



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

## **FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES**

### **INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

#### **EVALUACIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE LA ENZIMA BROMELINA A PARTIR DE DESECHOS DE PIÑA (*Ananas comosus*)**

#### **TRABAJO DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA AGROINDUSTRIAL**

**AUTOR:**

Catucuago Sánchez Jenny Elizabeth

**DIRECTOR:**

Ing. Jimmy Núñez Pérez, MSc

**Ibarra-Ecuador**

**2023**



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

## BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

### AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

#### 1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
<b>CÉDULA DE IDENTIDAD:</b>	172484915-1		
<b>APELLIDOS Y NOMBRES:</b>	Catucuago Sánchez Jenny Elizabeth		
<b>DIRECCIÓN:</b>	Cayambe		
<b>EMAIL:</b>	jecatucuagos@utn.edu.ec		
<b>TELÉFONO FIJO:</b>		<b>TELÉFONO MÓVIL:</b>	0982824093

DATOS DE LA OBRA	
<b>TÍTULO:</b>	Evaluación del proceso de obtención de la enzima bromelina a partir de desechos de piña ( <i>Ananas comosus</i> )
<b>AUTOR (ES):</b>	Catucuago Sánchez Jenny Elizabeth
<b>FECHA: DD/MM/AAAA</b>	18/05/2023
<b>SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO</b>	
<b>PROGRAMA:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
<b>TÍTULO POR EL QUE OPTA:</b>	Ingeniera Agroindustrial
<b>ASESOR /DIRECTOR:</b>	Ing. Jimmy Núñez Pérez, MSc

## **2. CONSTANCIAS**

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 18 días del mes de mayo de 2023

**EL AUTOR:**

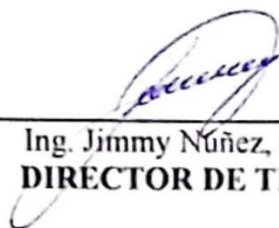


---

Catucuago Sánchez Jenny Elizabeth  
C.I: 1724849151

## CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue realizado por la señorita Catucuago Sánchez Jenny Elizabeth, bajo mi supervisión.



---

Ing. Jimmy Núñez, MSc  
**DIRECTOR DE TESIS**

## **DEDICATORIA**

*El presente trabajo quiero dedicar con mucho cariño a mis padres, María Elisa Sánchez y César Catucuago, quienes han sido pilar fundamental durante mi vida que me han apoyado y guiado con paciencia para poder culminar una de mis metas.*

*A mis hermanos, que siempre han estado para escucharme y apoyarme en todo momento, dándome ánimos en cualquier circunstancia.*

*Catucuago J.*

## **AGRADECIMIENTO**

*A Dios por darme salud y fortaleza para poder culminar mi meta propuesta.*

*A mi querida Universidad y docentes quienes en sus clases impartieron conocimientos,  
permitiéndome crecer.*

*Un agradecimiento especial a mi director de tesis MSc Jimmy Núñez, por su compromiso,  
consejos y tiempo dedicado para poder llevar a cabo este trabajo, de igual manera a mis  
asesores MBA. Rosario Espín y Bioq. Valeria Olmedo.*

*A mi familia, padres y hermanos que siempre fueron sustento y apoyo.*

*A Alfredo C. por haberme acompañado en todo este proceso, por apoyarme  
incondicionalmente y alentarme, lo que me ha permitido culminar esta nueva meta.*

*A mis amigos que fueron participes en todo este proceso, en especial a: Mónica F., Christian  
F., Carlos S., Andrés D., Erika Y., Viviana V., con los cuales compartimos varios momentos  
que quedarán en mi memoria y que hicieron que este camino sea una de las experiencias más  
bonitas.*

*A la Abg. Rosa L., que ha estado presente en cada etapa de mi vida, siempre apoyándose y  
alegrándose por cada paso que he dado.*

*Catucuago J.*

## ÍNDICE GENERAL

Índice de Tablas .....	4
Índice de Figuras .....	4
Resumen.....	5
Abstract .....	6
Capítulo I .....	7
Introducción .....	7
1.3.    Objetivos .....	9
1.3.1.    Objetivo General .....	9
1.3.1.    Objetivos Específicos.....	9
1.4.    Hipótesis de Trabajo .....	9
1.4.1.    Hipótesis Nula.....	9
1.4.2.    Hipótesis Alternativa.....	9
Capítulo II.....	10
Marco Teórico.....	10
2.1.    Desechos Orgánicos.....	10
2.1.1.    Problemas Ambientales a Partir de Desechos Orgánicos Vegetales.....	10
2.1.2.    Origen de Desechos Orgánicos .....	11
2.1.3.    Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales .....	12
2.2.    Fruto de Piña ( <i>Ananas comosus</i> ).....	12
2.2.1.    Composición Química Valor Nutricional .....	13
2.2.2.    Beneficios .....	14
2.3.1.    Clasificación de las Enzimas.....	15
2.3.2.    Bromelina.....	16
2.4.    Método de Extracción .....	18
2.4.1.    Método Mecánico .....	18
2.4.2.    Método no Mecánico .....	19
2.4.3.    Métodos de Concentración.....	19
2.5.    Métodos de Purificación de Proteínas.....	19
2.5.1.    Microfiltración.....	20
2.5.2.    Ultrafiltración.....	20
2.5.3.    Precipitación de Proteínas.....	20
2.6.    Encapsulación .....	21
2.6.1.    Microencapsulación .....	21
2.6.2.    Tipos de Encapsulantes.....	21

2.7. Métodos de Secado .....	22
2.7.1. Secado por Aspersión.....	22
2.7.2. Liofilización.....	23
Capítulo III.....	24
Materiales y Métodos.....	24
3.1. Caracterización del Área de Estudio .....	24
3.1.1 Localización del Experimento .....	24
3.2 Materiales y Equipos.....	24
3.3 Métodos.....	25
3.3.1 Características Fisicoquímicas de los Residuos de Piña .....	26
3.3.2. Evaluar la Precipitación Enzimática a Diferentes Concentraciones de Alcohol (50; 70; 96 v/v) 27	
3.3.3. Analizar el Efecto de Secado Sobre la Actividad Enzimática (Secado por Aspersión y Liofilización).....	29
3.3.4. Realizar un Análisis Económico del Procesos .....	30
3.4. Manejo Específico del Experimento .....	31
.....	31
3.4.1. Descripción Del Proceso .....	32
Capítulo IV.....	39
Resultados y Discusiones.....	39
4.1 Caracterizar Los Residuos De Piña (Porcentaje De Actividad Enzimática Y Proteína En Residuos De Piña).....	39
4.2 Evaluar la Precipitación Enzimática a Diferentes Concentraciones de Alcohol (50; 72; 96 v/v) 40	
4.2.1 Comportamiento de la Actividad Enzimática Posterior a la Precipitación .....	40
4.2.2 Comportamiento de Proteínas Totales Posterior a la Precipitación .....	43
4.3 Analizar el Efecto de Secado Sobre la Actividad Enzimática (Secado por Aspersión y Liofilización).....	44
4.4 Realizar Análisis Económico del Proceso.....	46
Capítulo V.....	49
Conclusiones y Recomendaciones .....	49
Conclusiones.....	49
Recomendaciones .....	50
Referencias.....	51
Anexos .....	54



## Índice de Tablas

Tabla 1	<i>Composición química</i> .....	13
Tabla 2	<i>Composición nutricional</i> .....	14
Tabla 3	<i>Compuestos químicos de la bromelina</i> .....	18
Tabla 4	<i>Datos climatológicos de la ciudad de Ibarra</i> .....	24
Tabla 5	<i>Instrumentos, equipos y reactivos a utilizar</i> .....	25
Tabla 6	<i>Análisis fisicoquímico y cuantitativos</i> .....	26
Tabla 7	<i>Factores en estudio</i> .....	27
Tabla 8	<i>Interacción de tratamientos, Concentración (A), Residuo de piña (B)</i> .....	27
Tabla 9	<i>Unidades experimentales del experimento</i> .....	28
Tabla 10	<i>ANOVA Para un diseño Completamente al Azar.</i> .....	28
Tabla 11	<i>Análisis de la enzima seca</i> .....	30
Tabla 12	<i>Características fisicoquímicas de la materia prima</i> .....	39
Tabla 13	<i>Análisis de varianza actividad enzimática</i> .....	41
Tabla 14	<i>Análisis de varianza de cantidad de proteínas totales</i> .....	43
Tabla 15	<i>Resultados de secado de enzima</i> .....	45
Tabla 16	<i>Costos de obtención de enzima</i> .....	46
Tabla 17	<i>Costos métodos de secado</i> .....	47

## Índice de Figuras

Figura 1	<i>Composición nutricional</i> .....	15
Figura 2	<i>Clasificación de enzimas</i> .....	16
Figura 3	<i>Estructura de la enzima bromelina</i> .....	17
Figura 4	<i>Secado por aspersion</i> .....	29
Figura 5	<i>Liofilización</i> .....	29
Figura 6	<i>Diagrama del proceso de obtención de la enzima</i> .....	31
Figura 7	<i>Recepción materia prima</i> .....	32
Figura 8	<i>Lavado de materia prima</i> .....	32
Figura 9	<i>Fraccionamiento de la materia prima</i> .....	33
Figura 10	<i>Troceado de la materia prima</i> .....	33
Figura 11	<i>Filtrado</i> .....	34
Figura 12	<i>Medición volumen de jugo</i> .....	34
Figura 13	<i>Mezclado</i> .....	35
Figura 14	<i>Precipitado</i> .....	35
Figura 15	<i>Centrifugado</i> .....	36
Figura 16	<i>Obtención de enzima</i> .....	36
Figura 17	<i>Secado por aspersion</i> .....	37
Figura 18	<i>Secado por liofilización</i> .....	38
Figura 19	<i>Prueba Tukey realizada a los tratamientos para la actividad enzimática</i> .....	42
Figura 20	<i>Prueba Tukey para cantidad de proteínas</i> .....	44

## Resumen

La piña es una fruta que se consume en grandes cantidades y su producción genera importantes cantidades de residuos. Diferentes estudios aseguran que cerca del 55% del fruto de la piña se desperdicia, por lo que el aprovechamiento de estos reduce el impacto ambiental y contribuye a una gestión más sostenible y responsable de los recursos naturales. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la obtención de la enzima bromelina a partir de desechos de la piña. Utilizando tres concentraciones de alcohol como agente precipitante y dos partes de la piña (cáscara, corazón), se realizó un diseño completamente al azar (DCA) utilizando como estadígrafo R-estudio, seguidamente se compararon dos métodos de secado de la enzima extraída, liofilización y aspersion. Teniendo como resultado que el tratamiento 5 (concentración de alcohol de 50% y cáscara) dió mejores resultados en actividad enzimática 74.67 GDU/g y cantidad de proteína 1.10% (p/p). Llegando a la conclusión que a menor concentración de alcohol en la cáscara permite una mejor actividad enzimática y conserva la cantidad de proteína. Asimismo, el secado por aspersion conserva mejor la actividad enzimática y la cantidad de proteína. Este estudio demostró la posibilidad de obtener bromelina a partir de residuos orgánicos de la piña y la importancia de seleccionar adecuadamente los parámetros para su obtención.

**PALABRAS CLAVE:** Residuos de Piña, Precipitación Enzimática, Actividad Enzimática, Cantidad de Proteínas, Aspersion, Liofilización

### **Abstract**

Pineapple is a fruit that is consumed in large quantities and its production generates significant amounts of waste. Different studies ensure that about 55% of the pineapple fruit is wasted, so that the use of these reduces the environmental impact and contributes to a more sustainable and responsible management of natural resources. The objective of this investigation was to evaluate the production of the bromelain enzyme from pineapple waste. Using three concentrations of alcohol as precipitating agent and two parts of the pineapple (rind, heart), a completely randomized design (DCA) was carried out using R-study as a statistician, then two methods of drying the extracted enzyme, lyophilization, and lyophilization were compared. and sprinkling. Having as a result that treatment 5 (alcohol concentration of 50% and peel) gave better results in enzymatic activity 74.67 GDU/g and amount of protein 1.10% (p/p). Coming to the conclusion that a lower concentration of alcohol in the shell allows a better enzymatic activity and preserves the amount of protein. Likewise, spray-drying better preserves the enzymatic activity and the amount of protein. This study demonstrated the possibility of obtaining bromelain from pineapple organic residues and the importance of properly selecting the parameters for obtaining it.

**KEY WORDS:** Pineapple Waste, Enzymatic Precipitation, Enzymatic Activity, Protein Content, Spray Drying, Freeze Drying

## **Capítulo I**

### **Introducción**

#### **Problema**

El sector agroindustrial de Ecuador es uno de los más importantes de la economía, ya que la oferta de productos y derivados genera una alta demanda por parte de los consumidores. Sin embargo, esta producción también es un problema evidente: fuente de residuos orgánicos. La industria de jugos, en particular, es una de las mayores causantes de residuos. “Con respecto a la piña, se estima que se genera entre un 45% y un 55% de residuos” (Vega, 2017, pág. 13), que incluyen la cáscara y el corazón, los cuales no son aprovechados para obtener subproductos, a pesar de sus características y componentes que podrían ser útiles en diferentes procesos productivos.

En la ciudad de Ibarra, varios mercados generan desechos orgánicos diariamente, lo que causa diversos problemas ambientales y afecta a las zonas urbanas cercanas debido al mal olor que se produce.

## **Justificación**

Vega (2017), señala que “se ha encontrado que la cáscara de la piña contiene una enzima proteolítica llamada bromelina, que tiene aplicaciones potenciales en diversas industrias. La bromelina, una enzima proteolítica, es uno de los componentes que se pueden extraer a partir de los residuos de la piña”. Esta enzima es utilizada en la industria alimentaria, especialmente en la industria cárnica, debido a su capacidad para ablandar carnes mediante su efecto degradador de la materia fibrosa. La extracción de bromelina a partir de los residuos de la piña puede contribuir a reducir la cantidad de residuos orgánicos generados, disminuyendo la emisión de gases de efecto invernadero y la generación de olores desagradables en zonas habitadas.

El sector agroindustrial está innovando en sus procesos de producción para encontrar soluciones de aprovechamiento de los residuos generados y agregar valor a los mismos. De acuerdo con Saval (2012), un criterio importante en la selección de residuos para su aprovechamiento es que “el material pueda ser sometido a extracciones para recuperar alguno de sus componentes” (p.16) que tenga un mercado demandante. La cáscara y el corazón de la piña son un ejemplo de residuos que pueden ser aprovechados en varios procesos industriales alimentarios una vez que son tratados adecuadamente.

La extracción de bromelina a partir de los residuos de la piña y el aprovechamiento de la cáscara y corazón de la misma pudieran ser opciones viables para reducir los residuos orgánicos generados y agregar valor a los mismos en el sector agroindustrial de Ecuador. Por lo que este trabajo de investigación propone extraer esta enzima de bromelina para brindar un valor agregado a los residuos de este cultivo.

### **1.3. Objetivos**

#### ***1.3.1. Objetivo General***

Evaluar el proceso de obtención de la enzima bromelina a partir de los desechos de piña.

#### ***1.3.1. Objetivos Específicos***

- Caracterizar los residuos de piña (porcentaje de actividad enzimática y proteína en residuos de piña).
- Evaluar la precipitación enzimática a diferentes concentraciones de alcohol (50; 70; 96 v/v).
- Analizar el efecto de secado sobre la actividad enzimática (secado por aspersión y liofilización).
- Realizar un análisis económico del proceso

### **1.4. Hipótesis de Trabajo**

#### ***1.4.1. Hipótesis Nula***

**HO=** La concentración de alcohol y método de secado no influyen en la actividad enzimática de la bromelina.

#### ***1.4.2. Hipótesis Alternativa***

**Ha=** La concentración de alcohol y método de secado influyen en la actividad enzimática de la bromelina.

## Capítulo II

### Marco Teórico

#### 2.1. Desechos Orgánicos

“En el año 2010 se creó el Programa Nacional para la Gestión Integral de Desechos Sólidos (MAE-PNGIDS), con el objetivo primordial de impulsar la gestión de los residuos sólidos en los municipios del Ecuador, con la finalidad de disminuir la contaminación ambiental y mejorar la calidad de vida de los ciudadanos”. Ministerio del Ambiente y Agua (MAE, 2010).

“Apenas un 24% de los Gobiernos Autónomos Descentralizados ha iniciado procesos de separación en la fuente, 26% procesos de recuperación de materia orgánica y 32% de recolección diferenciada de desechos hospitalarios” MAE, (2010).

El Comercio (2018) afirma que “El 57% de la basura puede reusarse por ser orgánica”. Estudio realizado en Quito la capital del Ecuador, lo que asegura que la basura orgánica puede ser reutilizada para fines de interés ciudadano como ambiental.

En la ciudad de Ibarra no existe gestión en el ámbito de clasificación y desechos orgánicos e inorgánicos.

Los residuos agroindustriales son materiales en estado sólido o líquido que se generan a partir del consumo directo de productos primarios o de su industrialización, que ya no son de utilidad dentro del proceso que los generó, pero que son susceptibles de aprovechamiento o transformación para generar otro producto con valor económico, de interés comercial y/o social (Saval, 2012, pág. 15)

##### ***2.1.1. Problemas Ambientales a Partir de Desechos Orgánicos Vegetales.***

“Los residuos orgánicos, son biodegradables, se componen naturalmente y tiene la propiedad de poder desintegrarse o degradarse rápidamente, transformándose en otra materia

orgánica. Los residuos orgánicos se componen de restos de comida y restos vegetales de origen domiciliario”. (RSU, s.f.)

Los residuos orgánicos tienen un fuerte impacto sobre el medioambiente, contaminando la atmósfera, el suelo y las aguas (superficiales y subterráneas), debido principalmente a sus altos contenidos en materia orgánica y elementos minerales, y a la presencia de metales pesados, fitotoxinas, patógenos vegetales y animales, etc.

Los depósitos incontrolados de residuos sólidos urbanos producen olores muy molestos al descomponerse

Los residuos fermentables son fácilmente auto-inflamables por lo que pueden provocar incendios que ocasionan una contaminación atmosférica muy desagradable para la vecindad y, en ocasiones, peligrosa para la circulación y para la seguridad de los bosques cercanos.

### ***2.1.2. Origen de Desechos Orgánicos***

La basura orgánica puede proceder de distintas fuentes, desde lugares comerciales a hogares privados o servicios públicos.

- Origen doméstico: procede de hogares privados.
- Origen comercial: se origina en comercios de todo tipo, desde supermercados que desechan alimentos en mal estado a la hostelería, herbolarios o viveros.
- Origen público: los servicios municipales como jardinería, comedores, mantenimiento de parques o eventos y fiestas también generan residuos orgánicos.
- Origen industrial: las grandes superficies de producción y manipulación de alimentos también desechan productos orgánicos.



### **2.1.3. Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales**

Vargas & Pérez, (2018) mencionan “la generación de subproductos o residuos agroindustriales en las diferentes etapas de los procesos productivos es actualmente una problemática a nivel mundial, debido a que en la mayoría de los casos no son procesados o dispuestos adecuadamente” (p.28), situación que contribuye al proceso de contaminación ambiental.

Debido a la preocupación ambiental de la sociedad, la agroindustria debe ser sensible a los temas ambientales, procurando el desarrollo creciente de una conciencia social que obliga a no producir a costa del planeta, sino de una manera sostenible; considerando que los subproductos agroindustriales generados constituyen un serio problema de residuos en gran parte del mundo (Cury R, Aguas M, & Martinez M, 2017)

“Los residuos agroindustriales están considerados entre los recursos renovables más importantes para la obtención de productos de interés económico y social” Cabrera, (2016)

### **2.2. Fruto de Piña (*Ananas comosus*)**

“Fruto de las plantas de la familia de las Bromeliáceas de forma ovalada y/o cilíndrica, con rangos de color desde verde a anaranjado de acuerdo con su madurez de consumo, de olor agradable, pulpa jugosa y sabor dulce ligeramente ácida” Norma Técnica INEN 1836, (2015).

La piña es una especie vegetal de tamaño mediano, que puede alcanzar entre 1 y 1.5 metros de longitud tanto en altura como en diámetro. Su estructura se compone de una agrupación de hojas de consistencia rígida, con forma lanceolada y algunas veces con espinas, que se organizan en forma de roseta alrededor del tallo central de la planta.

### 2.2.1. Composición Química Valor Nutricional

“Las proporciones de los nutrientes de la piña pueden variar según el tipo y la cantidad de la fruta, además de otros factores que puedan intervenir en la modificación de sus nutrientes” PAA, (2016).

En la tabla 1 se observa cuáles son los parámetros característicos de la piña.

**Tabla 1**

#### *Composición química*

Parámetro fisicoquímico	Valor
Grados Brix	10-17
Acidez titulable (% ac. cítrico)	0.6-1.6
% de cenizas	0.3-0.4
% de agua	81-86
% de fibra	0.3-0.6
% de nitrógeno	0.045-0.115
Ésteres (ppm)	1-250
Pigmentos (ppm de carotenos)	0.2-2.5
% en peso de glucosa	1-3
% en peso de fructosa	0.6-2.3
% en peso de sacarosa	5.9-12
% de almidón	< 0.002
% de celulosa	0.43-0.54
% de hexosas	0.10-0.15
% de pentosas	0.33-0.43

*Nota.* La tabla muestra los parámetros estudiados de la piña. Recuperado de: Alimentos. Moreiras y col. (2013).

En la tabla 2 se expresa la composición nutricional del fruto de piña.

**Tabla 2**

*Composición nutricional*

Composición	Cantidad (g)	CDR (%)
K calorías	50.76	2.7%
Carbohidratos	10.4	3.3%
Proteínas	0.44	0.9%
Fibra	1.9	6.3%
Grasas	0.4	0.8%

\*CDR(%) Cantidad diaria recomendada

Nota. Fuente: Alimentos. Moreiras y col. (2013).

**2.2.2. Beneficios**

“El principal componente nutritivo de la piña, al igual que la mayoría de las frutas, es el agua (85%), de ahí que sea un alimento muy bajo en calorías”, Sánchez (s.f).

Sánchez (s.f.), menciona que “la piña posee una enzima, la bromelina, que se halla en el tallo y en el fruto, que facilita la digestión. En concreto, tiene la virtud de fragmentar las proteínas y convertirlas en aminoácidos, lo que favorece el proceso digestivo”

**2.3. Enzimas**

“Las enzimas son catalizadores específicos y potentes que posibilitan la coexistencia de un elevado número de reacciones químicas dentro de la célula. Los grupos funcionales de las enzimas son complementados con cofactores: iones inorgánicos (metales) o moléculas orgánicas (coenzimas)” (Bañó, Pamblanco, Peretó, & Sendra, 2017, pág. 20)

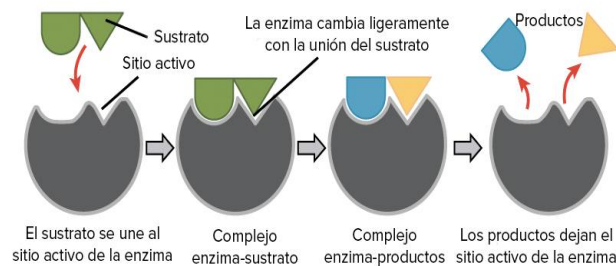
Las enzimas son sustancias que actúan como catalizadores en las reacciones químicas, acelerando su velocidad sin consumirse en el proceso. Aunque no hacen posibles reacciones

que de otro modo serían imposibles, sí aceleran aquellas que naturalmente podrían ocurrir. Este proceso permite que se produzcan reacciones en condiciones fisiológicas que, de otra manera, requerirían condiciones más extremas sin el uso de un catalizador de presión, temperatura o pH.

En los seres vivos, cada reacción química es catalizada por enzimas y existen enzimas para cada tipo de reacción y actúan sobre un sustrato que es la sustancia en la cual actúa (figura 1).

### Figura 1

#### *Composición nutricional*



*Nota.* Esta figura representa la manera en cómo actúa la enzima frente a un sustrato.

Recuperado de Academy (2018).

#### **2.3.1. Clasificación de las Enzimas**

La clasificación de las enzimas se basa en el tipo de reacción que realiza cada una.

En la figura 2 se presentan los principales grupos de enzimas utilizados en la industria:

## Figura 2

### Clasificación de enzimas

Clase	Reacción	
Oxidoreductasas	Transferencia de e <sup>-</sup> o átomos de H <sup>+</sup>	$A_{\text{red}} + B_{\text{ox}} \rightarrow A_{\text{ox}} + B_{\text{red}}$
Transferasas	Transferencia de otros grupos ≠ del H <sup>+</sup>	$AB + C \rightarrow A + BC$
Hidrolasas	Ruptura de un enlace por medio de H <sub>2</sub> O	$AB + H_2O \rightarrow AH + BOH$
Liasas	Ruptura de enlaces	$A \rightarrow B + C + D$
Isomerasas	Por medio de un arreglo intramolecular	$A \rightarrow \text{Iso} - A$
Ligasas	Formación de enlaces por medio de moléculas de alta energía	$A + B + \text{ATP} \rightarrow AB + \text{ADP} + \text{Pi}$

*Nota.* Recuperado de Becerra, (2014).

### 2.3.2. Bromelina

La enzima bromelina es una proteasa se encuentra generalmente en el tronco o en núcleo de la piña y ayuda a digerir la comida rompiendo las partículas de proteína que hay en su interior, es conocida por sus propiedades antiinflamatorias y anticoagulantes.

Una de las proteasas más producidas a nivel mundial es la bromelina la cual se obtiene de la piña. Este es el segundo cultivo tropical de importancia mundial después del banano, aportando más del 20% del volumen mundial de frutos tropicales.

“La enzima bromelina cataliza la hidrólisis de los enlaces peptídicos de proteínas. Se extrajo por primera vez del jugo de piña a finales del siglo” XIX Dalgo, (2012).

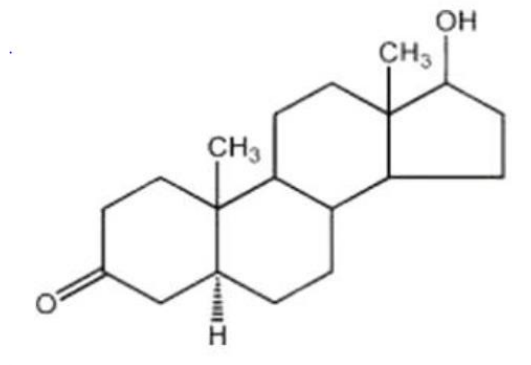
Las enzimas proteolíticas tienen la capacidad de romper los enlaces peptídicos de las proteínas hasta llegar a sus componentes primarios, los aminoácidos. Esta enzima actúa sobre proteínas como la caseína, la hemoglobina y la gelatina. Catalizan la hidrólisis de los enlaces peptídicos de proteínas.

“Participan en variados procesos fisiológicos, al estar involucradas en todo el ciclo de vida de las proteínas desde su biosíntesis, control de destino y activación, hasta su degradación (recambio proteico)” Carvajal, Márquez, Pérez, Chávez, & Hernández,(2010).

Las proteasas, tienen la capacidad de romper los enlaces peptídicos de las proteínas hasta llegar a sus componentes primarios, los aminoácidos. Esta enzima actúa sobre proteínas como la caseína, la hemoglobina y la gelatina figura 3.

### Figura 3

*Estructura de la enzima bromelina*



*Nota.* Recuperado de Ecured, (<https://www.ecured.cu/Bromelina>)

Se han realizado varios estudios de parámetros de las enzimas de Bromelina estos rangos están estimados en un pH de 5-8 y con una temperatura de -10 a 65 °C.

**Composición Química de la Bromelina.** La bromelina es una enzima proteolítica que se encuentra en la piña, que tiene una amplia gama de aplicaciones en la industria alimentaria y médica. Según Akhtar y Khan (2019), “la bromelina está compuesta por una mezcla de enzimas proteolíticas, incluyendo bromelaína, peroxidasa, fosfatasa ácida, catalasa, celulasa, entre otras”, como se puede apreciar en la tabla 3.

**Tabla 3***Compuestos químicos de la bromelina*

Aminoácido	Fruta verde	
	(%)	Fruta madura (%)
Ác. Aspártico	29.8	29.8
Ác. Glutámico	23.2	23.4
Glicina	32.6	32.2
Alanina	23.8	24.4
Valina	19.8	20.1
Leucina	10	10
Isoleucina	16.4	16.2
Serina	32.2	32
Treonina	13.5	13.8
Cisteína	10	10
Metionina	6	5.8
Prolina	11.6	12
Fenilalanina	7.6	8
Tirosina	22.4	22.2
Trptófano	5.6	-
Histidina	1.4	1.3
Lisina	7.8	8.3
Arginina	8.6	9.1
Amonio amida	43	43.4
Glucosamida	0.2	0.2
Carbohidrato	3.2	3.3

*Nota.* Recuperado de Montiglioni, (2014).

## 2.4. Método de Extracción

Dentro de la célula, las proteínas son las moléculas orgánicas más prevalentes, representando más de la mitad del peso seco total.

Para extraer estas proteínas, es necesario iniciar con la ruptura de las células mediante procesos de homogeneización y destrucción de las paredes celulares, de esta forma se puede obtener un extracto crudo que permita recuperar gran cantidad de los compuestos de interés.

### 2.4.1. Método Mecánico

“Son métodos que utilizan la fuerza y fricción para forzar la célula con el fin de llegar a su ruptura, para ello emplean molinos y equipos de ultrasonido, estos métodos deben

ser manipulados de manera rigurosa debido a que la generación de calor puede llegar a desnaturalizar las proteínas” Audelo & Alfonso, (2019)

#### **2.4.2. Método no Mecánico**

Involucran la adición de químicos o enzimas que degradan específicamente los componentes de la pared celular. Muchas veces se utilizan en combinación con métodos mecánicos para asegurar una ruptura completa.

#### **2.4.3. Métodos de Concentración**

“Estos métodos se basan en emplear solventes orgánicos, detergentes los cuales cambian las características de la pared celular, que en algunas ocasiones afectan la estructura de las membranas celulares”. (Audelo & Alfonso, 2019)

Remoción de agua y moléculas pequeñas por:

- Precipitación y resuspensión en un volumen menor.
- Remoción a través de una membrana semipermeable: Ultrafiltración.
- Remoción a través de una membrana semipermeable: Diálisis contra polietilenglicol.
- Agregado de un polímero seco con poros muy pequeños como para que la proteína penetre (Sephadex G-25).
- Remoción de agua en vacío: liofilización. Buffers volátiles, como el bicarbonato de amonio.

### **2.5. Métodos de Purificación de Proteínas**

“Los métodos de purificación de proteínas se basan en las diferentes características respecto del resto de biomoléculas presentes en las muestras biológicas. En algunos casos es necesario que las proteínas reaccionen con un reactivo, para que les permita adquirir diferentes propiedades” Audelo & Alfonso, (2019).



### **2.5.1. Microfiltración**

“La micro filtración (MF) es un método de separación por membrana que emplea presión separando los componentes de la leche como caseínas, grasa, proteínas de suero, lactosa y minerales en dos fracciones: retenido y permeado” Latam, (2016).

“Empleando presiones que oscilan entre los 0.5 y 4 atm; para ello se debe tener en cuenta el flujo de alimentación, tamaño de partícula a separar y temperatura para elegir adecuadamente el diámetro de poro de la membrana y velocidad de flujo” Audelo & Alfonso, (2019).

### **2.5.2. Ultrafiltración**

La ultrafiltración (UF) es un proceso de separación o concentración de componentes de una solución mediante el uso de membranas porosas que permiten o impiden el paso de sustancias según su tamaño o peso molecular. La solución es forzada a pasar a través de la membrana, que actúa como filtro, permitiendo la separación o concentración de los componentes deseados.

### **2.5.3. Precipitación de Proteínas**

Hay varias técnicas disponibles para lograr la precipitación de proteínas, las cuales se fundamentan en la solubilidad de las mismas y son afectadas por factores tales como el pH y la polaridad. Entre estas técnicas se incluye la salado, que puede alterar las propiedades de solubilidad de las proteínas y provocar su precipitación.

Existen diversas estrategias para llevar a cabo la precipitación de proteínas, entre las cuales se incluye el uso de sales como sulfato de amonio o cloruro de sodio, la adición de solventes orgánicos como etanol o acetona, y la modificación del pH para alterar la solubilidad de las proteínas. Asimismo, la aplicación de técnicas de cromatografía puede utilizarse para separar y purificar proteínas específicas.

## **2.6. Encapsulación**

La encapsulación es un procedimiento tecnológico que posibilita incluir un agente activo o sustancia en el interior de otra que forma el revestimiento.

“Esta tecnología mejora la incorporación de moléculas bioactivas o nutraceuticos (antioxidantes, minerales, vitaminas, fitoesteroles, luteínas, ácidos grasos, licopeno, etc.), así como de células vivas (probióticos)” Nedovic, Kalusevic, Manojlovic, Levic, & Bugarsky,(2011).

### **2.6.1. Microencapsulación**

La microencapsulación es una técnica de encapsulación que consiste en recubrir partículas muy pequeñas, como gotas de líquido o gases, con una capa externa que les confiere ciertas propiedades específicas. Este proceso se realiza con el fin de proteger y/o estabilizar los componentes encapsulados, controlar su liberación, mejorar su biodisponibilidad y/o facilitar su administración en diferentes aplicaciones, como en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética. El material de cobertura utilizado en la microencapsulación puede variar desde polímeros hasta lípidos y proteínas, dependiendo de las características del núcleo a encapsular y de las propiedades requeridas en la microcápsula final.

### **2.6.2. Tipos de Encapsulantes**

La encapsulación es un proceso muy utilizado en la industria alimentaria por diversas razones, como por ejemplo la estabilización de los agentes activos presentes en los alimentos, el control en la liberación del material encapsulado, la separación de componentes reactivos, entre otros.

La calidad del encapsulante puede ser influenciada por diferentes factores, como las condiciones de operación, incluyendo la temperatura, el pH, la humedad y la presión. Además, el tamaño de las partículas también juega un papel importante en la calidad del encapsulado.

Por tanto, estos son los tipos de encapsulantes:

- Ceras y lípidos: cera de abeja, emulsiones de micro y macrocera, diestearato de glicerol, grasas naturales.
- Proteínas: gelatinas, proteínas de suero de leche, proteína de soya, gluten, etc.  
Carbohidratos: almidones, maltodextrina, quitosano, sacarosa, glucosa, etc.
- Polímeros de grado alimenticio: polipropileno, polivinilacetato, poliestireno, etc.

## **2.7. Métodos de Secado**

El secado es una técnica de preservación utilizada en la industria alimentaria para prolongar la vida útil de los alimentos al reducir el contenido de agua presente en ellos. El agua es un medio propicio para la proliferación de microorganismos, por lo que, al reducir su cantidad, se disminuye el riesgo de contaminación y putrefacción. Además, el secado también ayuda a mantener las propiedades organolépticas de los alimentos, como su sabor, textura y aroma, al mismo tiempo que se conservan sus nutrientes y compuestos bioactivos.

La técnica de secado se puede realizar por diferentes métodos, tales como el secado al aire libre, el secado por congelación, el secado por aspersión y el secado por liofilización. Cada uno de ellos se utiliza en función del tipo de alimento, su composición y su requerimiento específico de procesamiento.

### **2.7.1. Secado por Aspersión**

“El secado por aspersión es una operación unitaria en la cual se transforma un fluido (solución, dispersión o pasta) en un material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado, dando como producto un polvo o pequeñas esferas” Fabela, (2017).

Durante el proceso de secado, mientras se reduce la densidad empacada y el tamaño del sólido obtenido mediante deshidratación, el secado por aspersión minimiza su manejo y

preserva el producto por la reducción de la actividad de agua y del contenido de humedad a niveles bajos requeridos para detener el crecimiento microbiano y así las velocidades de reacciones químicas son significativamente reducidas.

### **2.7.2. Liofilización**

La liofilización es una técnica de conservación de alimentos basada en el desecado de determinados materiales por medio de la sublimación del agua contenida en éstos. “Consiste en congelar el producto y posteriormente remover el hielo por sublimación, aplicando calor en condiciones de vacío. De esta forma se evita el paso a la fase líquida del agua contenida en el alimento” Parzanese, (2018).

Esta constituye un efectivo sistema de preservación de elementos biológicos tales como células, enzimas, vacunas, virus, levaduras, sueros, algas, y alimentos. Todos estos contienen sustancias volátiles o termo sensibles que no se ven afectadas por este proceso, puesto que se trabaja a temperaturas y presiones reducidas.

## Capítulo III

### Materiales y Métodos

#### 3.1. Caracterización del Área de Estudio

##### 3.1.1 Localización del Experimento

El experimento se lo realizó en la ciudad de Ibarra, iniciando con la recolección de la materia prima (desechos orgánicos de piña) en el mercado Amazonas.

La parte experimental se lo efectuó en las Unidades Edu-productivas de la carrera de Agroindustria, en los laboratorios de microbiología y análisis fisicoquímicos de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales (FICAYA) de la Universidad Técnica del Norte.

La localización y datos del lugar que se realizó el experimento se observa en la tabla 4.

**Tabla 4**

*Datos climatológicos de la ciudad de Ibarra*

Provincia	Imbabura
Cantón	Ibarra
PARÁMETRO	UNIDAD
Altitud	2256 m.s.n.m.
Latitud	00° 19' 47" S
Temperatura	18 °C
Humedad relativa	62%

*Nota.* Datos recuperados de INAMHI, (2015).

#### 3.2 Materiales y Equipos

Los reactivos, instrumentos y equipos utilizados en el presente proyecto se describen a continuación en la tabla 5.

**Tabla 5***Instrumentos, equipos y reactivos a utilizar*

Materia prima e insumos	Descripción
Residuos de piña (cáscara, corazón)	Se utilizará como materia para extraer el jugo el cual se procederá a la extracción de enzimas.
Alcohol al 70%	Se utilizará para la desinfección de los residuos.
Agua destilada	Para eliminar residuos de alcohol sobrantes.
Etanol al 96%	El etanol se utilizará para adicionar al extracto de los residuos y almacenarlo.
Sulfato de Amonio	Se adicionará al extracto para adicionar al extracto de los residuos para su almacenamiento.
Material de laboratorio	Probeta, frascos cóncavos de vidrio, tubos Falcon, vasos de precipitación, cápsula de porcelana, balanza analítica, potenciómetro.
Equipos	centrífuga, estufa, desecador, agitador de laboratorio.
Instrumentos	extractor, colador, congelador.

*Nota.* En la tabla se muestra insumos con su respectiva descripción, los cuales se utilizaron para esta investigación.

### 3.3 Métodos

La materia prima que se utilizó en la presente investigación, desechos de piña: cáscara y corazón, se obtuvo en la provincia de Imbabura, cantón Ibarra, del área de jugos de mercados de la ciudad. Con la finalidad de obtener netamente desechos orgánicos, posterior se seleccionó materia sin daños físicos.

### 3.3.1 Características Fisicoquímicas de los Residuos de Piña

Para realizar la caracterización de residuos de piña se procedió a realizar la limpieza y posterior a extraer el jugo de las cáscaras y corazones de piña utilizando un extractor, posterior se procede a colar/cernir y se le realizará los respectivos análisis al jugo obtenido.

A continuación, en la tabla 6, se describe los métodos respectivos utilizados.

**Tabla 6**

*Análisis fisicoquímico y cuantitativos*

Variable	Método	Fuente
°Brix	AOAC 983.17	CODEX STAN 247-2005
	Refractómetro	Norma general del CODEX para zumos (jugos) y néctares de frutas.
pH	ISO 1842:1991	CODEX STAN 247-2005
	Potenciometría	Norma general del CODEX para zumos (jugos) y néctares de frutas.
Acidez titulable	ISO 750:1998	CODEX STAN 247-2005
	Volumetría	Norma general del CODEX para zumos (jugos) y néctares de frutas.
Cantidad de proteína	Método Kjeldahl	Metodología analítica para la cuantificación de proteínas ANEXO 1 Y 2.
	M-GO-AL-04/ AOAC 981.10 MODIFICADO	
Actividad enzimática	Método GDU/ml Unidad de Digestión de Gelatina	Metodología para determinar actividad enzimática.

*Nota.* En la tabla se describe los análisis con su respectivo método los cuales se utilizaron para llevar a cabo la investigación.

### 3.3.2. *Evaluar la Precipitación Enzimática a Diferentes Concentraciones de Alcohol (50; 70; 96 v/v)*

Se evaluó la precipitación enzimática mediante el método de purificación de enzimas utilizando alcohol a 6 unidad experimentales previamente almacenadas durante 6 días a 0 °C, se utilizó un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial AxB.

**Factores en estudio.** En la presente investigación se estudió dos factores, concentración de alcohol representada por la letra A y residuo de piña representado por la letra B como se muestra en la tabla 7.

**Tabla 7**

*Factores en estudio*

Factores		Simbología	
Factor A	Concentración Etanol	A1	96%
		A2	70%
		A3	50%
Factor B	Residuo de piña	B1	Cáscara
		B2	Corazón

*Nota.* Descripción de los factores en estudio con su respectiva simbología.

**Tratamientos.** En la tabla 8 se puede observar los tratamientos y sus respectivas interacciones. Teniendo como factor (A) a concentración de alcohol y factor (B) residuo de piña.

**Tabla 8**

*Interacción de tratamientos, Concentración (A), Residuo de piña (B)*

Tratamientos	Factor A	Factor B	Combinación
	Concentración de etanol	Residuo de piña	
T1	A1	B1	A1B1
T2	A1	B2	A1B2



T3	A2	B1	A2B1
T4	A2	B2	A2B2
T5	A3	B1	A3B1
T6	A3	B2	A3B2

---

**Características del Experimento.** Las características del experimento se observan en la tabla 9. En el cual se determina cuales son el número total de unidades experimentales con el que se llevó a cabo el experimento.

**Tabla 9**

*Unidades experimentales del experimento*

Características	Cantidad
Número de repeticiones por tratamiento	3
Número de tratamientos	6
Unidades Experimentales	18

**Esquema del análisis estadístico.** El análisis estadístico propuesto que se utilizó en se muestra en la tabla 10.

**Tabla 10**

*ANOVA Para un diseño Completamente al Azar.*

Fuente de variación	Grados de Libertad
Total	17
Tratamientos	5
Factor A: Concentración	2
Factor B: Residuo	1
Interacción AxB	2
Error	12

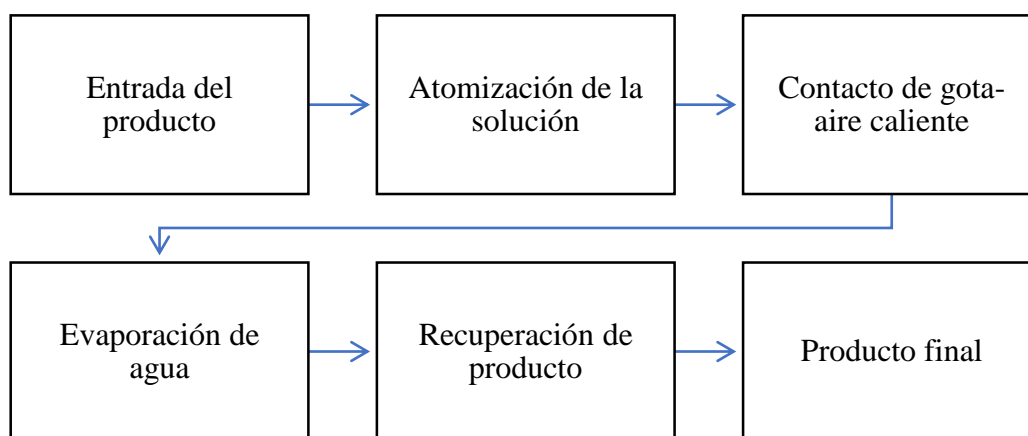
Se realizó 3 repeticiones para cerciorar valores obtenidos.

### 3.3.3. *Analizar el Efecto de Secado Sobre la Actividad Enzimática (Secado por Aspersión y Liofilización)*

Al obtener la enzima de los residuos de piña mediante extracción a escala de laboratorio se evaluarán dos tipos de secado mediante aspersión y liofilización (figura 4 y 5).

**Figura 4**

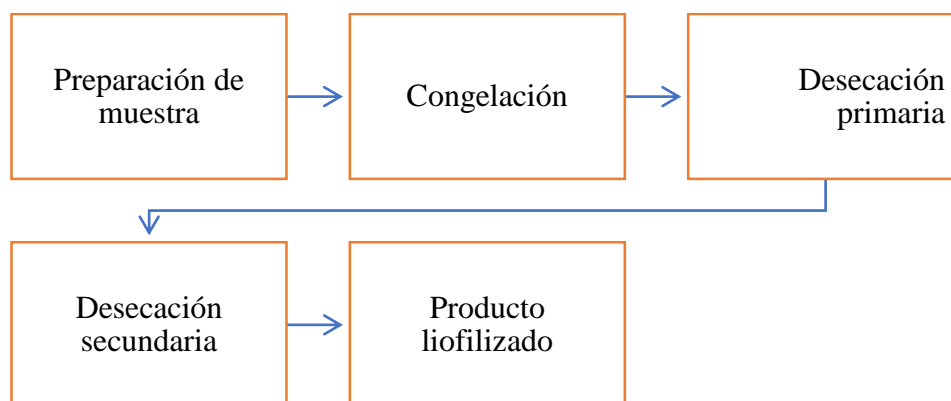
*Secado por aspersión*



*Nota.* En la figura se muestra una breve descripción de cómo se efectúa el proceso de secado por aspersión.

**Figura 5**

*Liofilización*



*Nota.* En la figura se observa una breve descripción del proceso de liofilización.

Posterior a la finalización de secado, para la evaluación de cada producto obtenido se realizó los análisis descritos en la tabla 11.

**Tabla 11**

*Análisis de la enzima seca*

ACTIVIDADES	ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS ESPERADOS
Secado de la enzima extraída utilizando maltodextrina como encapsulante.	Actividad enzimática	GDU/g	Determinar el proceso de secado conserva mejor la actividad enzimática y cantidad de proteínas
	Cantidad de proteínas	Método Kjeldahl ANEXO3	

*\*GDU Gelatine Digestion Unit (Unidad de Digestión de Gelatina).*

**3.3.4. Realizar un Análisis Económico del Procesos**

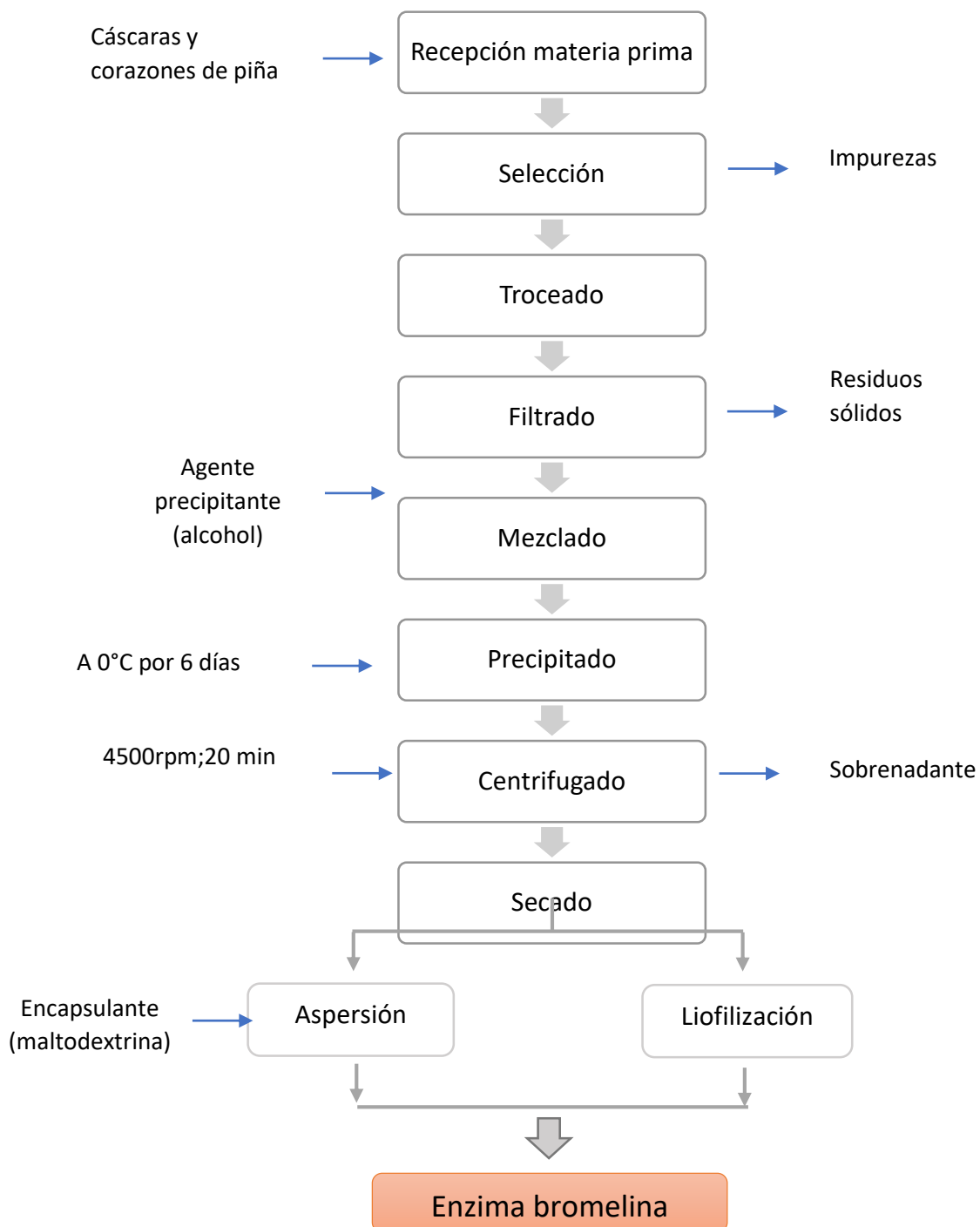
Análisis de costo-beneficio: Este método compara los costos y beneficios del proceso para determinar si el proyecto es viable financieramente. Los costos incluyen todos los gastos asociados con la implementación del proceso, como la inversión en equipo y la mano de obra, mientras que los beneficios incluyen las ganancias esperadas del proceso. Si los beneficios superan los costos, el proyecto se considera viable.

### 3.4. Manejo Específico del Experimento

El procedimiento para la obtención de la enzima bromelina a partir de residuos de piña, se observa en la figura 6.

**Figura 6**

*Diagrama del proceso de obtención de la enzima*



### 3.4.1. Descripción Del Proceso

**Recepción materia prima.** Se recolectó los residuos de piña en el mercado amazonas, sector jugos de la ciudad de Ibarra. En la figura 7 se observa la clasificación de la materia prima, desechos de piña; cáscara y corazón.

**Figura 7**

*Recepción materia prima*



**Lavado.** Se lava los desechos de piña (cáscara, corazón) con agua potable para eliminar las impurezas presentes, como se observa en la figura 8.

**Figura 8**

*Lavado de materia prima*



**Fraccionamiento.** Utilizando un cuchillo fraccionar los desechos de piña en trozos de aproximadamente 2cm x 2cm, para facilitar la molienda como se observa en la figura 9.

### Figura 9

*Fraccionamiento de la materia prima*



**Troceado.** En la figura 10 se observa que se realizó la molienda de los desechos de piña fraccionados en una licuadora a velocidad alta, para obtener su jugo.

### Figura 10

*Troceado de la materia prima*



**Filtración.** Utilizando un cedazo y un filtro para extraer el concentrado de residuos de piña. Como se puede apreciar en la figura 11.

**Figura 11**

*Filtrado*



**Medición.** Con un vaso de precipitación, se midió el volumen de jugo de piña obtenido, como se observa en la figura 12.

**Figura 12**

*Medición volumen de jugo*



**Mezcla.** Se añadió alcohol en diferentes concentraciones en la muestra, 1.2 veces más que el volumen de jugo de piña obtenido, como se aprecia en la figura 13.

**Figura 13**

*Mezclado*



**Precipitado.** En la figura 14 se observa el almacenado de la muestra en frascos de plástico las muestras extracto - solvente a por 6 días a 0 °C, para la precipitación de la enzima.

**Figura 14**

*Precipitado*





**Centrifugación.** Utilizando la centrifuga, se centrifugó la muestra colocada en tubos de centrifuga de 15 ml a 4500 rpm por 20 min, para extraer el sobrenadante, como se observa en la figura 15.

**Figura 15**

*Centrifugado*



**Obtención de sobrenadante-precipitado.** Se eliminó el sobrenadante de la muestra y el precipitado se transfieren a vasos de precipitación. Como se aprecia en la figura 16.

**Figura 16**

*Obtención de enzima*



## Secado de la Enzima Obtenida

- Secado por aspersión

En la figura 17 se puede observar el equipo en el cual se realizó el proceso de secado por aspersión. Se utilizó maltodextrina como encapsulante.

### Figura 17

*Secado por aspersión*



- Secado por liofilización

En la figura 18 se observa el equipo en el cual se realizó el proceso de secado por liofilización.

**Figura 18**

*Secado por liofilización*



## Capítulo IV

### Resultados y Discusiones

Se presentan a continuación los resultados obtenidos mediante la metodología empleada, con el propósito de valorar los objetivos planteados durante la investigación. “Evaluación del proceso de obtención de la enzima bromelina a partir de desechos de piña *Ananas comosus*”

#### 4.1 Caracterizar Los Residuos De Piña (Porcentaje De Actividad Enzimática Y Proteína En Residuos De Piña)

Se caracterizó la piña por triplicado, al inicio del experimento de acuerdo con grados brix, pH, acidez titulable, actividad enzimática y cantidad de proteína con la finalidad de homogenizar la unidad experimental. En la tabla 12 se observan los parámetros fisicoquímicos y funcionales obtenidos de la materia prima

**Tabla 12**

*Características fisicoquímicas de la materia prima*

Residuos de piña	°Brix	pH	Acidez Titulable %	Actividad Enzimática GDU/g	Cantidad de proteína % (p/p)
Cáscara	11.6±0.5	3.6±0.3	1.5±0.1	105±0.2	0.36±0.4
Corazón	14.3±0.3	3.45±0.3	1.1±0.1	91±0.1	0.27±0.1

\*Unidades de digestión de gelatina (GDU)

En este estudio se llevó a cabo una caracterización de la cáscara y el corazón de la piña, con el objetivo de determinar las propiedades químicas y nutricionales de ambos tejidos. Los resultados obtenidos indican que, en comparación con el corazón de la piña, la cáscara presenta un menor contenido de °Brix, que es una medida de la concentración de azúcares en una solución. Sin embargo, se encontró que la cáscara contiene mayores cantidades de proteínas, así como una mayor acidez titulable y actividad enzimática.

En particular, se encontró que el pH y la cantidad de proteínas en la cáscara son similares a los datos obtenidos en un estudio previo realizado por (Coral & Marín, 2022), lo que sugiere que estos parámetros son consistentes en diferentes variedades de piña. Por otro lado, la acidez titulable y el contenido de °Brix de la cáscara se encuentran dentro de los rangos establecidos en la Norma NTE INEN 1836 para la piña.

Estos resultados son importantes para entender las propiedades nutricionales y funcionales de la piña y sus diferentes partes, lo que puede tener implicaciones para su uso en la industria alimentaria y la salud humana. Por ejemplo, el hecho de que la cáscara contenga mayores cantidades de proteínas y actividad enzimática podría hacerla más útil para la producción de alimentos funcionales o suplementos nutricionales. Además, la información obtenida en este estudio puede ser útil para optimizar la producción y el procesamiento de la piña, y para desarrollar nuevos productos a partir de sus diferentes partes.

#### **4.2 Evaluar la Precipitación Enzimática a Diferentes Concentraciones de Alcohol (50; 72; 96 v/v)**

Para la evaluación del proceso de obtención de la enzima se analizaron dos variables que fueron el porcentaje de concentración de etanol, con la cáscara y corazón de la piña. Posterior se realizó análisis de actividad enzimática y cantidad de proteínas, las cuales presentan mayor eficacia al precipitar cáscara de piña con alcohol al 50%.

##### ***4.2.1 Comportamiento de la Actividad Enzimática Posterior a la Precipitación***

Al tratarse de un diseño completamente al azar con arreglo factorial AxB, se estableció el análisis de varianza el cual se puede observar en la tabla 13, los resultados:

**Tabla 13***Análisis de varianza actividad enzimática*

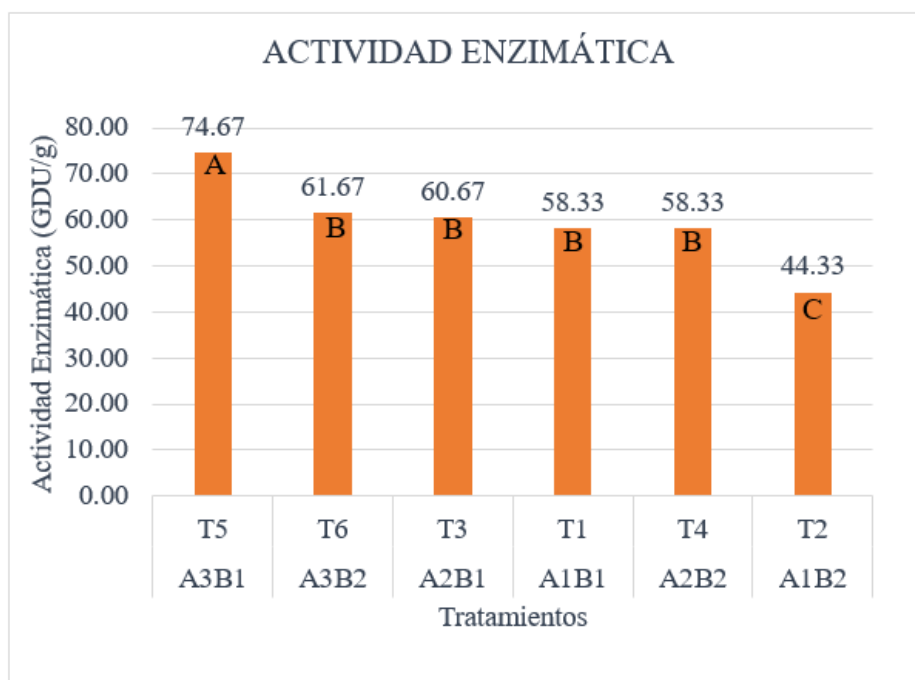
FV	GL	SC	CM	Fo	F0.05	
Total	17	1580.00	92.94			
Concentración	2	850.33	425.17	29.32	3.89	*
Residuo Orgánico	1	430.22	430.22	29.67	4.75	*
Interacción AxB	2	125.44	62.72	4.33	3.89	*
Error	12	174.00	14.50			
CV	6.38	%				

A partir del análisis estadístico se pudo determinar que en la interacción de los factores existe diferencia significativa. Lo cual significa que ambas variables independientes tienen un efecto significativo en la variable dependiente.

Para complementar los resultados obtenidos se realizó la prueba Tukey con el objetivo de identificar la interacción que presentó mejores resultados como se puede observar en la figura 19.

## Figura 19

*Prueba Tukey realizada a los tratamientos para la actividad enzimática*



Se obtuvo como resultado que el tratamiento 5 que corresponde a concentración 50% y cáscara de piña, arrojó mejores resultados en cuanto a la actividad enzimática, siendo significativamente diferente a los demás tratamientos.

Un estudio realizado por Parfenov, (2017) menciona que la precipitación de enzimas se puede mejorar utilizando bajas concentraciones de alcohol.

La explicación de por qué la precipitación de enzimas es mejor a bajas concentraciones de alcohol se basa en las propiedades fisicoquímicas del sistema. A concentraciones bajas, el alcohol interactúa principalmente con las moléculas del solvente y no con las enzimas, lo que permite que estas últimas mantengan su estructura y actividad enzimática.

A medida que se aumenta la concentración de alcohol, las interacciones entre el alcohol y las enzimas se hacen más frecuentes y fuertes, lo que afecta su estructura y actividad enzimática, lo que puede disminuir la eficiencia de la precipitación. Además, a concentraciones

muy altas, el alcohol puede causar la desnaturalización irreversible de las enzimas, lo que resultaría en la pérdida total de su actividad, un estudio realizado por Soares, Coelho, Mazzola, & Silveira., (2011) afirma que a bajas concentraciones de agente precipitante en la extracción de enzimas se logra un factor de purificación de hasta 2.07 veces.

#### 4.2.2 Comportamiento de Proteínas Totales Posterior a la Precipitación

**Tabla 14**

*Análisis de varianza de cantidad de proteínas totales*

FV	GL	SC	CM	Fo	F0.05	
Total	17	0.17705	0.01041			
Concentración	2	0.12363	0.06182	24.18913	3.88529	*
Residuo orgánico	1	0.00534	0.00534	2.08913	4.74723	ns
Interacción AxB	2	0.01741	0.00871	3.40652	3.88529	ns
Error	12	0.03067	0.00256			
CV	5.31	%				

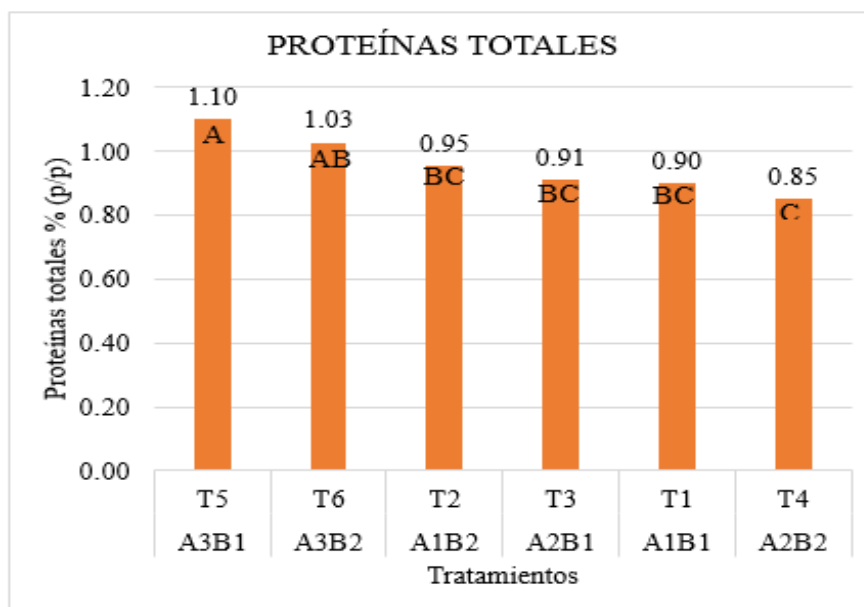
En la tabla 14 se puede observar que a partir del análisis de varianza se pudo identificar que, entre los dos factores en estudio, en el factor A (Concentración de alcohol) existe diferencia significativa en la variable dependiente sin embargo no existe diferencia significativa en el factor B (Residuo orgánico), este factor tiene un efecto directo y significativo en la variable de respuesta y la falta de interacción significativa entre los factores indica que los efectos de cada factor son independientes entre sí y no interactúan para producir un efecto combinado en la variable de respuesta. Esto sugiere que cada factor puede ser estudiado individualmente sin preocuparse por su efecto combinado con otros factores.



Se realizó la prueba Tukey para identificar que interacción presentó mejores resultados como se puede observar en la figura 20.

**Figura 20**

*Prueba Tukey para cantidad de proteínas*



Se observa de igual manera, el tratamiento 5 dio mejores resultados, debido a menor concentración de alcohol en la precipitación enzimática, se conserva mejor la cantidad de proteínas, ya que se minimiza la presencia de impurezas y se mantiene la estructura tridimensional de las proteínas. Como menciona Parfenov, (2017), la cantidad de proteínas contenidas en el fruto, se conserva mientras no haya sufrido cambios que modifiquen la estructura molecular.

#### **4.3 Analizar el Efecto de Secado Sobre la Actividad Enzimática (Secado por Aspersión y Liofilización)**

Se realizó pruebas comparativas utilizando diferentes métodos de secado para determinar cuál es el mejor para conservar la actividad enzimática y la estabilidad de la proteína. En estas pruebas se incluyó análisis para la medición de la actividad enzimática después del secado y cantidad de proteína. Se realizó el análisis utilizando los dos mejores

tratamientos, tratamiento 5 (alcohol 50% y cáscara) y tratamiento 6 (alcohol 50% y corazón).

En la tabla 15 se refleja los resultados.

**Tabla 15**

*Resultados de secado de enzima*

	Tipo de secado	Actividad Enzimática GDU/g	% Proteína (p/p)
Cáscara	Aspersión	49.00±0.5	1.40±0.3
	Liofilización	31.51±0.1	0.90±0.2
Corazón	Aspersión	35.02±0.3	1.05±0.1
	Liofilización	28.01±0.2	0.610.3

El secado por aspersión y el secado por liofilización son dos técnicas comunes utilizadas para deshidratar y conservar enzimas. Ambos métodos tienen ventajas y desventajas, y la elección del método de secado depende de varios factores, como las propiedades de la enzima, la cantidad requerida y el propósito del uso de la enzima.

En el caso específico en el que el secado por aspersión dio mejores resultados que la liofilización, esto podría deberse a que el proceso de secado por aspersión es más rápido y eficiente para remover la humedad del producto final. El secado por aspersión utiliza una corriente de aire caliente para evaporar el agua presente en la muestra en forma líquida, transformándola en partículas sólidas. En contraste, la liofilización es un proceso más lento que implica la congelación previa de la muestra y luego la sublimación del agua a través de una fase de vacío y puede resultar en una menor cantidad de enzima final debido a la pérdida durante la sublimación. En un estudio realizado por Zhang, (2015), menciona sobre el secado

por aspersión y sus efectos positivos en la conservación de la actividad enzimática y la importancia de establecer adecuados parámetros para realizar un correcto proceso.

#### 4.4 Realizar Análisis Económico del Proceso

Para obtener la enzima, se realizó un proceso en el cual se identificó los costos involucrados en cada etapa del proceso de producción: Para realizar un análisis de costos, fue necesario identificar los costos involucrados en cada etapa del proceso de producción, como por ejemplo los costos de investigación y desarrollo, los costos de adquisición de materiales y equipos, los costos de energía, los costos de mano de obra.

Una vez que se han identificado todos los costos involucrados en la producción de la enzima, se pueden sumar para obtener los costos totales de producción.

En la tabla 16 se puede observar el detalle económico para determinar los costos involucrados en la producción de una enzima, considerando los costos de análisis, reactivos, equipos y materiales. Los resultados indicaron que el valor total estimado de los costos es de 128 dólares por 2 L (250 g).

**Tabla 16**

*Costos de obtención de enzima por 250 g*

Concepto	Descripción	Costos (\$)
Materia prima	Residuos orgánicos	0.00
	pH	5.00
	°Brix	4.50
Análisis fisicoquímicos	Acidez	6.25
	Actividad Enzimática	20.00
	% Proteínas totales	18.22
Reactivos	Alcohol	20.00
	Frascos	10.00
Equipos y materiales	Tubos de ensayo	20.00
	Vasos de precipitación	25.00
<b>Total</b>		<b>128.97</b>

En la tabla 17, se observa los costos que intervienen en cada proceso de secado.

**Tabla 17**

*Costos métodos de secado*

		Aspersión	Liofilización
Concepto		Costo Total (\$)	Costo Total (\$)
SemivARIABLES	Materia prima	2.3	0.0
	Mano de obra directa	17.0	34.0
	Combustible	5.0	15.0
	Energía eléctrica kW	5.0	10.0
Fijo	Envases y embalajes	0.5	0.5
Periódico	Mantenimiento	20.0	20.0
<b>TOTAL</b>		<b>49.8</b>	<b>79.5</b>

Los costos reflejados en la tabla corresponden para la obtención de 250 g de enzima, en el que se determinó que por el secado por aspersión es más económico que el secado por liofilización. La liofilización es un proceso largo y costoso que requiere equipos especializados y personal altamente capacitado. El costo de la energía y los equipos, junto con el costo del material de embalaje y la eliminación de residuos, contribuyen a que la liofilización sea más costosa que el secado por aspersión.

Se realizó una estimación del costo de producción para kg de enzima de acuerdo a los resultados obtenidos, el cálculo se realizó tomando en cuenta valores que involucran a materia prima, análisis, reactivos y costos de cada proceso de secado, dándonos \$495.08 con el proceso de aspersión y \$613.88 con el proceso de liofilización.

Por lo tanto, mediante el secado de aspersión se puede obtener una enzima a menor costo, lo cual es un precio competitivo en el mercado, la Corporación de desarrollo de enzimas, tiene como precio final \$400.00 por kg, el costo es menor debido a que al ser una empresa de producción masiva, a gran escala los costos de producción disminuyen.

Por otra parte, Merck una industria alemana de productos farmacéuticos, químicos y de biotecnología, tienen valores de \$2032.61 por kg de enzima de tallo de piña. Lo cual nos demuestra que este estudio tiene viabilidad en el mercado por los bajos costos de producción a comparación con otras marcas.

## Capítulo V

### Conclusiones y Recomendaciones

#### Conclusiones

- Los residuos de la piña son una fuente de enzimas y proteínas, siendo la cáscara la parte que contiene el mayor porcentaje de estos componentes.
- Se encontró que el porcentaje de concentración de alcohol utilizado como agente precipitante tiene un efecto negativo sobre la extracción de la enzima, lo que indica que una mayor concentración de alcohol puede disminuir la actividad enzimática.
- El método de secado por aspersión fue más efectivo para conservar tanto la actividad enzimática como la cantidad de proteínas de la enzima.
- Se logró obtener un producto con precio competitivo en el mercado, lo que indica que el proceso de extracción y producción de la enzima a partir de los residuos de piña es viable.
- Se determinó que la concentración de alcohol y método de secado influyen en la actividad enzimática de la bromelina. por lo que se acepta la hipótesis alternativa

## **Recomendaciones**

- Realizar estudios microbiológicos y evaluar la estabilidad final de la enzima obtenida a partir del proceso de secado por aspersión.
- Evaluar diferentes temperaturas, tiempos de precipitación y concentraciones menores de alcohol para determinar la combinación óptima de estos factores.

## Referencias

Academy, K. (2018). *Khan Academy, Las enzimas y el sitio activo*. Recuperado el 17 de febrero de 2023, de <https://es.khanacademy.org/science/biology/energy-and-enzymes/introduction-to-enzymes/a/enzymes-and-the-active-site>

Angueta, López Néstor Omar. (2019). *DISEÑO DE UNA PLANTA PARA LA OBTENCIÓN DE BROMELINA A PARTIR DE RESIDUOS DE PIÑA*. Tesis de Pregrado Escuela Politécnica Nacional.

Audelo, M. D., & Alfonso, J. B. (2019). *Evaluación de la obtención de bromelina por los métodos de extracción: bifases acuosas y salting out contenida en los corazones de las tres variedades de piña procesadas en la Empresa Betters International S.A.S. BOGOTÁ: FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA.*

Bañó, C., Pamblanco, M., Peretó, J., & Sendra, R. (2017). Fundamentos de bioquímica. En M. P. Carme Bañó, *Fundamentos de bioquímica* (págs. 20-44). Valencia: Universidad de Valencia.

Becerra, M. (2014). Clasificación de las enzimas. En M. Becerra, *Clasificación de las enzimas* (págs. 5-8). Valencia: Universidad de Valencia.

Carvajal, C., Márquez, M., Pérez, A. T., Chávez, M. de L. A., & Hernández, M. (2010). Caracterización cinética de un preparado semipurificado de bromelina para uso antitumoral. *Revista Cubana de Plantas Medicinales, II* (2010), 15.

COMERCIO, E. (6 de enero de 2018). *EL COMERCIO*. Recuperado el 12 de diciembre del 2022, de <https://www.elcomercio.com/actualidad/basura-reusarse-organica-desperdicios-emaseo.html>



Coral, V., & Marín, F. (2022). *Caracterización fisicoquímica de la cáscara de piña (Ananas comosus) variedad cayena lisa para la obtención de pectina* (Vol. 1). Universidad Nacional de la Amazonía Peruana

Cury R, K., Aguas M, Y., & Martinez M, A. (2017). *Residuos agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento*. Recuperado el 05 de diciembre del 2022, de C:/Users/facil/Downloads/530-Texto%20del%20artículo-1328-1-10-20170508%20(1).pdf

Dalgo, V. (2012). Obtencion de un concentrdo con bromelina a partir de piña (Ananas comosus), y determinación de su actividad enzimática en sustratos proteínicos. Tesis de Pregrado Ambato: Universidad Técnica de Ambato, 24-26

EcuRed. (Noviembre de 2018). *Ecured*. Recuperado el 05 de enero del 2023 de <https://www.ecured.cu/Bromelina>.

Emir Cabrera, V. L. (2016). *Caracterización de residuos agroindustriales con vistas a su aprovechamiento*. Recuperado el 06 de enero del 2023 de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2223-48612016000400003](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612016000400003)

Fabela, M. F. (2017). *TECNOLOGÍAS DE NANO-MICROENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS*. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C., 1-3.

Genacol. (2015). *Genacol*. Recuperado el 13 de diciembre del 2022, de <https://nutritionhouse.com.uy/producto/genacol-colageno-hidrolizado/>.

INAMHI. (2015). *Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología* . Recuperado el 13 de diciembre del 2022 de [http://www.serviciometeorologico.gob.ec/meteorologia/boletines/bol\\_anu.pdf](http://www.serviciometeorologico.gob.ec/meteorologia/boletines/bol_anu.pdf)

Latam, F. n. (2016). *Lácteos Latamcom*. Recuperado el 23 de diciembre del 2022 de [https://www.lacteoslatam.com/sectores/17-mantecas/3288-la-microfiltraci%C3%B3n-mf-en-la-agroindustria-l%C3%A1ctea.html#:~:text=La%20microfiltraci%C3%B3n%20\(MF\)%20es%20un,dos%20f racciones%3A%20retenido%20y%20permeado.](https://www.lacteoslatam.com/sectores/17-mantecas/3288-la-microfiltraci%C3%B3n-mf-en-la-agroindustria-l%C3%A1ctea.html#:~:text=La%20microfiltraci%C3%B3n%20(MF)%20es%20un,dos%20f racciones%3A%20retenido%20y%20permeado.)

MAE. (2010). *Ministerio del Ambiente y Agua*. Recuperado el 23 de diciembre del 2022 de <https://www.ambiente.gob.ec/hitos-en-la-gestion-integral-de-los-residuos-solidos-en-ecuador/#:~:text=En%20abril%20del%202010%20se,contaminaci%C3%B3n%20ambiental%20y%20mejorar%20la>

MAE. (2010). *Ministerio del Ambiente y Agua*. Recuperado el 23 de diciembre del 2022 de <https://www.ambiente.gob.ec/programa-pngids-ecuador/>

Montiglioni, V. S. (2014). *Ananas Comusus*. Buenos Aires: Universidad Fasta.

Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarsky, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*. 15-16.

NTE INEN 1836. (2015). *Norma Técnica Ecuatoriana*. Recuperado el 23 de diciembre del 2022 de [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_1836\\_2r.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1836_2r.pdf)

Parfenov, A. (2017). Low-alcohol and organic salt media for enzyme precipitation.

*Biotechnology and Applied Biochemistry*, IV (2017), 9.

## Anexos

Análisis de proteínas realizadas para la investigación.

### Anexo 1



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS**  
**ÁREA ALIMENTOS**  
**INFORME DE RESULTADOS**

INF. N° 2022-0467-1

SOLICITADO POR: <sup>3</sup>	CATUCUAGO SÁNCHEZ JENNY ELIZABETH
DIRECCIÓN DEL CLIENTE Y/O DIRECCIÓN DEL LUGAR DE MUESTREO: <sup>3</sup>	PICHINCHA/ QUITO
MUESTRA DE: <sup>3</sup>	CONCENTRADO DE PIÑA
DESCRIPCIÓN: <sup>3</sup>	VER ABAJO
LOTE: <sup>3</sup>	-----
FECHA DE ELABORACIÓN: <sup>3</sup>	-----
FECHA DE VENCIMIENTO: <sup>3</sup>	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	09/12/2022
HORA DE RECEPCIÓN:	09:36
FECHA DE ANÁLISIS:	12-14/12/2022
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME:	16/12/2022
<b>CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA:</b>	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	LÍQUIDO
Contenido: 115 g.	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

#### INFORME

DESCRIPCIÓN	PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	METODO
A1T1	Proteína (factor 6.25)	%	0.36	M-GO-AL-04/ AOAC 981.10 MODIFICADO
A1T2			0.26	
A2T1			0.34	
A2T2			0.27	
A3T1			0.48	
A3T2			0.27	

3: Datos proporcionados por el cliente y de su responsabilidad.

  
 FIRMADO DIGITALMENTE POR:  
**MARCO GEOVANY GARÓFALO GARCÍA**  
**Dr. Geovany Garófalo**  
**RESPONSABLE DE AREA**



## Anexo 2



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS**  
**ÁREA ALIMENTOS**  
**INFORME DE RESULTADOS**

INF. N° 2023-0014-1

SOLICITADO POR: <sup>1</sup>	CATUCUAGO SÁNCHEZ JENNY ELIZABETH
DIRECCIÓN DEL CLIENTE Y/O DIRECCIÓN DEL LUGAR DE MUESTREO: <sup>2</sup>	PICHINCHA/ QUITO
MUESTRA DE: <sup>3</sup>	ENZIMA DE PIÑA
DESCRIPCIÓN: <sup>4</sup>	VER ABAJO
LÓTE: <sup>5</sup>	----
FECHA DE ELABORACIÓN: <sup>6</sup>	----
FECHA DE VENCIMIENTO: <sup>7</sup>	----
FECHA DE RECEPCIÓN:	03/01/2023
HORA DE RECEPCIÓN:	15:00
FECHA DE ANÁLISIS:	05-06/01/2023
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME:	10/01/2023
<b>CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA:</b>	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	LÍQUIDO
Contenido: 50 ml.	
<b>OBSERVACIONES:</b>	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

## INFORME

DESCRIPCIÓN	PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	METODO
A1B1	Proteína (factor 6.25)		0.21	M-GO-AL-04/ AOAC 981.10 MODIFICADO
A1B2			0.17	
A2B1			0.21	
A2B2			0.18	
A3B1			0.24	
A3B2			0.20	

DESCRIPCIÓN	PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	METODO
2A1B1	Proteína (factor 6.25)		0.20	M-GO-AL-04/ AOAC 981.10 MODIFICADO
2A1B2			0.18	
2A2B1			0.20	
2A2B2			0.19	
2A3B1			0.22	
2A3B2			0.20	

DESCRIPCIÓN	PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	METODO
3A1B1	Proteína (factor 6.25)		0.21	M-GO-AL-04/ AOAC 981.10 MODIFICADO
3A1B2			0.17	
3A2B1			0.22	
3A2B2			0.19	
3A3B1			0.25	
3A3B2			0.20	



1/2

R-GO-01-17

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gatto Sobral- Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext. 15,18,21,31,33  
 Teléfono: 3216740 - E-mail: fq.osp@uce.edu.ec

3: Datos proporcionados por el cliente y de su responsabilidad.



## Anexo 3



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS**  
**ÁREA ALIMENTOS**  
**INFORME DE RESULTADOS**

INF. N° 2023-0024-1

SOLICITADO POR: <sup>3</sup>	CATUCUAGO SÁNCHEZ JENNY ELIZABETH
DIRECCIÓN DEL CLIENTE Y/O DIRECCIÓN DEL LUGAR DE MUESTREO: <sup>3</sup>	PICHINCHA/ QUITO
MUESTRA DE: <sup>3</sup>	POLVO CONCENTRADO DE PIÑA
DESCRIPCIÓN: <sup>3</sup>	VER ABAJO
LOTE: <sup>3</sup>	----
FECHA DE ELABORACIÓN: <sup>3</sup>	----
FECHA DE VENCIMIENTO: <sup>3</sup>	----
FECHA DE RECEPCIÓN:	12/01/2023
HORA DE RECEPCIÓN:	15:00
FECHA DE ANÁLISIS:	16-17/01/2023
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME:	20/01/2023
<b>CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA:</b>	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	SOLIDO
Contenido: 35 g.	
<b>OBSERVACIONES:</b>	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

## INFORME

DESCRIPCIÓN	PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	METODO
B1	Proteína (factor 6.25)	%	1.40	M-GO-AL-04/ AOAC 981.10 MODIFICADO
L1			0.90	
B2			1.05	
L2			0.61	

3: Datos proporcionados por el cliente y de su responsabilidad.



MARCOS GEOVANY  
GAROFALO GARCIA

**Dr. Geovany Garófalo**  
**RESPONSABLE DE AREA**

