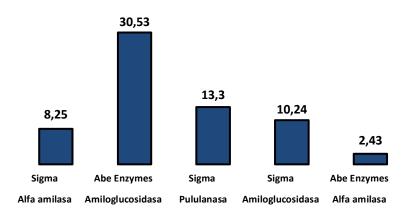


Figura 11. Actividad enzimática de las diferentes enzimas sobre la pulpa de parchita sin ajustar el valor de pH natural de la pulpa de 2.99

En el **cuadro 7** se muestra como la pulpa en estado natural al ser sometida a calentamiento aumenta su contenido de solidos insolubles en 3,24 puntos lo que hace inferir que macromoléculas como el almidón, pectina y celulosa que a pesar que se encuentran en bajas cantidades sufren alteraciones en su estructura que afectan la solubilidad de los mismos, como es el fenómeno de gelatinización en el caso de los almidones, Casimir *et al.* (1981) reporta que el almidón de la pulpa de parchita a 80 °C por cinco (5) minuto alcanza un máximo en la gelatinización del mismo. Además se destaca como la enzima amiloglucosidasa de la casa comercial AB Enzymes aportó un mayor grado de solubilidad con 2,25 % que la pululanasa con 1,09 %, corroborando los

resultados anteriormente obtenidos cuando la variable medida eran los azucares reductores.

Cuadro 7. Resultados comparativos de muestras centrifugadas de pulpa hidrolizada con las dos mejores enzimas bajo condiciones óptimas.

MUESTRAS	Sobrenadante (%)	Sedimento
Pulpa de parchita	83,54	16,46
Pulpa sometida a 90 °C x 10 minutos	80,30	19,70
Pulpa hidrolizada con pululanasa por 1 hora de incubación	83,72	16,28
Pulpa hidrolizada con amiloglucosidasa de AB Enzymes por una hora de incubación	83,91	16,09

Centrifugación 4.000 rpm x 10 minutos

6. Conclusiones

La pulpa de parchita utilizada en el estudio presentó una composición que se puede considerar dentro de los valores reflejados por trabajo previos en la caracterización de la misma destacando el valor de almidón con un valor de 3,47 %

Las enzimas alfa amilasa de sigma y Abe Enzymes Gammafungase A65L bajo condiciones óptimas alcanzó el mayor grado de hidrólisis a la concentración de 4 % v/p.

Las enzimas amiloglucosidasa de sigma, Gammadex Cal de Abe Enzymes presentaron su mayor actividad enzimática a la concentración de 2 % v/p.

La enzima pululanasa de sigma logró sus condiciones óptima de actividad enzimática a la temperatura a 60 °C, pH de 4,6 y concentración de enzima de 2 % v/p.

La enzima pululanasa y amiloglucosidasa son las mejores cuando se evalúa la concentración y la velocidad de reacción sobre almidón de maíz como sustrato.

Cuando se trata de la pulpa de parchita, La amiloglucosidasa Gammadex cal de Abe Enzymes, resulta ser la mejor enzima con y sin ajuste de pH y cuando se evalúa tanto con el método de azúcares reductores, como con por el método centrifugación.

7. Referencias bibliográficas

- Asgher, Asad, Rahman, y Legge (2007) a thermostable a-amylase from a moderately thermophilic Bacillus subtilis strains for starch processing. Journal of Food Engineering 79, 950–955.
- 2. Aular, Jesús; Rodríguez, Yesenia. (2003). Algunas características físicas y químicas del fruto de cuatro especies de Passiflora. *Bioagro,* enero, 41-46.
- 3. Carrín, M.; Ceci, L. y Lozano J. (2004). Characterization of starch in apple juice and its degradation by amylases. Food Chemistry 87, 173–178.

- 4. Casimir D.; Kefford, J. y Whitfield. F. (1981). Technology and flavor chemistry of passion fruit juices and concentrates. Advances in Food Research, 27, 247-295.
- Espinoza, A. Arreaza, R. Cardona, E. Méndez, J. Cañizares A. y Buonafina O. (2008). Efecto del empaque, temperatura y tiempo de almacenamiento sobre Características físicas de fruto de parchita (*Passiflora edulis f. flavicarpa Degener*). Revista tecnológica ESPOL. Vol. 21 N. 1, 55-63.
- Flores Pardo Luz Marina, Fernández Alejandro, Martínez Navarrete Nuria (2007). Hidrolisis Enzimática de los sólidos insolubles de la pulpa de Maracuyá. Alimentos Hoy Vol. 10, Nº 10
- 7. Hyun HH y Zeikus JG. (1985). General Biochemical Characterization of Thermostable Pullulanase and Glucoamylase from Clostridium thermohydrosulfuricum. Appl Environ Microbiol. May;49(5):1168–1173.
- Kulkani S. y Vijayanand P. (2010). Efecto de las condiciones de extracción sobre las características de la pectina de la piel del fruto de la pasión (*Passiflora edulis f. flavicarpa L.*) LWT Food Science and Technology. 43, 1026-1033.
- 9. Ling, Ling, Mohamad y Ariff (2009). Characterization of Pullulanase Type II from *Bacillus cereus* H1.5. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 5 (4): 170-179.
- Pandey, A. Nigam. P. Soccol C. Soccol. V. Singh. D. y Mohan, R. (2000). Review
 Advances in Microbial Amylases. Biotechnol. Appl. Biochem. 31, 135–152
- 11. Sindoni, Hidalgo, Castellanos y Marín (2012). Parámetros de calidad de 19 cultivares de parchita (*Passiflora* sp.) al sur del estado Anzoátegui, Venezuela Revista Científica UDO Agrícola 12 (2): 245-252.

12. Zhang y Jin (2011). Preparation of resistant starch by hydrolysis of maize starch with pullulanase Carbohydrate Polymers 83, 865–867