

Modelamiento de la tasa de respiración de banano, variedad *Gross Michel*, basado en las ecuaciones de la cinética enzimática de Michaelis-Menten

Modelling of banana rate respiration, *Gross Michel* variety, based on the Michaelis-Menten Enzyme kinetics equations

Barrero M., O.¹ y Urrea S., Jorge W.¹

Resumen. Actualmente, las técnicas de almacenamiento, como las cámaras de atmósfera controlada para la preservación de frutas y verduras frescas, han cobrado mucha importancia. El objetivo de este tipo de cámaras es reducir y controlar la rata de respiración del producto almacenado de una forma eficiente por medio de un sistema de control automático; de aquí que es de gran importancia conocer y modelar matemáticamente el proceso de respiración de los productos que se van a almacenar. El presente artículo presenta los métodos y resultados para determinar un modelo de la rata de respiración de banano variedad *Gross Michel*, cultivado en el departamento del Tolima, basados en las ecuaciones de la cinética enzimática Michaelis-Menten. Para esto, se hicieron pruebas de laboratorio a las condiciones atmosféricas y de temperatura recomendadas para almacenamiento de banano, usando sensores de medición en línea de CO₂, O₂ y temperatura. Luego, utilizando técnicas de ajuste de datos basados en mínimos cuadrados, se encontró que la ecuación que más se ajusta al proceso de respiración, de esta variedad de banano, es la ecuación de la inhibición incompetitiva.

Palabras clave: atmósfera controlada, ecuaciones de Michaelis-Menten, rata de respiración.

Abstract. Currently, storage techniques like atmosphere controlled to preserve fresh fruits and vegetable has taken a lot of importance. The goal of this kind of technology

I Grupo D + TEC, Universidad de Ibagué. Correo electrónico: oscar.barrero@unibague.edu.co y jorge.urrea@unibague.edu.co

is to reduce and control the respiration rate of the product in an efficient way, using an automatic control system, hence it is important to know and model mathematically the respiration process of the product to be storage. This paper shows the methods and results to determine which Michaelis-Menten enzyme kinetic equation best fits the respiration rate of the banana *Gross Michel* variety cultivated in the department of Tolima, Colombia. For this, some laboratory tests were done at recommended atmospheric and temperature conditions for banana storage, using sensors for online measuring of CO₂, O₂ and temperature. Then, using data fitting techniques based on least squares, it turns out that the equation that best fits the breathing process is the equation of noncompetitive inhibition.

Keywords: controlled atmosphere, Michaelis-Menten equations, respiration rate.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, existen muchos desarrollos en técnicas de almacenamiento para productos frescos (Kader, 2005; Barreiro y sandoval, 2006; Elhadi, 2009; ONU y FAO, 1993; Nahor, 2004; Riveros et al., 2002; U.S, 2005) y entre los más importantes encontramos las cámaras de atmósfera controlada (Elhadi, 2009; Nahor et al., 2005; Saltveit, 2003; Veltman. et al., 2003). En estas lo que se busca es controlar y reducir la rata de respiración del producto almacenado, controlando las concentraciones de CO₂ y O₂ dentro de la cámara a través de un sistema de control automático (Ravindra, 2008; Saltveit, 2003; Veltman et al, 2003). Ahora, para poder diseñar estos sistemas de control automático para que funcionen de una forma eficiente, es necesario tener modelos matemáticos dinámicos del proceso que se va a controlar que, para nuestro caso, sería la tasa de respiración. Aunque existe literatura internacional acerca de las metodologías para calcular estos modelos de respiración (Bhande et al., 2008; Fonseca et al., 2002; Ravindra, 2008), en Colombia falta hacer más investigación al respecto. Por eso, es importante estudiar y modelar este proceso en las frutas tropicales y vegetales que se producen en nuestra región.

El ciclo biológico de todos los productos hortofrutícolas frescos depende del proceso de respiración de estos, el cual es el es que determina la rapidez con que el producto llega a su estado de madurez óptimo para el consumo humano (Kader, 2005; Barreiro et al., 2006; Coba, 1988). Por lo tanto, el estudio del proceso de respiración nos podría llevar a poder controlar el proceso de maduración de los productos frescos y, por ende, alargar la vida útil de estos. Desde la década de los noventa, muchos científicos han estudiado este proceso, y hoy en día podemos encontrar mucha literatura

al respecto (Bhande, et al., 2008; Fonseca et al., (2002); Ravindra, 2008; Peppenlenbos, (1995); Kays, (1991); por ejemplo en (Fonseca et al., 2008) encontramos una vasta revisión de estos modelos. Basados en esta literatura, lo que se pretende en este artículo es caracterizar el banano tipo Gross Michel de acuerdo con las ecuaciones enzimáticas de Michaelis-Menten, de tal forma que esto sirva de base para desarrollo de sistemas avanzados de almacenamiento, como las cámaras de atmósfera controlada.

Las ecuaciones postuladas con respecto a las reacciones enzimáticas son las adecuadas para este tipo de proceso, debido a que la respiración de los productos hortofrutícolas frescos consiste en un consumo de O_2 como consecuencia de una serie de reacciones enzimáticas que se originan por la oxidación catabólica de sustancias orgánicas a moléculas más simples, incluso agua y CO_2 , con liberación de energía. Las sustancias orgánicas pueden ser carbohidratos, lípidos y ácidos orgánicos. De aquí que Michaelis-Menten postulara una serie de teorías y ecuaciones de acuerdo con la cinética enzimática (Fogler, 2010; Peppenlenbos, 1995).

Por lo tanto, una forma de modelar la tasa de respiración del banano fresco es basándonos en los modelos generales bioquímicos de cinética enzimática de Michaelis-Menten (Barreriro, 2006; Taiz, (2007); Peppenlenbos, 1995). Para esto, mediante pruebas de laboratorio a diferentes condiciones de temperatura y concentración de gases, se pueden calcular los parámetros de los diferentes tipos de modelos de Michaelis-Menten mediante técnicas de ajuste lineal (Bhande et al., 2008; Fonseca et al., 2002, Ravindra, 2008; Hagger, 1992). Finalmente, mediante la raíz del error medio cuadrático (RMSE), podemos encontrar la ecuación que mejor se ajusta a la tasa de respiración del producto en estudio.

2. METODOLOGÍA

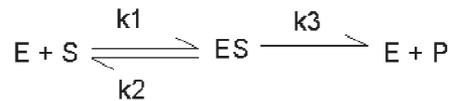
Teniendo en cuenta que Colombia es el cuarto productor de banano en el mundo, según las estadísticas de la FAO (2005), en este artículo se tomó el banano como la fruta de estudio. Adicionalmente, lo que se busca con los resultados obtenidos en esta investigación es que sirvan como base para el desarrollo de sistemas de control automático avanzados del almacenamiento de banano en cámaras de atmósfera controlada.

La cinética de Michaelis-Menten es un modelo general bioquímico, el cual puede describir el comportamiento dinámico de la respiración de las frutas y hortalizas de una forma adecuada (Peppenlenbos, 1995). Para poder obtener los parámetros de

este modelo, se llevaron a cabo pruebas de laboratorio a condiciones dadas de concentración de O_2 y CO_2 , con el fin de ajustar los parámetros de las diferentes ecuaciones de Michaelis-Menten. Finalmente, con esta información se escoge la ecuación que más se ajusta al comportamiento dinámico del producto en estudio.

Ecuación de Michaelis-Menten

Michaelis-Menten propusieron un modelo general bioquímico que explica la mayoría de reacciones enzimáticas. Para iniciar el desarrollo del modelo se plantearon que estas se dan en dos etapas; en la primera ocurre la formación del complejo enzima-sustrato en una combinación reversible, y en la segunda este complejo se rompe con el fin de formar el producto y, por ende, liberar la enzima libre. La reacción se muestra a continuación:



Donde:

E: enzima libre

S: sustrato

ES: complejo enzima-sustrato o complejo Michaelis-Menten

K_1 , K_2 y K_3 : constantes de velocidad de la reacción

P: producto

El modelo propuesto por Michaelis-Menten solo es válido bajo dos condiciones: cuando la concentración del sustrato es mayor que la concentración de la enzima, y cuando el proceso se encuentre en estado estacionario, es decir, cuando la concentración del complejo enzima-sustrato es constante.

La ecuación de Michaelis-Menten que describe la variación de la velocidad de reacción con respecto a la concentración del sustrato es:

$$RCO_2 = \frac{V_m[O_2]}{K_m + [CO_2]} \text{ Ecuación 1.}$$

Donde:

v : velocidad inicial de la reacción [ml/(kg-h)]

V_m : velocidad máxima de la reacción [ml/(kg-h)]

$[CO_2]$: concentración de CO_2 [fracción]

K_m : constante de Michaelis-Menten [ml/(kg-h)]

$[O_2]$: concentración de O_2 [fracción]

Otros modelos propuestos por Michaelis-Menten son los siguientes:

$$K_m = \frac{K_2 + K_3}{K_1} \text{ Ecuación 2.}$$

Inhibición competitiva

$$RCO_2 = \frac{V_m [O_2]}{K_m * \left(1 + \frac{[CO_2]}{K_i}\right) + [O_2]} \text{ Ecuación 3}$$

Inhibición incompetitiva

$$RCO_2 = \frac{V_m [O_2]}{K_m + \left(1 + \frac{[CO_2]}{K_i}\right) [O_2]} \text{ Ecuación 4}$$

Inhibición anticompetitiva

$$RCO_2 = \frac{V_m [O_2]}{(K_m + [O_2]) * \left(1 + \frac{[CO_2]}{K_i}\right) [O_2]} \text{ Ecuación 5}$$

Cálculo de la tasa de respiración del banano Gross Michel

Para determinar la tasa de respiración se realizó un montaje tipo respirómetro estático (ver figura 1) donde se monitorean en línea las variables que afectan el proceso de respiración de las frutas, tales como la temperatura y la concentración de O_2 y CO_2 .

Los sensores que se usaron para esta prueba fueron los siguientes: sensor de concentración de CO_2 marca Vaisala, modelo GM220 0-20%, sensor de concentración de O_2 marca Vernier, modelo VER O2-BTA 0-27%, y para temperatura, un RTD 0-100 ohm. Las señales eléctricas de estos sensores son sometidas a un acondicionamiento electrónico y se envían a un PC por medio de una tarjeta de adquisición de datos. Finalmente, se tiene una aplicación de *software* en Lab view de National Instruments, la cual nos sirve para la captura de los datos y el control de temperatura del cuarto frío. El cuarto frío tiene un volumen de 1 m^3 , dentro del cual se coloca un frasco de vidrio de 5 L herméticamente sellado con la muestra de banano que se va a estudiar. Los sensores se instalan en el frasco de tal forma que no haya fuga de gases como se muestra en la figura 1.

Antes de empezar la prueba, la muestra de banano debe enfriarse a la temperatura del cuarto frío que son $13 \text{ }^\circ\text{C}$, luego la muestra se dispone dentro del respirómetro y se empieza el monitoreo; para esta temperatura tomamos un tiempo de muestreo de 1 h, porque es el tiempo en el cual vemos cambios significativos en las concentraciones de O_2 y CO_2 . La prueba se detiene cuando la concentración de CO_2 ha superado el 18%, porque la fruta entra en un estado de respiración anaerobia, o cuando no hayan cambios significativos en la concentración de CO_2 . Los datos tomados de la prueba se someten a un proceso de filtrado para eliminar el ruido de medición por medio de un filtro digital pasa-bajos de segundo orden, con el fin de realizar el cálculo de la tasa de respiración de acuerdo con la siguiente ecuación (Kays, 1991),

$$RCO_2 = \left[\frac{[CO_2]_{t+1} - [CO_2]_t}{\Delta t} \right] \frac{V_{\text{libre}}}{W_{\text{fruta}}} \text{ Ecuación 6.}$$

Donde:

RCO_2 : es la tasa de respiración en función de CO_2 (ml/kg-h)

$[CO_2]$: concentración de dióxido de carbono (fracción)

: delta del tiempo (h)

V_{libre} : volumen libre de respiración (ml)

W_{fruta} : peso de la fruta (kg)



Fig. 1.Respirómetro estático con sensores para medición en línea de CO₂, O₂, humedad relativa y temperatura. (Fuente: Los autores).

Ajuste a los modelos de cinética enzimática propuestos por Michaelis-Menten

Cada uno de los modelos matemáticos de la cinética enzimática propuestos por Michaelis-Menten dependen de los parámetros V_m , K_m y K_i , que deben de ser ajustados de acuerdo con el comportamiento dinámico que se quiere describir. Para esto, se hizo un ajuste de mínimos cuadrados no lineal, donde los parámetros del modelo se calculan minimizando la siguiente función de costo:

$$\min_x (F(x, xdata_i) - ydata_i)^2$$

$$\text{s.t. } x > 0,$$

Donde:

x : son los parámetros de las ecuaciones de Michaelis-Menten.

Finalmente, se hace una verificación cuantitativa del ajuste de cada modelo con los datos medidos utilizando el RMSE. Entre más pequeño sea el valor del RMSE, mejor el ajuste de la ecuación del modelo. El modelo que se escoge es el que obtenga un menor RMSE.

Se experimentó a una temperatura de 13°C, basados en la tabla de temperaturas re-

comendadas para almacenamiento de frutas frescas (Coba, 1998). Se realizaron dos pruebas para generar mayor confiabilidad en los datos.

3. RESULTADOS

Los datos obtenidos de consumo y producción de O_2 y CO_2 , respectivamente, se pueden observar en la figura 2 y 3.

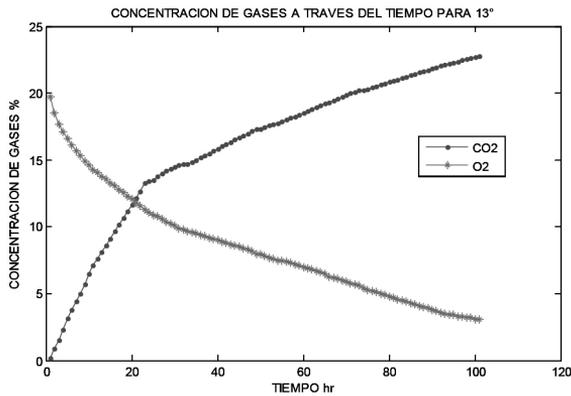


Figura 2. Datos de la concentración de gases (O_2 y CO_2) en el transcurso del tiempo a temperatura de 13°C

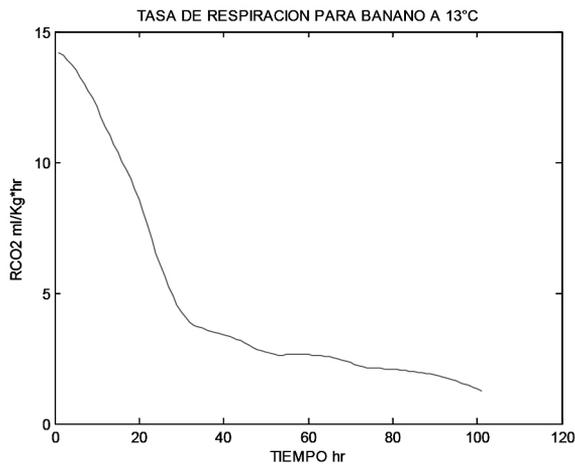


Figura 3. Tasa de respiración en el transcurso del tiempo a temperatura de 13°C

En las figuras 4, 5, 6 y 7, se observa el ajuste de cada uno de los modelos con RCO_2

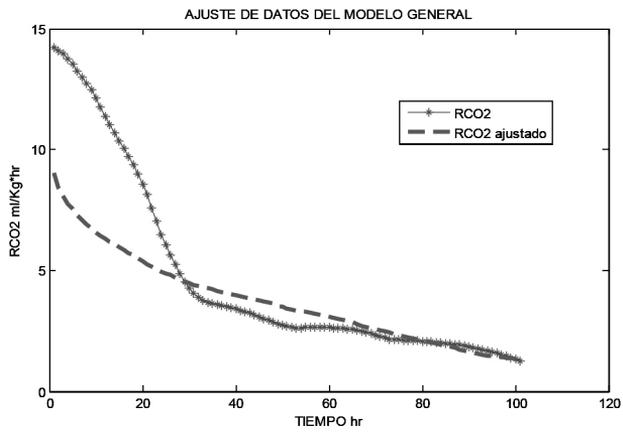


Figura 4. Tasa de respiración real y estimada para el modelo general de Michaelis-Menten

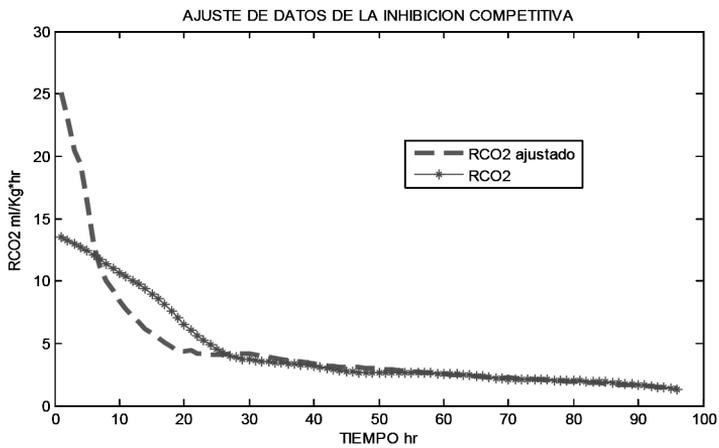


Figura 5. Tasa de respiración real y estimada para el modelo de la inhibición competitiva de Michaelis-Menten

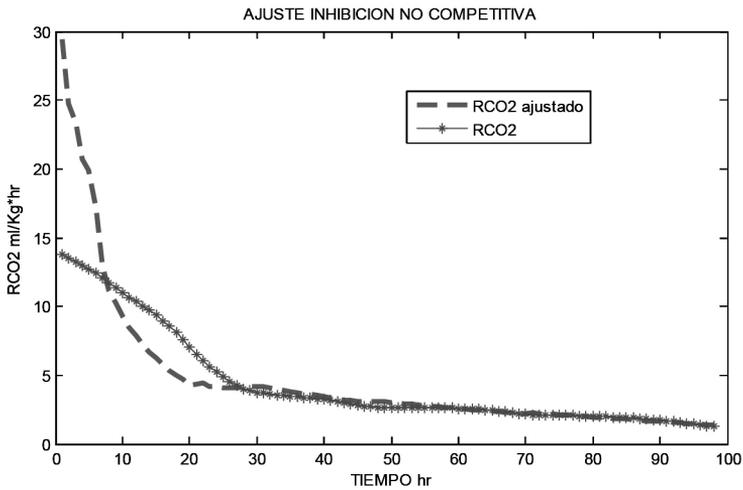


Figura 6. Tasa de respiración real y estimada para en modelo de la inhibición incompetitiva de Michaelis-Menten

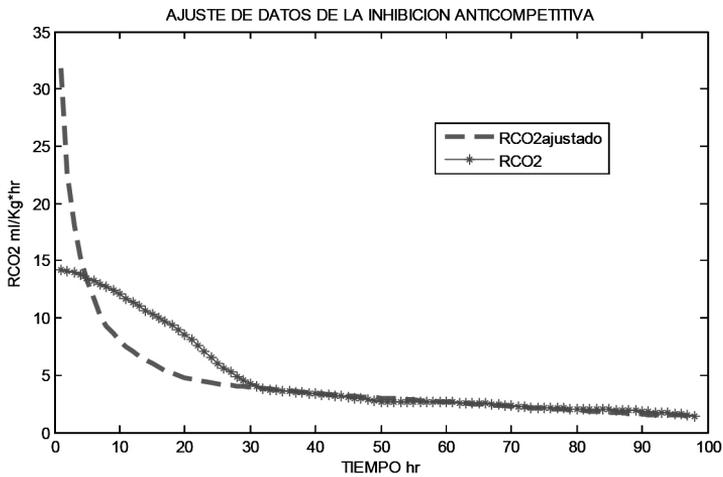


Figura7. Tasa de respiración real y estimada para en modelo de la inhibición anticompetitiva de Michaelis-Menten

De las figuras anteriores se calcula el RMSE. Los resultados son mostrados en la tabla 1 y en la figura 7.

Tabla 1. RMSE para cada uno de los modelos de cinética enzimática propuestos por Michaelis-Menten

Modelo	RMSE
Inhibición competitiva	0,697
Inhibición incompetitiva	0,673
Inhibición anticompertitiva	0,696

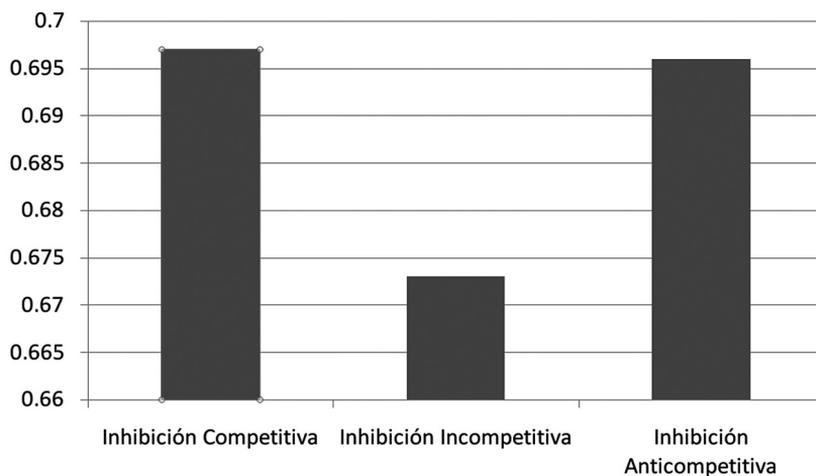


Figura 1. RMSE para cada uno de los modelos de cinética enzimática propuestos por Michaelis-Menten

Como se puede observar en la figura 7, el modelo que mejor se ajusta a los datos obtenidos de la experimentación con banano fresco a 13°C es el de la inhibición incompetitiva (ver ecuación 5). Los parámetros para este modelo son los siguientes: $V_m = 32$, $K_m = 0,017$, $K_i = 0,086$.

De aquí que la ecuación que mejor describe el comportamiento de la respiración del banano tipo Gross Michel es la siguiente:

$$RCO_2 = \frac{32[O_2]}{0.017 + \left(1 + \frac{[CO_2]}{0.086}\right)[O_2]} \quad \text{Ecuación 4}$$

4. CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos, encontramos que los modelos de la cinética enzimática se ajustan bien a la rata de respiración de las frutas y en nuestro caso al del banano tipo Gross Michel, cultivado en el departamento del Tolima, Colombia. El modelo matemático que mejor se ajustó fue el de la inhibición incompetitiva, reforzando los resultados encontrados en Bhande et al., 2008. Por lo tanto, este modelo se puede tomar como base para otros desarrollos, como los sistemas de control para cámaras de atmósfera controlada, los cuales se están trabajando en el grupo D+TEC de la Universidad de Ibagué.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección de Investigaciones de la Universidad de Ibagué y al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (Colciencias) con el Programa de Jóvenes Investigadores por hacer posible el desarrollo de esta investigación.

REFERENCIAS

- Kader, del A. (2005). *Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha*. Davis, CA (Estados Unidos): Universidad of California, Department of Pomology.
- Barreiro, J. A. y Sandoval, A. J. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*. Caracas: Editorial Equinoccio.
- Coba, O. y Guanaluiza, M. (1988). Maduración artificial de bananos Cavendish y Gross Michel utilizando compuestos de etileno. Tesis de grado, Ambato (Ecuador), Universidad Técnica de Ambato.
- Elhadi M. Yahia (ed.) (2009). *Modified and controlled atmospheres for the storage, transportation, and packaging of horticultural commodities*. CRC Press.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (1993). *Prevención de pérdidas de alimentos poscosecha: frutas, hortalizas, raíces y tubérculos*. Roma: FAO.
- Fogler, H. S. (2001). *Elementos de ingeniería de las reacciones químicas* (3.ª ed.). México: Pearson Educación.
- Nahor, H. B. (2004). *A continuous/discrete event modeling methodology for simulating controlled atmosphere cool storage systems*. Tesis de doctorado, Bélgica, Universidad Católica de Lovaina.
- Riveros, H. et al. (2002). *Gestión de agronegocios en empresas asociativas rurales*. Curso de

- capacitación. Módulo 4: Poscosecha y servicios de apoyo a la comercialización. Lima: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).
- Bhande, S.D.; Ravindra, M.R., y Goswami, T.K. (2008). Respiration rate of banana fruit under aerobic conditions at different storage temperatures. *Journal of Food Engineering*, 87, 116-123.
- Taiz, L. y Zeiger, E. (2007). *Fisiología vegetal*. Editorial Universitat Jaume I.
- Toledo, R. T. (1999). *Fundamentals of food process engineering*. Maryland: Aspen Publication.
- U.S Department of Agriculture (2005). The commercial storage of fruits, vegetables and florist and nursery stocks. *Handbook No. 66*.
- Fonseca, S.C.; Oliveira, F.A.R., y Brecht, J.K. (2002). Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified Atmosphere package: a review. *Journal of Food Engineering*, 52, 99-119.
- Ravindra, M.R. y Goswami, T.K. (2008). Modelling the respiration rate of green mature mango under aerobic conditions. *Biosystems Engineering*, 99, 239-248.
- Hagger, P.E.; Lee, D.S., y Yam, K.L. (1992). Application of an enzyme kinetics based respiration model to closed system experiments for fresh produce. *Journal of Food Process Engineering*, 15, 143-157.
- Nahor, H.B. et al. (2005). A continuous/discrete simulation of controlled atmosphere (CA) cool storage systems: validation using industrial CA cool storage. *International Journal of Refrigeration*, 28, 461-470.
- Peppenlenbos, H. W. y Leven, J. V. (1995). Evaluation of four types of inhibition for modeling the influence of carbon dioxide on oxygen consumption of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 7, 27-40.
- Saltveit, M. E. (2003). Is it possible to find an optimal controlled atmosphere? *Postharvest Biology and Technology*, 27, 3-13.
- Veltman, R.H. et al. (2003). Dynamic control system (DCS) for apples (*Malus domestica* Borkh. cv 'Elstar'): optimal quality through storage based on product response. *Postharvest Biology and Technology*, 27, 79-86.
- Kays, S. J. (1991). *Metabolic processes in harvested products respiration. Post harvest physiology of perishable plant products*. Van Nostrand Reinhold Publication, NY

Referencia	Fecha de recepción	Fecha de aprobación
Barrero M. Oscar y Urrea S. Jorge W. Modelamiento de la rata de respiración de banano, variedad Gross Michel, basado en las ecuaciones de la cinética enzimática de Michaelis-Menten Revista Tumbaga (2012), 7, 101-114	Día/mes/año 14/03/2011	Día/mes/año 17/07/2011