



Universidad de San Carlos de Guatemala  
Facultad de Ingeniería  
Escuela de Ingeniería Química

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA BROMELINA PRESENTE  
EN EL EJE DE INFLORESCENCIA DEL FRUTO DESHIDRATADO DE PIÑA (*Ananas  
comosus (L.) Merr*)**

**Edwin Josué Alvarado Paiz**

Asesorado por el Ing. César Alfonso García Guerra

Guatemala, julio de 2012

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA BROMELINA PRESENTE EN EL  
EJE DE INFLORESCENCIA DEL FRUTO DESHIDRATADO DE PIÑA (*Ananas comosus*  
(L.) Merr)**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
POR

**EDWIN JOSUÉ ALVARADO PAIZ**

ASESORADO POR EL ING. CÉSAR ALFONSO GARCÍA GUERRA

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

**INGENIERO QUÍMICO**

GUATEMALA, JULIO DE 2012

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA



**NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA**

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Alfredo Enrique Beber Aceituno
VOCAL II	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL III	Ing. Miguel Ángel Dávila Calderón
VOCAL IV	Br. Juan Carlos Molina Jiménez
VOCAL V	Br. Mario Maldonado Muralles
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

**TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO**

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADOR	Ing. Jorge Mario Estrada Asturias
EXAMINADOR	Ing. Víctor Herberth de León Morales
EXAMINADOR	Ing. Federico Guillermo Salazar Rodríguez
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

## HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

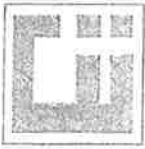
En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA BROMELINA PRESENTE EN EL EJE DE INFLORESCENCIA DEL FRUTO DESHIDRATADO DE PIÑA (*Ananas comosus* (L.) Merr)**

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha julio de 2012.



Edwin Josué Alvarado Paiz



Guatemala, 09 de Mayo del 2012

Ms. Ing. Williams Álvarez  
Director Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería, USAC  
Ciudad de Guatemala

Respetable Ingeniero

Por este medio hago de su conocimiento que **Edwin Josué Alvarado Paiz**, estudiante de la carrera de Ingeniería Química con número de carnet **2006-11417**, quien realizo su informe final de graduación con el tema **"EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA BROMELINA PRESENTE EN EL EJE DE INFLORESCENCIA DEL FRUTO DESHIDRATADO DE PIÑA (*Ananás comosus (L.) Merr*)"**. El cual ha sido realizado por el estudiante, para la inmediata revisión, corrección y aprobación. Por lo que hago de su conocimiento que yo como asesor apruebo el Informe final de trabajo de graduación, pues su contenido es completo y adecuado al tema, cumpliendo también con lo establecido en el normativo de elaboración de trabajos de graduación.

Sin otro particular, me despido de usted.

Atentamente,



Ing.-Qco. Cesar Alfonso García Guerra  
Jefe  
Sección de Química Industrial  
Centro de Investigaciones de Ingeniería  
Facultad de Ingeniería -USAC





UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
 FACULTAD DE INGENIERÍA  
 ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

Guatemala, 31 de mayo de 2012  
 Ref. EI.Q.TG-IF.034.2012

Ingeniero  
 Williams Guillermo Álvarez Mejía  
 DIRECTOR  
 Escuela Ingeniería Química  
 Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el Acta TG-211-2011-IF le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

**INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN**

Solicitado por el estudiante universitario: **Edwin Josué Alvarado Paiz**

Identificado con número de carné: **2006-11417**

Previo a optar al título de INGENIERO QUÍMICO.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA BROMELINA  
 PRESENTE EN EL EJE DE INFLORESCENCIA DEL FRUTO DESHIDRATADO  
 DE PIÑA (Ananás comosus (L.) Merr)**

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por el Ingeniero: **César García Guerra**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Víctor Manuel Monzón  
 COORDINADOR DE TERNA  
 Tribunal de Revisión  
 Trabajo de Graduación



ESCUELA DE  
 INGENIERIA QUIMICA

C.c.: archivo

PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
 ACREDITADO POR  
 Agencia Centroamericana de Acreditación de  
 Programas de Arquitectura y de Ingeniería  
 Período 2009 - 2012



ACAAI

Agencia Centroamericana de Acreditación de  
 Programas de Arquitectura y de Ingeniería



El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación del estudiante, **EDWIN JOSUÉ ALVARADO PAIZ** titulado: **"EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA BROMELINA PRESENTE EN EL EJE DE INFLORESCENCIA DEL FRUTO DESHIDRATADO DE PIÑA (*Ananas comosus (L.) Merr*)"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.



Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez  
DIRECTOR  
Escuela de Ingeniería Química

Guatemala, Julio de 2012

Cc: Archivo  
VMMV/ale



El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA BROMELINA PRESENTE EN EL EJE DE INFLORESCENCIA DEL FRUTO DESHIDRATADO DE PIÑA (Ananas comosus (L.)Merr)**, presentado por el estudiante universitario **Edwin Josué Alvarado Paiz**, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE.

Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos  
Decano



Guatemala, julio de 2012

/cc



## **ACTO QUE DEDICO A:**

- Dios** Por ser mi guía y mi fortaleza en todo momento.
- Mis padres** Pedro Augusto Alvarado Villatoro y Cecilia Paiz de Alvarado, por ser parte de mi vida.
- Mis hermanos** Pedro Augusto Alvarado Paiz y a Cecilia Isabel Alvarado Paiz, por su ayuda y apoyo en todo momento.
- Mi familia** Gracias por los buenos momentos, por su cariño y apoyo.
- Mis amigos** Miriam Carolina Juárez Méndez, Ester Roquel, Andrea Fong, Francisco Ronquillo, Mayra Maritza Quema Peña, Juan Girón por su apoyo incondicional y ayuda prestada.
- Los ingenieros** César García e Hilda Palma.

## **AGRADECIMIENTOS A:**

- Dios** Por su infinita misericordia y sabiduría al permitirme culminar hoy un sueño.
- Mis padres** Pedro Augusto Alvarado Villatoro y Cecilia Paiz de Alvarado, por el apoyo y confianza que me brindaron.
- Mis hermanos** Pedro Augusto y Cecilia Isabel Alvarado Paiz, por su comprensión, apoyo y paciencia, tanto en mi formación como en mi vida.
- Mi familia** Por su apoyo, consejos y buenos momentos compartidos en mi vida.
- Mis amigos** Por su amistad, consejos y apoyo brindado durante todo este tiempo.
- Ing. César García** Por su asesoría, apoyo y tiempo dedicado durante la realización de esta investigación.
- Inga. Hilda Palma** Por su constante ayuda, asesoría y motivación para seguir adelante con esta investigación.

**Universidad  
San Carlos de  
Guatemala**

Mi alma mater. Agradezco todos estos años de formación. Gracias por ser mi casa de estudios.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES .....	V
LISTA DE SÍMBOLOS .....	IX
GLOSARIO .....	XI
RESUMEN .....	XV
OBJETIVOS/HIPÓTESIS.....	XVII
INTRODUCCIÓN .....	XIX
1. ANTECEDENTES .....	1
2. MARCO TEÓRICO .....	3
2.1. Enzimas .....	5
2.2. Complejo enzima-sustrato.....	6
2.3. Especificidad .....	7
2.4. Cinética de las reacciones enzimáticas.....	8
2.5. Factores que influyen en las enzimas .....	10
2.5.1. Efecto del pH .....	10
2.5.2. Efecto de la temperatura.....	11
2.5.3. Efecto acuoso .....	13
2.5.4. Efecto de los metales pesados .....	14
2.6. Proteasas .....	15
2.7. Bromelina .....	16
2.8. Aplicaciones de la bromelina.....	17
2.9. Aditivos alimentarios .....	18
2.10. Antioxidantes.....	19
2.11. Ácido ascórbico .....	19

2.12.	Antimicrobianos .....	20
2.13.	Ácido cítrico .....	21
2.14.	Secado convectivo de alimentos.....	21
3.	DISEÑO METODOLOGÍA .....	25
3.1.	Definición operacional de las variables.....	25
3.2.	Delimitación del campo de estudio .....	26
3.3.	Tipo de estudio .....	26
3.4.	Diseño experimental .....	27
3.4.1.	Recursos humanos disponibles.....	28
3.4.2.	Recursos materiales disponibles .....	28
3.4.2.1.	Equipo .....	28
3.4.2.2.	Instrumentos de laboratorio .....	29
3.4.2.3.	Reactivos.....	29
3.4.2.4.	Materia prima.....	30
3.5.	Técnica cuantitativa y cualitativa.....	30
3.5.1.	Monitoreo.....	31
3.5.2.	Temperatura .....	32
3.5.3.	Humedad relativa .....	32
3.5.4.	Peso de las muestras. ....	32
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información.....	32
3.6.1.	Procedimientos para la recolección de información. ....	33
3.6.2.	Diseño de observaciones y muestreo.....	35
3.6.3.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de .....	37
3.6.3.1.	Determinación de datos para la pérdida de peso.....	37
3.6.3.2.	Determinación de la curva de calibración .....	39

3.6.3.3.	Determinación de la actividad enzimática .....	40
3.7.	Tablas de tabulación de datos.....	41
3.8.	Análisis estadístico.....	44
3.8.1.	Análisis de varianza de dos factores.....	44
3.8.2.	Prueba de Tukey.....	45
4.	RESULTADOS.....	47
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....	59
	CONCLUSIONES .....	69
	RECOMENDACIONES.....	71
	BIBLIOGRAFÍA.....	73
	APÉNDICE.....	75
	ANEXOS .....	87



## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

### FIGURAS

1.	Productos obtenidos de la ananás y sus partes.....	4
2.	Diagrama de energía para una reacción efectuada.....	8
3.	Velocidad de reacción enzimática a la concentración de enzima.....	9
4.	Efecto del pH en la actividad enzimática.....	11
5.	Efecto de la temperatura en la actividad enzimática.....	12
6.	Cambios que ocurren en los alimentos en función de $W_a$ .....	13
7.	Secuencia de aminoácidos alrededor del centro activo.....	17
8.	Curva de equilibrio de la humedad de un sólido alimenticio.....	22
9.	Isoterma de adsorción de agua para alimentos secos.....	22
10.	Diagrama de diseño experimental.....	27
11.	Diagrama de técnica cuantitativa.....	31
12.	Flujograma de procedimiento.....	34
13.	Canastas a utilizar de los ejes de inflorescencia.....	36
14.	Actividad proteolítica promedio para diferentes concentraciones y temperaturas.....	47
15.	Gráfico 3D de actividad proteolítica, concentración y temperatura.....	48
16.	Rendimiento de actividad proteolítica promedio mediante técnica MCU a 50°C para diferentes concentraciones, respecto de 1 gramo de patrón estándar GNC a 4000 MCU.....	48



17.	Rendimiento de actividad proteolítica promedio mediante técnica MCU a 40°C para diferentes concentraciones, respecto a 1 gramo de patrón estándar GNC a 4000 MCU.....	49
18.	Rendimiento de actividad proteolítica promedio mediante técnica MCU a 30°C para diferentes concentraciones, respecto de gramo de patrón estándar GNC a 4000 MCU.....	49
19.	Gráfico de luminosidad(L) en función de la concentración de preservantes.....	50
20.	Gráfico de variación de rojizo-verdoso (a) en función de la concentración de preservantes.....	50
21.	Gráfico de variación de amarillento-azulado (b) en función de la concentración de preservantes.....	51
22.	Humedad final de las muestras en función de la Concentración de preservantes para distintas temperaturas.....	51
23.	Curva de humedad libre a 30°C a diferentes concentraciones de preservantes 30% (Hr) .....	52
24.	Curva de humedad libre a 40°C a diferentes concentraciones de preservantes 60% (Hr) .....	53
25.	Curva de humedad libre a 50°C a diferentes concentraciones de preservantes 60% (Hr).....	54
26.	Gráfico 3D de humedad final, concentración y temperatura.....	55

## TABLAS

I.	Variables involucradas en el estudio.....	25
II.	Tabulación de datos experimentales de pérdida de peso.....	41
III.	Tabulación de determinación de curva de calibración.....	42
IV.	Tabulación, determinación de la actividad enzimática.....	43
V.	Diseño de experimento de dos factores con n réplicas.....	44

VI.	Análisis de varianza para el experimento de 2 factores .....	45
VII.	Interpretación de los datos obtenidos del análisis de varianza realizado para las diferentes actividades enzimáticas para diferentes concentraciones de preservantes y diferentes temperaturas.....	56
VIII.	Interpretación de los datos obtenidos del análisis de varianza realizado para las pruebas de color para diferentes concentraciones de preservantes a diferentes temperaturas.....	57
IX.	Prueba de Tukey aplicada a la concentración de preservantes.....	57
X.	Prueba de Tukey aplicada a la temperatura.....	58



## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>Símbolo</b>	<b>Significado</b>
<b>Wa</b>	Actividad de agua
<b>m/m</b>	Concentración en masa/masa
<b>a</b>	Color rojizo-verdoso
<b>b</b>	Color amarillento-azulado
<b>ES</b>	Enzima sustrato
<b>E</b>	Enzima
<b>g</b>	Gramos
<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>Hr</b>	Humedad relativa
<b>L</b>	Luminosidad
<b>%</b>	Porcentaje
<b>MCU</b>	Unidades de coagulación de leche



## **GLOSARIO**

<b>Actividad enzimática</b>	Es la cantidad de enzima que cataliza la conversión de 1 micro mol de sustrato por minuto.
<b>Ananás</b>	Nombre científico que se le ha asignado a la piña.
<b>Antioxidante</b>	Sustancia o aditivo que se le puede agregar a un alimento para evitar, la degradación de los lípidos, oxidación o descomposición de algunas otra sustancias.
<b>Caramelización</b>	Es una reacción de pirólisis, en contraposición a una reacción de aminoácidos.
<b>Deshidratación</b>	Operación unitaria por medio de la cual se elimina una gran cantidad de agua de los alimentos por evaporación, aplicando calor.
<b>Desnaturalización</b>	Es el cambio estructural de las proteínas o ácidos nucleicos, donde pierden su estructura nativa.
<b>Eje de inflorescencia</b>	Es el nombre que recibe el corazón o el eje que atraviesa el fruto de piña.

<b>Inflorescencia</b>	Es la disposición de las flores sobre las ramas o la extremidad del tallo; su límite está determinado por una hoja normal.
<b>Isoterma</b>	Es la curva que une los puntos, en un plano cartesiano, que representa las mismas temperaturas por unidad de tiempo.
<b>MCU</b>	Unidades de coagulación de leche. Estas se refieren a la capacidad de coagular la proteína de la leche por unidad de tiempo, por una cantidad de enzima proteolítica dada.
<b>Pardeamiento no enzimático</b>	Pardeamiento o decoloración de un alimento; no ocasionado por reacciones de enzimas. En donde se encuentran las reacciones de Maillard, caramelización y oxidación por ácido ascórbico.
<b>Preservantes</b>	Sustancia aplicada a los alimentos para alargar la vida de anaquel de un producto. Inhibiendo las reacciones químicas que puedan ocasionar que se descompongan.
<b>Proteasas</b>	Enzimas que rompen los enlaces péptidos con diferentes grados de intensidad.

**Reacción de Maillard**

Son un complejo de reacciones químicas que se producen entre las proteínas y azúcares reductores que se dan al calentar.





## RESUMEN

La evaluación de la actividad enzimática presente en el eje de inflorescencia del fruto deshidratado de piña (*Ananás comosus L. Merr*), tuvo como objetivo determinar la incidencia de temperaturas de deshidratación en la actividad enzimática, entre temperaturas menores a la de desnaturalización proteica (55°C) y verificar si la adición de preservantes durante el proceso de deshidratación, determino si es un factor determinante no solamente en la actividad enzimática, sino también en la inhibición de las reacciones de Maillard.

La incidencia de la temperatura de deshidratación fue analizada en un secador de flujo transversal, en donde se realizó un tratamiento térmico a temperaturas de 30, 40 y 50 grados centígrados, no solamente para la evaluación posterior de la actividad enzimática del producto deshidratado, sino que también para evaluar la cantidad de transferencia de masa agua/aire, por medio de la medición de la pérdida de peso de los ejes de inflorescencia del fruto de piña en función del tiempo. Utilizando como aditivo inhibidor de las reacciones de Maillard en el secado, el ácido ascórbico y el ácido cítrico como agente sinérgico, potenciador de las características antioxidantes del ácido ascórbico, e inhibidor de actividad microbiana.

Se utilizaron estos agentes aditivos a 3 diferentes concentraciones 3, 2, y 1%, y posteriormente se hizo la medición de la actividad enzimática del producto deshidratado en polvo, por medio del método de coagulación de leche MCU. Con los datos obtenidos de las actividades enzimáticas a diferentes temperaturas y concentraciones, se obtuvieron las mejores condiciones de deshidratación.



## OBJETIVOS

### General

Evaluar la actividad proteolítica de la bromelina presente en el eje de inflorescencia del fruto deshidratado de piña (*Ananás comosus (L.) Merr.*).

### Específicos

1. Evaluar la actividad proteolítica en unidades de coagulación de leche (MCU) de los 3 productos deshidratados obtenidos (30°C, 40°C, 50°C) y preservados mediante la adición previa de una mezcla de dos conservadores en igual proporción másica (3%, 2%, 1%, 0%), respectivamente.
2. Determinar el rendimiento enzimático del biomaterial respecto de la bromelina estándar a 4 000 unidades de coagulación de leche.
3. Evaluar la evolución del color de los diferentes tratamientos de deshidratación en función del modelo de color CIE  $-L^*a^*b$ .
4. Analizar los datos experimentales de la pérdida de masa en función del tiempo, para tres distintas temperaturas, y de la concentración de antioxidante y antimicrobiano adicionado como conservador.

5. Realizar la estimación de significancia estadística mediante el análisis multivariable (Anova y Tukey) de la actividad enzimática, en función de las variables de estudio.

## **HIPÓTESIS**

- No hay diferencia significativa entre las actividades enzimáticas de los productos deshidratados de piña, a diferentes temperaturas de deshidratación,
- No existe diferencia en la actividad enzimática de los ejes de inflorescencia del fruto de piña deshidratados, cuando se utilizan diferentes concentraciones de preservantes,
- Hay suficiente evidencia estadística para establecer que no existe interacción en la actividad enzimática de los ejes de inflorescencia del fruto de piña deshidratados, cuando se utilizan diferentes concentraciones de preservantes y diversos tipos de temperaturas de deshidratación.
- Es posible realizar una evaluación de la actividad enzimática en ejes de inflorescencia de piña deshidratados, utilizando conservadores para evitar su deterioro por reacción Maillard.

## INTRODUCCIÓN

La piña es un producto altamente utilizado a nivel mundial, por la variedad de subproductos, como: jugos de piña, jaleas, vinagre, productos farmacéuticos, producción de cerveza y otros. Siendo el fruto de la piña el producto más utilizado como tal; pero los ejes de inflorescencia y cáscara que son los residuos producidos de este producto, algunas veces quedan en el abandono y no son utilizados; es el caso del eje de inflorescencia de piña.

Se evaluó la actividad enzimática del eje de inflorescencia de *Ananás comosus (L.) Merr.* en la forma de un producto deshidratado, en busca de darle una alternativa industrial, detallando sus características, cantidad de proteínas, cenizas, nitrógeno, entre otros. Pero también busca enfocarse en un análisis del comportamiento de la actividad enzimática de la piña, afectada por la temperatura en un proceso de deshidratación, para tener datos provechosos en un futuro, para su posible comercialización como producto deshidratado, ya sea como ablandador de productos cárnicos, si fuera el caso, como un producto alto en fibra o como suplemento proteolítico (digestivo).

Se hizo el análisis del efecto de agentes aditivos para mejorar no solamente la actividad enzimática de la piña, sino también la disminución de los efectos causados por las reacciones de Maillard para inhibir los efectos microbianos. El estudio experimental se realizó estadísticamente por un análisis factorial de dos factores, el cual analizará si hay diferencias entre estas dos variables y la actividad enzimática.



## 1. ANTECEDENTES

En 1996 aparece un artículo en la revista Ciencia y Tecnología Alimentaria<sup>1</sup>, en donde se encuentra un detallado interés por los derivados procedentes de las plantas, en particular de ciertas enzimas proteolíticas para aplicaciones alimentarias y terapéuticas. En dicho documento se hace una revisión a la enzima bromelina del fruto de la ananá (piña), en donde su principal ventaja frente a otras enzimas como la papaína y la ficina, en su fácil extracción de los residuos, tanto de las plantaciones como de las fábricas de enlatado.

En enero del 2002, se realizó un estudio en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano<sup>2</sup> acerca de los efectos ablandadores de la cáscara, pulpa y corazón de la piña. Inyectando jugo de piña a dos diferentes clases de carnes y almacenándolas en refrigeración a concentraciones de jugo de 50% y 100%, en donde el mejor rendimiento de extracto fue en la pulpa con 53%, seguido de la cáscara 45% y el corazón al 7%. Obteniendo que la dilución de extracto de corazón de piña utilizado al 50%, presenta mayor aceptación en las pruebas sensoriales.

Posteriormente, en el 2008, se publicó un artículo científico, llamado “Extracción de bromelina, a partir de residuos de piña”<sup>3</sup>. En el mismo se describe que la cáscara, es la que contiene mayor concentración de proteínas que la pulpa y corazón, pero estos dos presentan mayor actividad enzimática y actividad específica en comparación con la primera.

---

<sup>1</sup>LÓPEZ LAGO, DÍAS VARELA. La bromelina: una proteasa de interés comercial. p. 6.

<sup>2</sup>GALARZA, David Fernando. Efecto ablandador de extractos de cáscara, pulpa y corazón de piña en el lomo y mano de piedra.p.3.

<sup>3</sup>AUGUSTO CALDERÓN, Alejandro Isaías. Extracción de bromelina a partir de residuos de piña. p. 6.



En el artículo Obtención de Bromelina a partir de desechos agroindustriales publicado por Maria Elena Ramos, se describe que se realiza la extracción de bromelina, con diferentes solventes orgánicos, como la acetona, vinagre y etanol y determinando la actividad enzimática obtenida para cada uno de los casos, utilizando, el eje de inflorescencia, cáscara y pulpa de la piña, se tuvo como resultado que el solvente con mejor actividad enzimática fue el de la acetona utilizando la pulpa (jugo).<sup>4</sup>

En el 2003, el artículo publicado por la Universidad de Ciego de Ávila en Cuba (ÚNICA), describe una forma alternativa de extracción de bromelina; la novedad científica es que utilizan protectores de los grupos SH del centro activo de la enzima y de condiciones de extracción a valores de pH ácido que minimiza la autoproteólisis, permitiendo desarrollar una nueva tecnología de extracción.<sup>5</sup>

---

<sup>4</sup> RAMOS CASSELLIS, Maria Elena, Obtención de bromelina a partir de desechos agroindustriales de piña. p. 2.

<sup>5</sup> HERNÁNDEZ, Martha. Nueva tecnología para la obtención de un preparado de bromelina de tallo de piña (Ananas comosus (L) Merr). p. 2.

## 2. MARCO TEÓRICO

Científicamente la piña es conocida como *Ananás comosus (L.) Merr.*, pertenece al género Ananás de la familia Bromeliaceae. Se menciona que todas las bromeliaceas son originarias de América del Centro y Sur, exceptuando la especie *Illandsia usneoides L.*, que al parecer es originaria de la parte meridional de Norteamérica. Algunos otros investigadores, coinciden en que la piña es originaria de América del Sur, particularmente del centro y sureste de Brasil y noreste de Argentina y Paraguay. Siendo seleccionada, desarrollada y domesticada desde tiempos precolombinos.

Se dice que el nombre piña fue asignado por los españoles, ya que les recordaba al fruto del pino; aunque su verdadero nombre, de origen guaraní es Ananá, de donde proviene su nombre científico.

Los principales productores de esta fruta a nivel mundial son: Hawái, Filipinas, Costa de Marfil, Brasil y Formosa, pero su cultivo en países de Centro América y América del Sur se ha ido incrementando.

Hay diferentes variedades o cultivares de piña; pueden clasificarse con base en su uso industrial o consumo en fresco, y el color de su pulpa. En la actualidad se reconocen cuatro grupos principales que son:

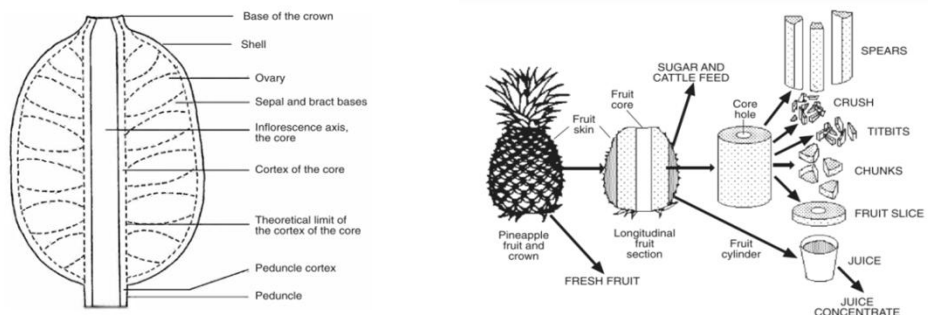
- Cayenne (pulpa amarilla)
- Queen (pulpa amarilla)
- Spanish (pulpa blanca)
- Abacaxi (pulpa amarilla)

Las variedades que se cultivan en Centro América se catalogan de la siguiente forma:

- Cayena lisa, que pertenece al grupo cayenne
- Española roja, del grupo spanish
- Montelirio, del grupo spanish
- Pan de azúcar, azucarona o montúfar, del grupo abacaxi.

La piña ocupa el tercer lugar entre las frutas tropicales de mayor importancia en producción mundial, después de banano y los cítricos. El procesamiento de la piña ha hecho la fruta sea muy conocida en todas zonas templadas del mundo en desarrollo. La mayor cantidad productos de piña en el comercio internacional son: rodajas de conservas, trozos, mermeladas, dulces, jugo y como fruta fresca, (ver figura 1.)<sup>6</sup>

Figura 1. **Productos obtenidos de las ananas y sus partes**



Fuente: The pineapple botany, production and uses. p.5.

<sup>6</sup> The pineapple botany, production and uses. p. 5.

## 2.1. Enzimas

Las enzimas son catalizadores biológicos que llevan a cabo reacciones bioquímicas a muy altas velocidades y con un elevado grado de especificidad. Su nombre proviene del griego y significa “en la levadura”, ya que a fines del siglo pasado, cuando se creó el término, se creía que estos compuestos sólo actuaban en el interior de las células.<sup>7</sup>

Todos los animales y vegetales, al igual que los hongos, levaduras y bacterias, sintetizan las enzimas; de hecho, su acción está estrechamente ligada con cualquiera de las etapas biológicas de todos los tejidos activos. Debido a esto, los alimentos contienen una gran variedad de enzimas endógenas que les provocan cambios benéficos y dañinos, además de las que provienen de las distintas contaminaciones microbianas. Por eso es importante conocer las diversas actividades enzimáticas de cada producto, para así obtener ventajas de ellas y evitar los problemas indeseables que puede traer consigo su presencia.

Su especificidad de catálisis es única, es mucho mayor a la gran mayoría de otros compuestos orgánicos e inorgánicos. En relación con su velocidad de acción, algunas de ellas tienen la capacidad de transformar más de un millón de moléculas de sustrato, por segundo, por molécula de enzima; cabe indicar que, al igual que otros catalizadores, sólo aceleran la velocidad de aquellas reacciones termodinámicamente posibles.

Todas las enzimas son proteínas, tienen una estructura tridimensional globular, y están formadas generalmente por una sola cadena polipeptídica, y

---

<sup>7</sup> GADAI DERGAL, Salvador. Química de los alimentos. p. 279.

sólo logran ser activas cuando los polímeros desarrollan una conformación que permite establecer un centro activo.

Las enzimas se clasificaron según la capacidad que estas tengan, ya sea para oxidar o reducir ciertas reacciones o por su cualidad para realizar rupturas de ciertos enlaces; entre otras y cada una de ellas forman las siguientes categorías:

- Oxidorreductasas: catalizan oxidaciones y reducciones.
- Transferasas: catalizan la transferencia de grupos como glucosilo o metilo o grupos fosforilo.
- Hidrolasas: estas llevan a cabo la ruptura de enlaces químicos con la introducción de una molécula de agua.
- Liasas: catalizan la ruptura de los enlaces C-C, C-O, C-N y otros enlaces; mediante eliminación de átomos o simplemente rompen los enlaces sin la participación de agua, dejando enlaces dobles.
- Isomerasas: catalizan las isomerizaciones de distintos compuestos.
- Ligasas: catalizan la unión de dos moléculas acopladas a la hidrólisis del ATP ( Adrenosin-TrifosfatoATP).

## **2.2. Complejo enzima-sustrato**

El factor clave que diferencia las reacciones enzimáticas de otras reacciones con catalizador, es la formación de un complejo enzima-sustrato. E\*S. En este caso, el sustrato se enlaza con un sitio activo específico de la enzima para formar el complejo, por ejemplo la quimiotripsina (MW= 25,000 Daltons), la cual cataliza el rompimiento hidrolítico de enlaces peptídicos.

### 2.3. Especificidad

Las enzimas tienen la capacidad de catalizar reacciones más o menos específicas, en su mayoría; por lo cual, su intervalo de acción se limita a un determinado tipo de compuesto que debe reunir ciertas características para que pueda ser utilizado como sustrato<sup>8</sup>.

Su especificidad, es una propiedad que las hace muy diferentes a muchos catalizadores no biológicos, que se han dividido en cuatro grandes grupos:

- Especificidad estereoquímica: se refiere a que normalmente utilizan D o L isómeros como sustrato; por ejemplo, casi todos los monosacáridos en la naturaleza son D, mientras que los aminoácidos pertenecen a la serie L; esta especificidad se entiende si se considera que las enzimas son polímeros integrados por L-aminoácidos y que, consecuentemente, tienen una estructura asimétrica.
- Baja especificidad: se presenta cuando las enzimas atacan un determinado tipo de enlace químico sin importar la naturaleza del sustrato; tal es el caso de las lipasas que hidrolizan enlaces éster entre ácidos y alcoholes, en una gran variedad de compuestos orgánicos.
- Especificidad del grupo: se presenta cuando las enzimas actúan sobre un sustrato que contiene un determinado enlace y un grupo químico específico al lado de este; el ejemplo de la tripsina es adecuado, ya que esta enzima hidroliza los enlaces peptídicos en los que el grupo carboxilo del enlace está dado por lisina o arginina; igualmente, las proteasas

---

<sup>8</sup> GADAI DERGAL, Salvador. Química de los alimentos, p. 282.

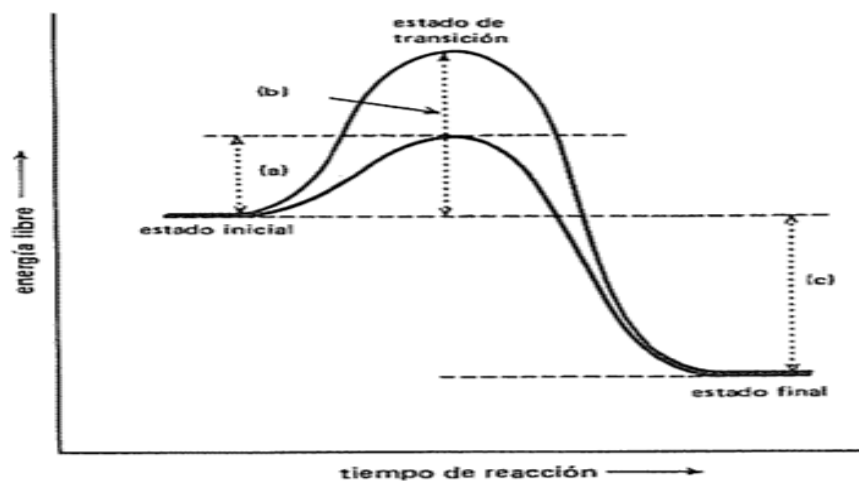
vegetales (papaína y ficina) hidrolizan las uniones adyacentes a aminoácidos básicos.

- Especificidad absoluta: es la más común, y consiste en que la enzima utiliza como sustrato una sola sustancia específica.

#### 2.4. Cinética de las reacciones enzimáticas

Las enzimas catalizan reacciones biológicas, y al igual que otros catalizadores, influyen en la velocidad a la cual se alcanza el equilibrio sin afectar propiamente el equilibrio global; en estas circunstancias, las transformaciones químicas se llevan a cabo mediante una ruta que requiere menos energía libre de activación, (ver figura 2).

Figura 2. Diagrama de energía para una reacción efectuada

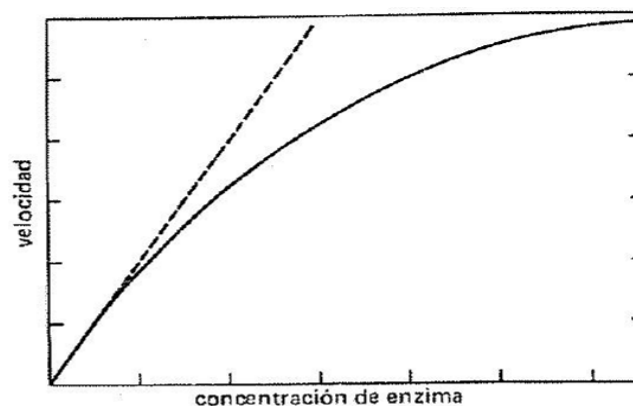


Fuente: GADAI DERGAL, Salvador. Química de los alimentos. p. 287.

La potencia o actividad de una enzima no debe medirse en términos de su concentración, ya que puede estar presente pero en forma desnaturalizada y sin funcionalidad; por esta razón se emplea la Unidad Internacional de Actividad Enzimática, definida como la cantidad de enzima que se requiere para transformar en producto un micro mol (1 UI) de sustrato por minuto, en las condiciones óptimas de pH y temperatura; la concentración del sustrato deberá ser aquella en que la enzima se encuentre actuando con su velocidad máxima.

Cuando resulta difícil caracterizar el sustrato, se utiliza la actividad específica que se define como las unidades de actividad de la enzima en relación con la cantidad de proteína en miligramos; es decir, cuanto más pura sea, mayor será el porcentaje de actividad por miligramo de proteína. Este término se emplea mucho para seguir el grado de purificación de una enzima durante distintos pasos de su obtención.

Figura 3. **Velocidad de reacción enzimática a la concentración de enzima**



Fuente: GADAI DERGAL, Salvador. Química de los alimentos, p. 288.



También se puede observar en la figura 4 que en concentraciones bajas de sustrato, la velocidad en los inicios de reacción es proporcional al sustrato y por lo tanto se establece un sistema de primer orden; sin embargo, a medida que se incrementa la concentración, la velocidad se vuelve de orden fraccionario y posteriormente de orden cero; en último caso, la velocidad es independiente de la concentración de sustrato ya que la enzima alcanza su saturación.

Todas las enzimas muestran este efecto de saturación pero cada caso varía con la concentración de sustrato; Michaelis y Menten, en 1913, aplicaron este concepto para desarrollar su teoría cinética, en la que se considera que el paso fundamental es la formación de un complejo enzima sustrato ES, que al romperse hace que se sintetice el producto P y regenere la enzima E.

Debido a que las rutas enzimáticas tienen energías de activación más bajas, el aumento de velocidades de reacción puede ser enorme, como ocurre en la degradación de la urea por la ureasa, donde la velocidad de degradación es de orden  $10^{14}$  veces más alta, que en ausencia de la ureasa.

## **2.5. Factores que influyen en las enzimas**

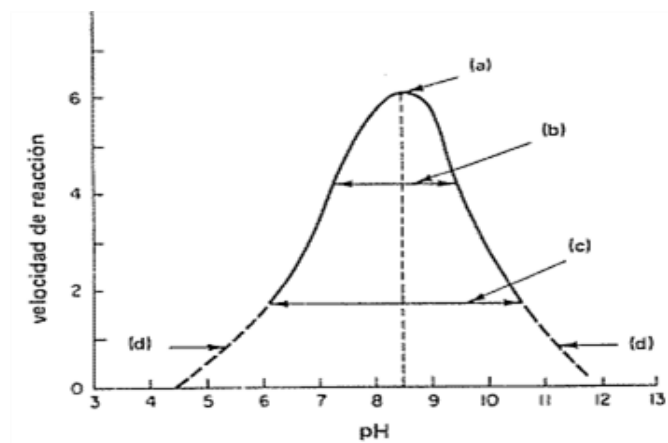
Los factores que afectan el comportamiento enzimático son: efecto del pH, temperatura, agua o acuoso y metales pesados.

### **2.5.1. Efecto del pH**

La actividad de las enzimas depende mucho de la concentración de iones de hidrógeno del medio, ya que esto afecta el grado de ionización de los aminoácidos del sitio activo, del sustrato, o del complejo enzima-sustrato.

En el caso de que los sustratos no son ionizables (la mayoría de los hidratos de carbono y de los lípidos), los grupos iónicos de las enzimas son los únicos afectados por el pH<sup>9</sup>. Por esta razón, todas las enzimas presentan una máxima actividad catalítica a un cierto valor óptimo de pH, en un intervalo de 5 a 8, aun cuando existen excepciones muy importantes, como es el caso de la pepsina del estómago, que tiene un pH óptimo de 1.8.

Figura 4. **Efecto del pH en la actividad enzimática**



Fuente: GADAI DERGAL, Salvador. Química de los alimentos. p. 293.

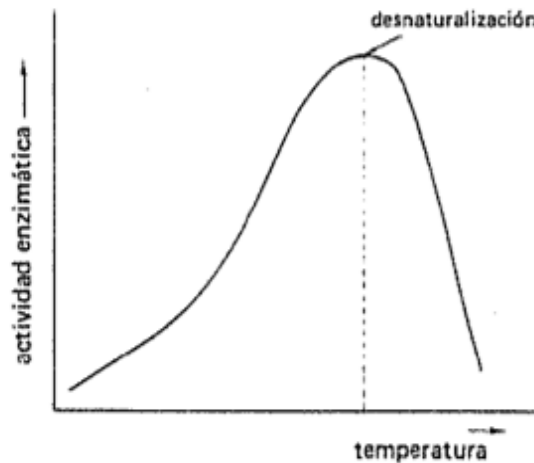
### 2.5.2. Efecto de la temperatura

Como sucede con la mayoría de las reacciones químicas, la velocidad de las enzimas aumenta con la temperatura, pero sólo en el intervalo en que la enzima es estable y retiene su capacidad catalítica; en casos extremos, cuando se incrementa mucho la temperatura, se favorece la desnaturalización y consecuentemente esta proteína pierde su capacidad catalizadora. Por esta razón, cada enzima tiene un intervalo óptimo de temperatura en el cual se logra

<sup>9</sup> GADAI DERGAL, Salvador. Química de los alimentos. p. 292.

la mayor actividad; la mayoría tiene su óptimo entre 30 y 45 °C, y se inactiva a más de 55 °C.

Figura 5. **Efecto de la temperatura en la actividad enzimática**



Fuente: GADAI DERGAL, Salvador. Química de los alimentos. p. 279.

Por otra parte a temperaturas bajas también modifican la actividad enzimática; algunas enzimas llegan a actuar bien aún a -10 °C. Estos catalizadores logran recuperar su actividad después de descongelarse, según la intensidad y forma en que se efectuó su congelamiento.

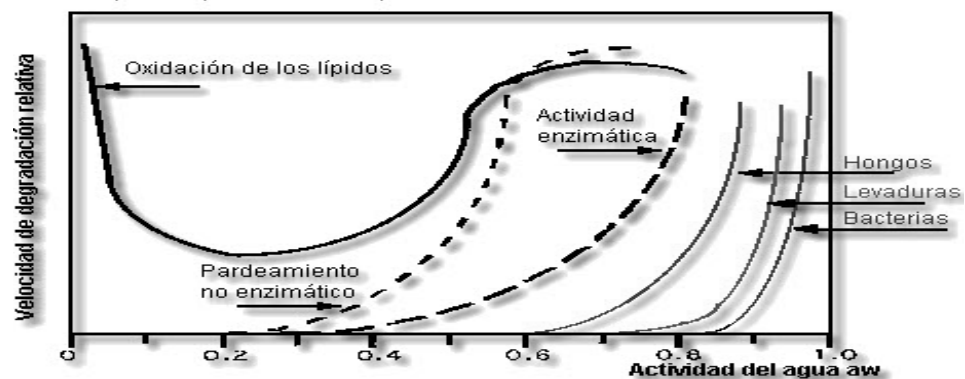
Debe recordarse que durante el congelamiento se establecen zonas dentro de los alimentos en donde se concentran sales y sustancias de peso molecular bajo, junto con algunas proteínas; en estas zonas la fuerza iónica es muy elevada e induce a la desnaturalización de las enzimas. La velocidad de congelamiento tiene un efecto muy importante en la estabilidad de la mayoría de proteínas.

Los puentes de hidrógeno se favorecen a temperaturas bajas por lo que las moléculas de enzimas interaccionan más fácilmente entre sí, o con el agua, lo que ocasiona que el sitio activo se modifique.

### 2.5.3. Efecto acuoso

La actividad acuosa es un factor que influye en la función enzimática. Los alimentos se deshidratan para evitar el crecimiento microbiano; sin embargo, aún en estas condiciones, perdura la acción de muchas enzimas. Las verduras y las frutas deshidratadas están sujetas a reacciones de deterioro cuando no se inactivan sus enzimas con un tratamiento escalonado; estas transformaciones suceden debido a que el sustrato está en contacto muy directo con la enzima.

Figura 6. Cambios que ocurren en los alimentos en función de  $a_w$



Fuente: GADAI DERGAL, Salvador. Química de los alimentos. p. 296.

Existen dos tipos básicos de análisis de agua. El primero es el contenido de agua, el cual es una determinación cuantitativa o volumétrica de la cantidad total de agua presente en un producto.

El segundo tipo mide la actividad del agua e indica la fuerza con la que esta agua está ligada, estructural o químicamente, a un producto. La actividad del agua es un concepto termodinámico refiriéndose a una condición de equilibrio, describe la situación de energía del agua o el grado en que está "ligada" en el producto y por lo tanto, su habilidad de actuar como solvente y participar en reacciones químicas y bioquímicas y en el crecimiento microbiano.

En general, para determinar el contenido de agua en un material, los ensayos se efectúan por medio de métodos "titrimétricos" (por ejemplo Karl Fischer) o métodos "gravimétricos" como pérdida de peso por secado.

Cuando se deshidrata un alimento, no se disminuye su contenido de agua sino que la disponibilidad de esta agua. Esto significa que, aunque un alimento posea una cantidad de agua, ésta puede no estar disponible para reacciones bioquímicas o microbiológicas. Una forma de expresar esta disponibilidad es mediante el término actividad de agua.

Por analogía, así como el pH es un término que indica el grado de acidez de un producto, la actividad de agua "aw", es un término que se emplea para indicar la disponibilidad del agua.

#### **2.5.4. Efecto de los metales pesados**

Los metales pesados como mercurio, plata y plomo, inhiben la acción enzimática, mientras que el calcio, magnesio, sodio, potasio, hierro y zinc, actúan como agentes activadores de muchas otras. Este efecto activador se debe probablemente a que forman parte del sitio activo a que se requieren para la creación del complejo enzima-sustrato, o que ayudan a mantener la conformación tridimensional.

## 2.6. Proteasas

Las enzimas proteolíticas o proteasas hidrolizan los enlaces peptídicos con diferentes grados de intensidad y de selectividad; se usará la enzima más adecuada de acuerdo con la necesidad de la transformación requerida. Existen de origen vegetal (papaína, ficina y bromelina), animal (pepsina, tripsina y quimotripsina) y microbiológico (hongos y bacterias); en general, las primeras hidrolizan las uniones que contienen aminoácidos básicos, leucina o glicina.<sup>10</sup>

Las enzimas proteolíticas presentan la ventaja de que pueden aumentar el nivel de producción de alimentos, con un control exacto del producto final y una disminución de los residuos. En cambio, una desventaja de las enzimas extraídas de las plantas es que comercialmente tienden a ser erráticas y su producción puede estar influenciada por factores como el clima, la estación, estado fisiológico de las plantas, etc.

Las proteasas se utilizan en un variado número de industrias alimentarias con diversos fines, incluyendo cambios en el sabor del producto, en la textura e incluso en el aspecto del mismo. Aproximadamente un 60% de las enzimas usadas en la industrias son proteolíticas, dentro de las cuales se encuentran la bromelina que no sólo es apreciada por las aplicaciones que presenta para la industria alimentaria, sino que también tiene numerosas aplicaciones terapéuticas.

---

<sup>10</sup> GADAI DERGAL, Salvador, Química de los alimentos. p. 321

## 2.7. Bromelina

La bromelina es una enzima proteolítica con código enzimático EC 3.4.22.33; encontrada inicialmente en las hojas y en el tallo de las plantas *Ananas comosus* (L.) Merr.

Posteriormente, se constató su presencia en el fruto de la misma planta y en otras especies pertenecientes a la familia Bromeliaceae. Su presencia en la piña fue detectada por vez primera por el farmacéutico venezolano Mercano en 1891. La secuencia de aminoácidos alrededor del centro activo es Asn-Glx-Asn-Pro-Cys-Ala-Cys.

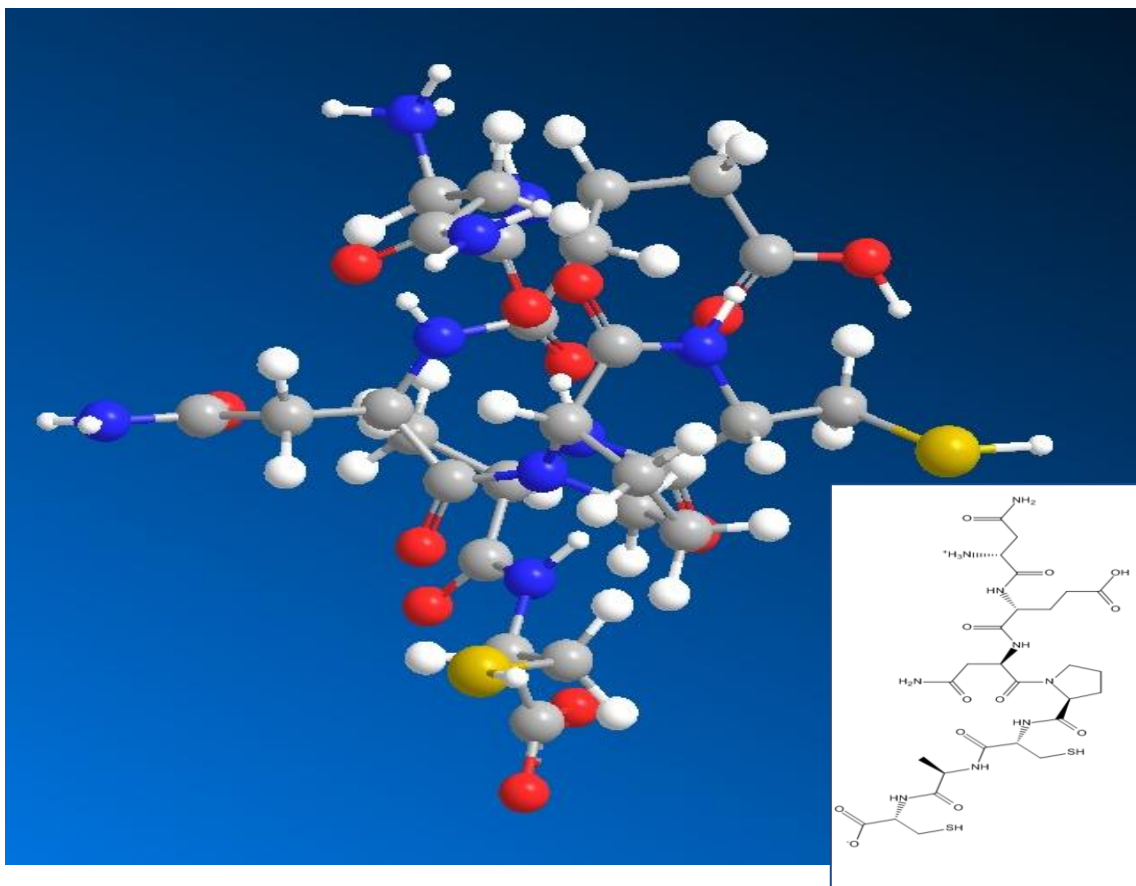
En principio, bajo la denominación de “bromelina” se conocía la enzima extraída y purificada del tallo de la planta de Ananás comosus, aunque luego, al detectarse su presencia en el fruto, se denominó a la primera “*Stem Bromelian*” y a la segunda “*Fruit Bromelian*”. La enzima purificada del fruto es una cisteínproteasa de carácter ácido, perteneciente a la misma familia que la papaína, extraída de la papaya (*Carica papaya* L.). Se trata de una glicoproteína, aparentemente homogénea.

La bromelina del fruto (*Fruit Bromelian*) actúa sobre otras proteínas como la caseína, la hemoglobina y la gelatina. El pH óptimo de actuación de la enzima sobre la caseína y la hemoglobina desnaturalizada es, respectivamente, de 8.3 y 8.0. La pérdida de actividad puede ser recuperada con concentraciones crecientes de cisteína. La bromelina de tallo “*stem bromelian*” es, por el contrario, una proteína de carácter básico, con un contenido en carbohidratos del 1.46% y con menor actividad sobre la caseína, la BAA (alfa-N-Benzoil-L-Arginín-amida) y la BAEE (alfa-N Bensoil-L Arginín-éster).

## 2.8. Aplicaciones de la bromelina

En alimentación se utiliza como ablandador de carnes, en el tratamiento de pescados y otros productos marinos como la producción de salsa de ostras, en la fabricación de galletas (para la eliminación del gluten), como sustituto de los sulfitos empleados para impedir el pardeamiento de los jugos de frutos y del vino blanco y para la clarificación de la cerveza.

Figura 7. **Secuencia de aminoácidos alrededor del centro activo (bromelina)**



Fuente: elaboración propia. Diseño elaborado en Chem office.



En la industria farmacéutica se emplea como digestivo en el tratamiento de dispepsias, como antiinflamatorio y como antiedematoso, en tratamientos contra las infecciones, en tratamientos contra la celulitis, la forunculosis, la ulcerosis, los edemas postoperatorios y también en tratamientos contra el cáncer.

En el laboratorio se usa en la fabricación de peptonas, que formarán parte de medios de cultivo, en la producción de aminoácidos y péptidos y en el estudio de la composición de las proteínas.

La bromelina es una enzima extraída fundamentalmente de los residuos de las plantaciones de piña. Es interesante destacar que también puede ser extraída con altos rendimientos de los residuos en las fábricas de enlatado de piña, contemplando esta extracción como una actividad paralela para la obtención de un subproducto de alto valor añadido.<sup>11</sup>

## **2.9. Aditivos alimentarios**

De acuerdo con el Comité de Protección de Alimentos y Nutrición, los aditivos alimentarios se definen, como una sustancia o mezcla de sustancias, que no siendo un alimento básico, se encuentran presentes en los alimentos, como resultado de cualquier aspecto de producción, procesamiento, almacenado o empaçado. Este término excluye contaminantes.

Desde tiempos prehistóricos, los productos químicos han sido añadidos a los alimentos para llevar a cabo funciones especiales. Aunque los alimentos no poseen aditivos originalmente, son procesados y convertidos en una gran variedad de productos, incrementando la variedad y el uso de aditivos.

---

<sup>11</sup> The pineapple botany, production and uses. p. 259.

Hoy en día se encuentran más de 2500 aditivos que son intencionalmente agregados a las comidas para inhibir un efecto indeseado. El uso de estos aditivos es bien aceptado, pero con controversias. Ya que algunos de ellos tienen beneficios potenciales, como riesgos.

### **2.10. Antioxidantes**

Los mecanismos de las reacciones de oxidación, son las que promueven el decrecimiento de la calidad de los productos alimentarios, como pasa con la química de oxidación de los lípidos. La oxidación de lípidos se realiza en una forma multietapas, con múltiples factores de proceso, y en alimentos, las variables relacionadas incluyen la de los ácidos grasos, susceptibilidad, estructura molecular y, estado físico de los lípidos, iniciación de reacciones de peróxido de hidrógeno (ROOH) y la descomposición catalítica (metales).

### **2.11. Ácido ascórbico**

Es un sólido cristalino que se descompone alrededor de 160°C. Es un antioxidante natural, extremadamente insoluble en grasas. Fue probado por primera vez como antioxidante para mejorar la durabilidad de la mayonesa. Funciona sinérgicamente con la mayoría de los antioxidantes de origen fenólico, pero no con el ácido gálico. El ácido ascórbico tiene estatus GRAS (Generalmente Reconocido como Seguro) como uso de preservantes (según la 2.1 CFR 182.3013) y no existen restricciones en los niveles de uso para este agente. Los reportes sugieren que los niveles más bajos son de 100 ppm para efectos como antioxidante, usualmente descritos; las concentraciones más altas son con 2 000 ppm. El pH óptimo de actividad es alrededor de 3-4, con una solubilidad en agua de 33 g/ml.

El ácido ascórbico ha sido utilizado como agente antipardeamiento por más de 50 décadas y sigue siendo el más utilizado frecuentemente como alternativa a los sulfitos. A eso se debe el uso cotidiano del limón en las cocinas, durante la preparación de comidas. Alrededor de 3.5 mg de ácido ascórbico es necesario para evitar la oxidación en un centímetro cúbico de un producto enlatado.<sup>12</sup>

## **2.12. Antimicrobianos**

Los seres humanos tienen que estar atentos a preservar los productos alimenticios de microorganismos perjudiciales desde tiempos prehistóricos. Procesos como de calentamiento, deshidratación, fermentación y refrigeración, han sido usados para prolongar la vida de anaquel de los productos alimenticios. Algunos preservantes químicos de comida, como la sal, nitritos y sulfitos han sido utilizados por muchos años.

Sin embargo algunos tienen un uso frecuente hasta ahora. Una de las razones por la que se incrementó el uso de preservantes químicos es el cambio en la forma de producir y comercializar. Hoy en día, los consumidores esperan los alimentos estén disponibles por años y que se encuentren libres de enfermedades patógenas y con una vida razonable de anaquel. Mientras existen algunas mejoras realizadas, usando un empaque y sistemas de procesamiento para preservar alimentos sin químicos. En el presente los preservantes antimicrobianos en las comidas juegan un papel significativo en la protección de los alimentos.

---

<sup>12</sup>M. THERON, María., Organic Acids and Food Preservation, P. 564

### **2.13. Ácido cítrico**

El ácido cítrico es un popular acidulante, por su versatilidad y flexibilidad, es utilizado en muchos procesos de fermentación. Tanto el ácido cítrico como su sal son comúnmente usados como componentes orgánicos en los alimentos e industria farmacéutica. También es de amplia importancia en la industria metalúrgica e industrias químicas. Tanto el ácido cítrico tiene tres grupos COOH que dan el carácter ácido.

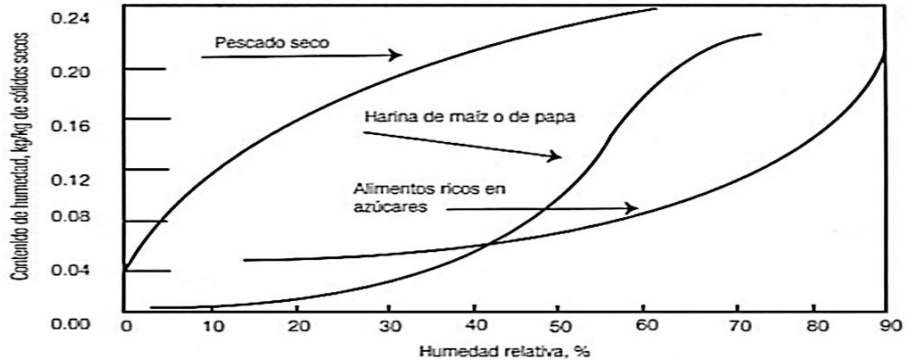
El ácido cítrico es uno de los más importantes producidos; la producción global es estimada alrededor de 620,000 toneladas métricas por año y representa el 60% de toda la comida utilizada alrededor del mundo. La producción entera de ácido cítrico es llevada a cabo por fermentación. Los pKs del ácido cítrico son  $pK_1 = 3.14$ ,  $pK_2 = 4.77$ ,  $pK_3 = 6.39$ , y es fuertemente disociado adentro de las células de los microorganismos.

### **2.14. Secado convectivo de alimentos**

La deshidratación o secado de alimentos es un fenómeno complejo que implica procesos de transferencia de cantidad de movimiento, calor y masa.

Todas las operaciones de secado dependen de la aplicación de calor para vaporizar el agua o los constituyentes volátiles. El mecanismo que regula el secado de un producto en forma de partículas depende de la estructura de éste y de los parámetros de secado como contenido de humedad, dimensiones de producto, temperatura del medio de calentamiento, velocidades de transferencias superficiales y contenido de humedad en equilibrio.

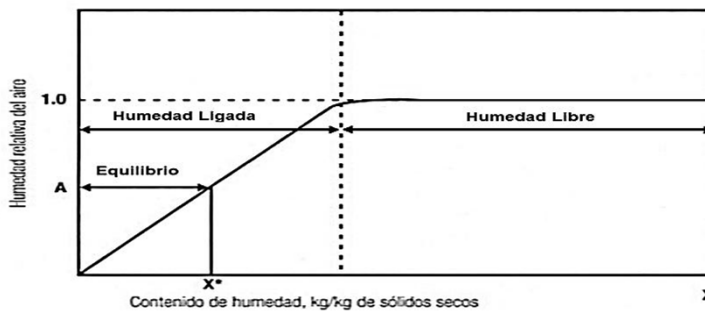
Figura 8. **Curva equilibrio de la humedad de un sólido alimenticio**



Fuente: MULVANEY, Sharma. Ingeniería de alimentos, operaciones unitarias y prácticas de laboratorio, p. 216.

Todos los materiales sólidos presentan cierto contenido de humedad en equilibrio cuando se ponen en contacto con el aire a una temperatura y una humedad particulares. En consecuencia, los materiales tienden a perder o ganar humedad durante un período, para que alcancen este valor de equilibrio. Si la temperatura o la humedad del aire cambian, entonces se pierde o gana humedad hasta que se alcanza un nuevo valor de equilibrio.

Figura 9. **Isoterma de adsorción de agua para alimentos secos**



Fuente: MULVANEY, Sharma. Ingeniería de alimentos, operaciones unitarias y prácticas de laboratorio. p. 216.

La distinción entre agua ligada y libre es una propiedad del material alimenticio particular del material alimenticio. Si se seca un alimento en aire de humedad relativa  $A$ , se elimina la mayor parte del agua libre y parte del agua ligada. Esta consiste en la humedad libre por arriba del contenido de humedad de equilibrio correspondiente a la condición del aire.

Por lo tanto, la distinción entre contenido en equilibrio y contenido de humedad libre depende de la naturaleza de los sólidos por secar y las condiciones del aire de secado.



### 3. DISEÑO METODOLOGÍA

#### 3.1. Definición operacional de las variables

Para la realización de un diseño experimental, es necesario determinar las variables de estudio para su control y seguimiento.

Tabla I Variables involucradas en el estudio

No.	VARIABLE	UNIDADES	DESCRIPCIÓN
<b>Variables independientes</b>			
1	Temperatura	°C	Temperatura de secado.
2	Tiempo	min	Determinación del tiempo requerido para el secado
3	Concentración de antimicrobiano	%	La concentración de la solución de antimicrobiano utilizada antes del secado
4	Concentración de antioxidante	%	Concentración de la solución de agente antioxidante utilizada antes del secado
5	Humedad relativa	Hr	Es el contenido de humedad que posee el ambiente
<b>Variables dependientes</b>			
6	Actividad enzimática	MCU	Actividad enzimática de la bromelina presente en la leche
7	Peso	g	Cantidad de agua después de intervalos definidos de tiempo

Fuente: elaboración propia.



### **3.2. Delimitación del campo de estudio**

- Área: operaciones unitarias, bioquímica, tecnología de alimentos.
- Proceso: deshidratación, análisis bioquímico.
- Etapa del proceso: evaluación.
- Ubicación: se realizará en el LIEXVE y en el LAFIQ, ubicado en el edificio T-5 Ciudad Universitaria Zona 12.
- Clima: en la ciudad de Guatemala hay un 68% de humedad relativa y aproximadamente una temperatura media de 22°C.

### **3.3. Tipo de estudio**

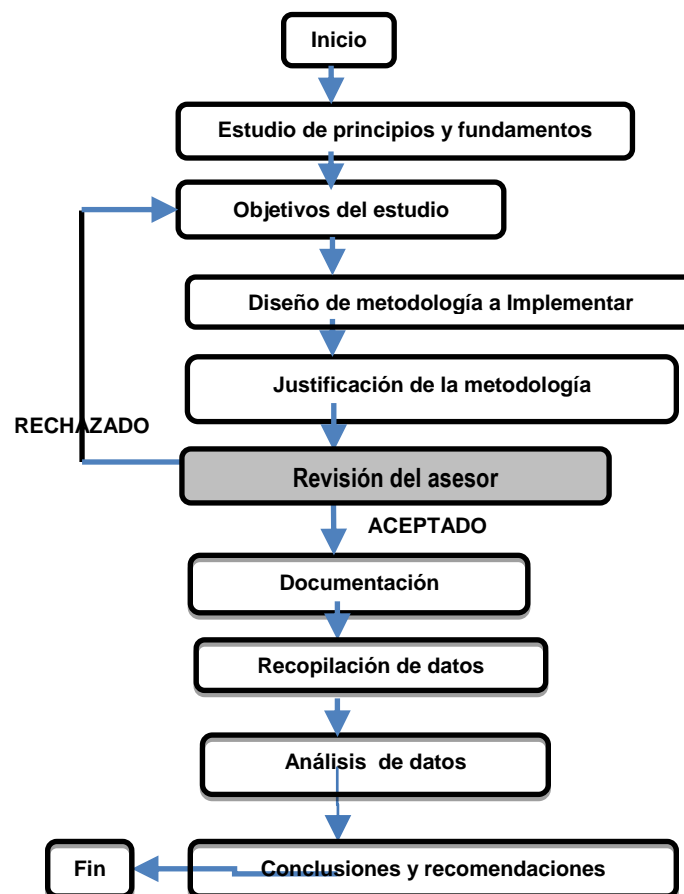
El tipo de estudio que se utilizará en este trabajo de graduación es de tipo experimental factorial, ya que se evaluará y analizará cómo se comporta el eje de inflorescencia, deshidratado del fruto de la piña, con el tratamiento térmico, en función de las concentraciones de los agentes antioxidantes, antimicrobiano y la evaluación de la actividad enzimática de los diferentes tratamientos deshidratados. Su alcance es la predicción e identificación de las relaciones que existen entre las variables de deshidratación y la actividad enzimática de deshidratado.

Se recopilarán los datos sobre la base de la hipótesis de la mejor concentración de antioxidante y microbiano, para la obtención de la más alta actividad enzimática posible.

### 3.4. Diseño experimental

El diseño experimental desarrollado es puramente factorial, en donde se determina la incidencia de las dos variables, que se encuentran ligadas a una variable respuesta. Tomando en cuenta que los datos obtenidos son puramente cuantitativos, se buscarán las correlaciones de los datos y planteamientos matemáticos del caso, para corroborar las hipótesis planteadas.

Figura 10. Diagrama de diseño experimental



Fuente: elaboración propia.

### **3.4.1. Recursos humanos disponibles**

- Investigador: Edwin Josué Alvarado Paiz
- Asesor: Ing. Qco. Cesar Alfonso García Guerra
- Coasesora: Ing. Qca. Hilda Piedad Palma Ramos de Martini
- Colaboradores: Ing. Agro. Marino Barrientos

### **3.4.2. Recursos materiales disponibles**

Los elementos materiales disponibles en una investigación, son un elemento que deben de ser ordenados y enlistados, como una guía importante para futuras investigaciones.

#### **3.4.2.1. Equipo**

- Equipo de medición: balanza de humedad
- Equipo auxiliar
  - Procesador de alimentos
  - Canastas
  - Horno
  - Secador de bandejas

### 3.4.2.2. Instrumentos de laboratorio

- Instrumentos de medición
  - 2 Termómetros de mercurio
  - 1 Potenciómetro
  - 1 Balanza analítica
  - 2 Balones aforados de 100 ml
  
- Instrumentos de cristalería
  - 1 Tubo de ensayo
  - 4 Beakers 100 ml
  
- Instrumentos auxiliares
  - 1 Agitador magnético
  - 2 Soportes universales
  - 1 Bomba de vacío
  - 1 Filtro *buchner*
  - 1 Caja de papel filtro 50 unidades

### 3.4.2.3. Reactivos

- Reactivos de tipo industrial
  - Ácido cítrico, marca Quimiprova
  - Ácido ascórbico, marca Quimiprova

- Reactivos de tipo comercial
  - Bromelina comercial GNC (4,000 MCU).
  - Leche Borden
  - Alcohol etílico 95%
  
- Reactivos de tipo reactivo
  - Ortofosfato monosódico, marca Baker
  - Ortofosfato disódico, marca Merck

#### **3.4.2.4. Materia prima**

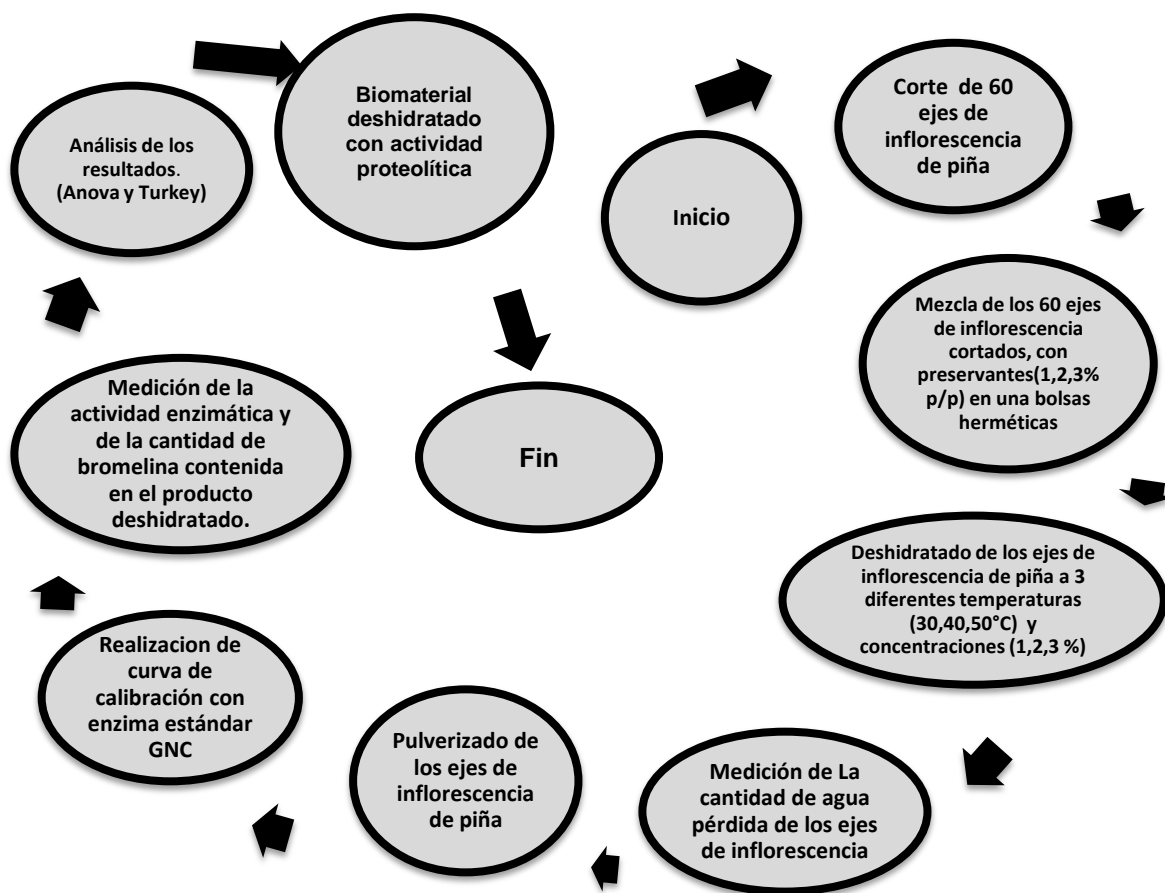
- Ejes de inflorescencia del fruto de piña
- Procedencia: Alimentos Campestre, 60 ejes de inflorescencia.

### **3.5. Técnica cuantitativa y cualitativa**

El parámetro de la actividad enzimática de la bromelina presente en el eje inflorescencia del fruto de la piña, es medible utilizando la técnica de “coagulación de leche”, contra un patrón estándar comercial, utilizando éste para determinar un estimado de la cantidad de bromelina presente en el extracto deshidratado.

La metodología para el análisis de la actividad enzimática y cuantificación de la cantidad de bromelina, se realizará en el laboratorio de la Escuela de Ingeniería Química.

Figura 11. Diagrama técnica cuantitativa



Fuente: elaboración propia.

### 3.5.1. Monitoreo

Para la obtención de información pertinente para la recolección de los diferentes tratamientos es necesaria la determinación de algunos puntos de interés, los cuales están íntimamente ligados a la actividad enzimática del producto deshidratado.

### **3.5.2. Temperatura**

El producto de los ejes de inflorescencia, se colocaron en un secador de flujo transversal, en que se realizarán las deshidrataciones a diferentes temperaturas; en las cuales la variación de las mismas no debe de excederse de un rango muy alto, fuera de la temperatura destinada de deshidratación.

### **3.5.3. Humedad relativa**

La humedad relativa debe estar en constante monitoreo para realizar los diferentes tratamientos con una variación no muy grande de ella, para realizarlos de una manera uniforme y así estimar cuales fueron las condiciones del proceso en sí.

### **3.5.4. Peso de las muestras**

El peso de la muestras es un parámetro que da una idea sobre cuánto peso en agua (humedad) está perdiendo esta muestra conforme avanza el tiempo. Pero no solamente eso, sino que da un parámetro de cuándo el secado ha llegado a su fin y el producto está listo para el siguiente paso.

## **3.6. Recolección y ordenamiento de la información**

Al evaluar los métodos para la recolección de la información como el ordenamiento del mismo se determinó que la mejor manera de realizarlos es tomando en cuenta los procedimientos que a continuación se describen.

### **3.6.1. Procedimientos para la recolección de información**

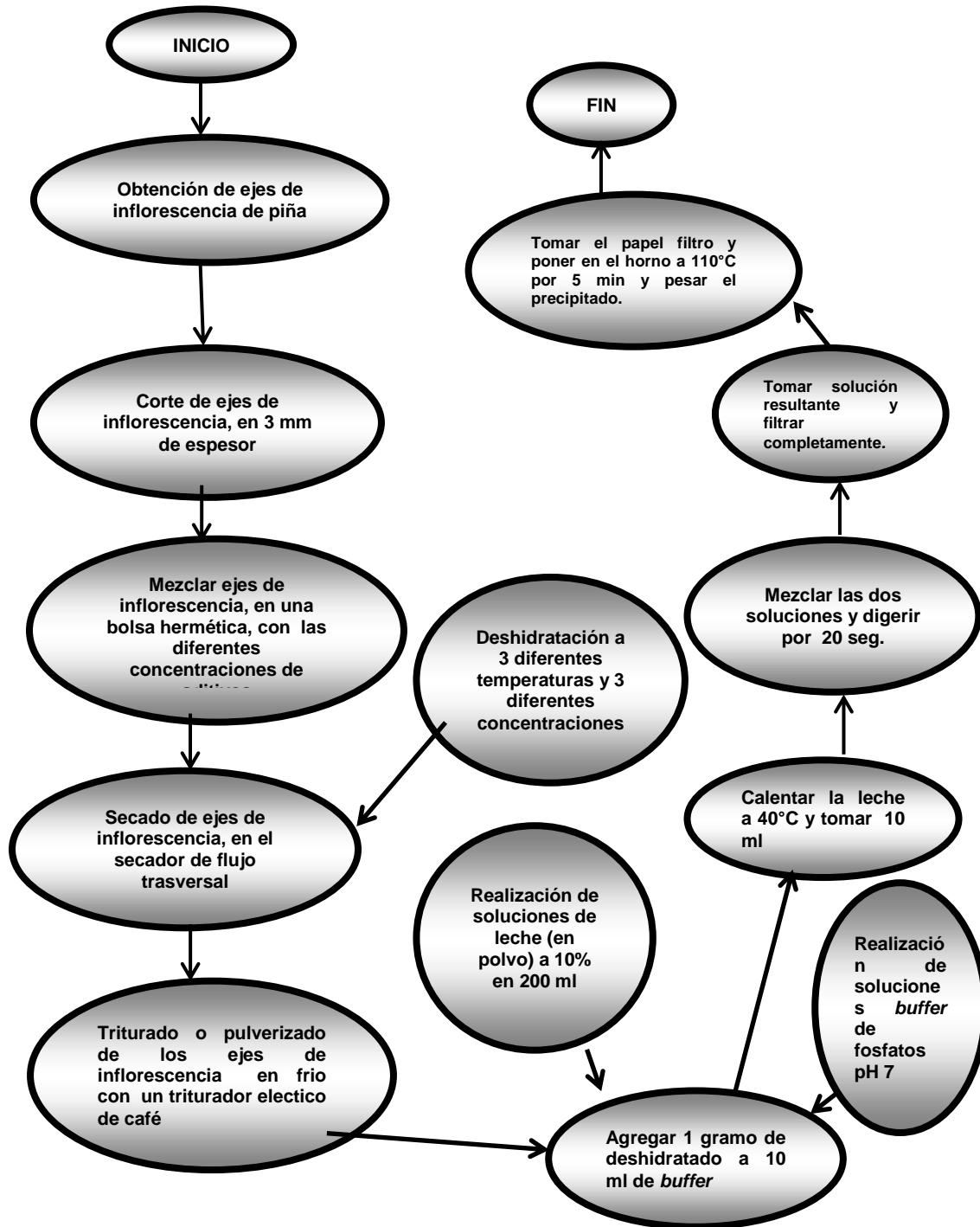
Con el fin de evaluar la actividad enzimática de los ejes de inflorescencia del fruto de piña, se utilizaron 2 variables experimentalmente, para observar el comportamiento de la bromelina y el efecto Maillard de la piña; en función no solamente de la temperatura, sino también de la cantidad de preservante agregado (ver tabla II), en alguna manera ayuda a impedir el pardeamiento, como también la mayor actividad enzimática posible.

Se tomarán los registros de las concentraciones utilizadas de preservantes, a cada temperatura (ver tabla II). Se procederá a secar los diferentes cilindros de piña, tomando registros de la cantidad de peso perdido para cada uno de los tratamientos a diferentes temperaturas y a intervalos definidos de tiempo, para cada uno de los tratamientos a realizar, tomando nota de la humedad relativa a la que se lleva el secado.

Posteriormente, con los productos deshidratados, se determinará la actividad enzimática, utilizando el método de coagulación de leche, cuantificando la actividad enzimática por medio de la cantidad de caseína precipitada (ver tabla IV), y con base en una curva de calibración realizada de caseína precipitada versus la actividad enzimática de bromelina comercial. Realizando esto para cada uno de los productos deshidratados y anotando cada uno de los pesos de caseína precipitados. De la misma manera, se estimarán la cantidad de bromelina activa presente en el deshidratado.



Figura 12. Diagrama de flujo del procedimiento



Fuente: elaboración propia.

### **3.6.2. Diseño de observaciones y muestreo**

En el presente estudio se establecerá la actividad enzimática de los ejes de inflorescencia del fruto de piña deshidratados, en polvo. Por lo cual se llevará a cabo la deshidratación a 3 diferentes temperaturas 30°C, 40°C y 50°C. Estas temperaturas fueron seleccionadas con base en el conocimiento de que las enzimas en su mayoría de los casos, a 55°C comienzan a tener un decaimiento de la actividad enzimática, producto de la desnaturalización de la misma.

Es importante también mencionar que para la realización de los tratamientos, las temperaturas deben de ser bajas, ya que al ser un producto que contiene cierta cantidad de azúcares, a temperaturas muy altas de secado, pueden producir una caramelización y desnaturalización en la superficie del sólido, produciendo que el secado se obstaculice y no retire toda el agua no combinada que se espera. Por lo cual se seleccionó como rango óptimo de estudio, las temperaturas de 30-50°C.

Los ejes de inflorescencia del fruto de piña tienen un tamaño promedio de 6 cm de largo y 1 pulgada de diámetro, los cuales se cortarán en longitudinalmente, en espesores de 3 mm y siempre de 1 pulgada de espesor.

Se tomarán datos de la pérdida de peso de piña, los cuales se encontrarán en unas canastas realizadas de malla galvanizada (16 X 12 cm), previamente desinfectadas, para su correcto pesado y transporte de los diferentes centros de piña a deshidratar, así de una forma rápida se puede pesar el producto y monitorear la cantidad de peso perdido cada 60 minutos.

Figura 13. **Canasta a utilizar y tamaño de los ejes de inflorescencia**



Fuente: elaboración propia.

Los ejes de inflorescencia de piña sometidos a 3 diferentes temperaturas, también serán sometidos a 3 diferentes concentraciones de antioxidantes y antimicrobiano, para determinar si hay diferencias significativas de la actividad enzimática, con los aditivos utilizados en la industria alimenticia. Por lo cual el resultado de esto es que se tendrán 12 tratamientos de deshidratado, 3 temperaturas y 3 concentraciones diferentes de preservantes, como una sin ninguno de ellos.

Para la realización de la medición de la actividad enzimática, se dispondrá de bromelina en cápsulas marca GNC, que será el patrón o enzima estándar para realizar una curva de calibración, de cantidad de caseína precipitada contra actividad enzimática suministrada en el suplemento de la enzima estándar.

Se procederá a tomar una muestra del producto deshidratado previamente triturado, diluyéndola en una cantidad de solución buffer de fosfatos (pH 7) y posteriormente se calentará a 40°. Se calentará leche a 40°C de la misma manera y se mezclará, tomando desde ese momento 1 minuto, filtrando y posteriormente poniendo en el horno a 100°C por 5 minutos, para determinar los gramos de caseína precipitada. Esto se realizará para todos los tratamientos de piña en polvo.

### **3.6.3. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de Información**

El ordenamiento de los datos como el procesamiento realizando, se hizo de una forma meteorológica, partiendo desde la obtención del producto fresco hasta la medición de la actividad enzimática.

#### **3.6.3.1. Determinación de datos para la pérdida de peso**

El contenido de agua que posee una muestra se puede expresar en forma porcentual (% peso/peso), que es la cantidad de agua que posee un producto después de un extraerle cierta cantidad de agua, entre la cantidad que poseía en su estado original, por 100.

- Procedimiento:
  - Pesar las canastilla a utilizar (canastas para ejes de inflorescencia cortados);
  - Esterilizar las canastillas;
  - Cortar ejes de inflorescencia de piña en trozos de 3mm;

- Lavar los ejes de inflorescencia de piña cortados con abundante agua;
- Escurrir hasta que no tengan agua en exceso;
- Agregar las concentraciones de ácido ascórbico y ácido cítrico a utilizar;
- Mezclar por 5 minutos;
- Escurrir nuevamente hasta que no contengan solución en exceso;
- Colocar en las canastillas;
- Encender el secador;
- Pesar las canastillas;
- Introducir las canastillas dentro del secador;
- Monitorear que la temperatura no se salga del rango;
- Tomar el peso de las canastillas cada 30 minutos;
- Monitorear cada 3 horas y apuntar los cambios que hay en la humedad relativa;
- Terminar con el proceso de secado hasta que ya no se encuentren cambios significativos en el peso de las canastillas con centros de piña;
- Determinar la humedad .

- Reactivos

- Ácido ascórbico, marca Quimiprova
- Ácido cítrico, marca Quimiprova
- Alcohol 90%, Disfavil, S.A
- Agua desmineralizada, marca Salvavidas

### 3.6.3.2. Determinación de la curva de calibración

- Procedimiento:
  - Pesar 7 píldoras de bromelina GNC y tomar el peso, dividir ese peso entre 7, para obtener un peso promedio;
  - Luego pulverizar las 4 píldoras;
  - Tomar una muestra de 0.25 g del pulverizado;
  - Agregar los 0.25 g en 10 ml de solución buffer de fosfatos pH 7, en un beaker;
  - Agitar la solución;
  - Calentar a 40°C;
  - Medir 10 g de leche;
  - En un balón de 100 ml disolver los 10 g de leche;
  - Agregar 10 ml de leche en un beaker;
  - Calentar hasta 40°C;
  - Encender el horno a 100°C;
  - Pesar un papel filtro para filtro *buchner*;
  - Colocar el papel filtro en el filtro y armar el equipo de filtración;
  - Mezclar la leche del paso 10 y la solución de bromelina con el-buffer ;
  - Tomar espere 20 Segundos;
  - Filtrar la solución después de los 20 segundos;
  - Retirar el papel filtro con el material;
  - Introducirlo en el horno, a 140°C;
  - Repetir el paso 3-18, aumentando al doble la cantidad de gramos en cada repetición.

- Reactivos:
  - Bromelina GNC de 4000 MCU/gramo
  - Ortofosfato monosódico, marca Baker
  - Ortofosfato disódico, marca Merck
  - Leche en polvo Borden
  - Agua desmineralizada Salvavidas

### **3.6.3.3. Determinación de la actividad enzimática**

- Procedimiento:
  - Agregar los 1 g en 10 ml de solución buffer de fosfatos pH 7 en un beaker;
  - Agite la solución;
  - Calentar a 40°C;
  - Medir 10 g de leche;
  - En un balón de 100 ml disolver los 10 g de leche;
  - Agregar 10 ml de leche en un beaker;
  - Calentar hasta 40°C;
  - Encender el horno a 140°C;
  - Pesar un papel filtro para filtro buchner;
  - Colar el papel filtro y armar el equipo de filtración;
  - Mezclar la leche del paso 10 y la solución de bromelina-buffer;
  - Esperar 1 minuto;
  - Filtrar la solución después de minuto;
  - Retirar el papel filtro con el material;
  - Introducirlo en el horno;
  - Anotar el peso de la muestra;

- Realizar nuevamente el procedimiento y anotar el resultado.
- Reactivos:
  - Polvo de piña deshidratada
  - Ortofosfato Monosódico, marca Baker
  - Ortofosfato Disódico, marca Merck
  - Leche en polvo, marca Borden
  - Agua desmineralizada, marca Salvavidas

### 3.7. Tablas de tabulación de datos

Tabla II. Datos experimentales de pérdida de peso

		Peso inicial (gramos)		Concentración de preservante m/m	
		1	2		
Temp °C					

Hr					
%					

		Peso Final		Humedad %	
		1	2	1	2
No.	Tiempo(H)				
1					
2					
3					
4					
5					

Fuente: elaboración propia.

\*Nota: esta misma tabla se utilizará en tanto los puntos de monitoreo a 30°, 40° y 50°C, como para las diferentes concentraciones de preservantes.



Tabla III. **Determinación de curva de calibración enzima GNC**

<b>Peso de Pastillas (Gr)</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Promedio</b>					

	<b>Peso de la pastilla(Gr)</b>	<b>Actividad enzimática (GDU)</b>	<b>Miligramos de bromelina (Gramos)</b>	<b>Peso de papel filtro (Gramos)</b>	<b>peso del filtrado seco (Gramos)</b>	<b>Peso de caseína precipitada (Gramos)</b>
1	0,0625	250	21,80			
2	0,125	500	43,63			
3	0,25	1 000	87,26			
4	0,5	2 000	174,53			
5	1	4 000	349,06			
6	1,5	6 000	523,59			
7	2	8 000	698,13			
8	2,5	10 000	872,66			

Fuente: elaboración propia.

Tabla IV. **Determinación la actividad enzimática**

	Temp deshidratación	Concentración	Humedad relativa (%)	(%) Humedad de la muestra	Peso de deshidratado (g)	Peso de papel filtro (g)	Peso de obtenido (g)	Caseína presipitada (g)	Actividad enzimática (g)	Gramos de bromelina (g)
1	30°C	3%								
2										
3										
4		2%								
5										
6										
7		1%								
8										
9										
10		0%								
11										
12										
13	40°C	3%								
14										
15										
16		2%								
17										
18										
19		1%								
20										
21										
22		0%								
23										
24										
25	50°C	3%								
26										
27										
28		2%								
29										
30										
31		1%								
32										
33										
34		0%								
35										
36										

Fuente: elaboración propia.

### 3.8. Análisis estadístico

Se utilizó según el diseño experimental un análisis factorial para el cual con los datos obtenidos, despejará dudas acerca de la relación entre variables y la influencia de las mismas en la investigación.

#### 3.8.1. Análisis de varianza de dos factores

Esta prueba se basa en fórmulas generales para el análisis de varianza de un experimento de dos factores, que es un método de análisis de mediciones en los que se varían dos variables simultáneamente, como en este caso, que son temperatura y concentración de preservantes, estudiando también el efecto de cada variable en el resultado. Utilizando observaciones repetitivas en un diseño completamente aleatorizado, se considera el caso de “n” réplicas de las combinaciones de tratamientos determinadas por a niveles del factor “a” y “b” niveles del factor b; se supone que la población tiene distribución normal.

Tabla V. **Diseño de experimento de dos factores con n réplicas**

Tratamientos (A)	Bloques (B)				Totales	Media
	1	2	3	b		
1	$Z(ijx)$	$Z(ijx)$	$Z(ijx)$	$Z(ijx)$	$T_i$	$y_i$
2	$Z(ijx)$	$Z(ijx)$	$Z(ijx)$	$Z(ijx)$	$T_i$	$y_i$
a	$Z(ijx)$	$Z(ijx)$	$Z(ijx)$	$Z(ijx)$	$T_i$	$y_i$
Totales	$T_j$	$T_j$	$T_j$	$T_j$	$\sum T_i = \sum T_j$	
Media	$y_j$	$y_j$	$y_j$	$y_j$		$\sum y_i = \sum y_j$

Fuente: WALPOLE, Ronald E. Probabilidad y estadística para ingenieros. p.509.

Tabla VI. **Análisis de varianza para el experimento de dos factores**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Calculada f
Efecto principal				
Tratamientos (A)	SSA	a-1	—	—
Bloques(B)	SSB	b-1	—	
Interacción de dos factores				
AB	SS(AB)	(a-1)(b-1)	—	—
Error	SSE	ab(n-1)	—	—
Total	SST	abn-1		

*Fuente:* WALPOLE, Ronald E. Probabilidad y estadística para ingenieros. p.510.

### 3.8.2. Prueba de Tukey

Existen varios métodos estándar para realizar comparaciones pareadas que permitan sustentar la credibilidad de la tasa de error I. El procedimiento implica encontrar una diferencia significativa entre las medias  $i$  y  $j$  ( $i$  no es igual a  $j$ ) si las diferencias entre medias excede el estadístico<sup>13</sup>  $q(\alpha, k, v) * s * (1/n)^{1/2}$

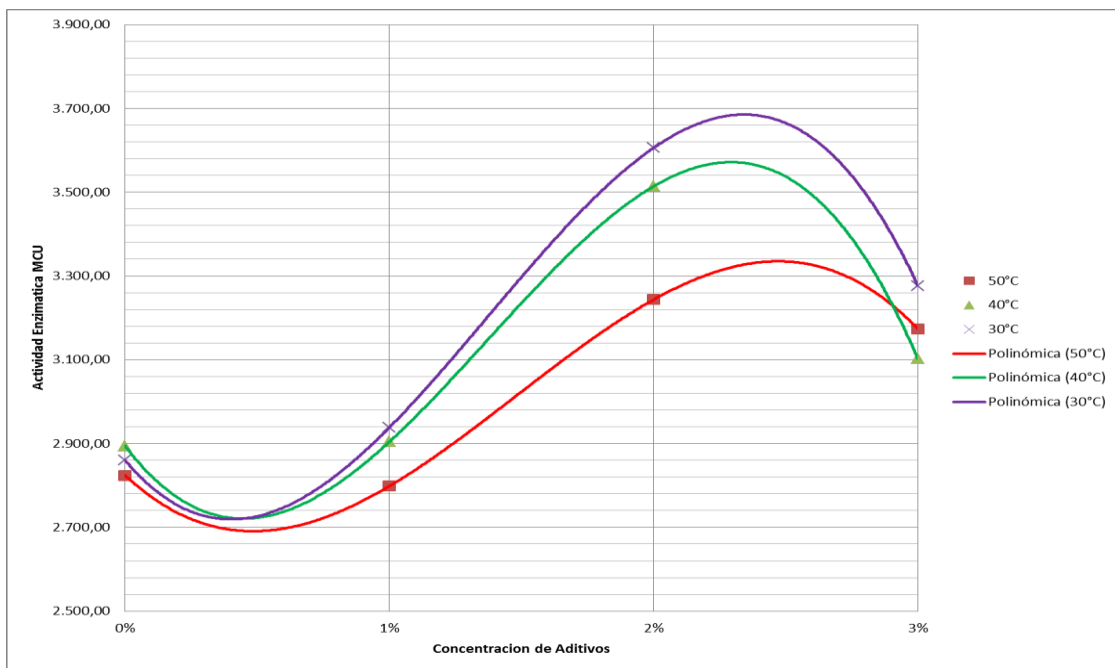
<sup>13</sup> WALPOLE Ronald E. Probabilidad y estadística para ingenieros. p. 309.



## 4. RESULTADOS

Los resultados obtenidos para alcanzar los objetivos planteados se muestran a continuación, descritos en orden cronológico.

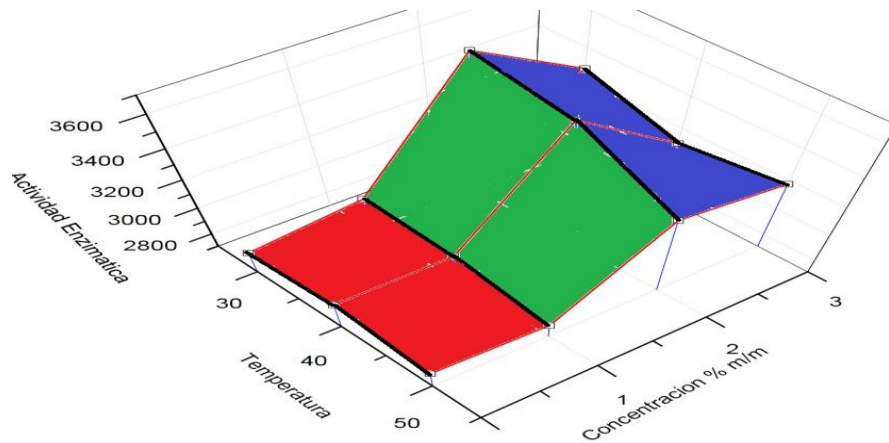
Figura 14. **Actividad proteínica promedio para diferentes concentraciones y temperaturas**



<span style="color: red;">■</span>	Polinómica 50°C	$Y = -3E+08x^3 + 1E+07x^2 - 74382x + 2859$	$R^2 = 1$
<span style="color: green;">▲</span>	Polinómica 40°C	$Y = -3E+08x^3 + 1E+07x^2 - 83029x + 2894,2$	$R^2 = 1$
<span style="color: purple;">×</span>	Polinómica 30°C	$Y = -2E+08x^3 + 7E+06x^2 - 58946x + 2824,2$	$R^2 = 1$

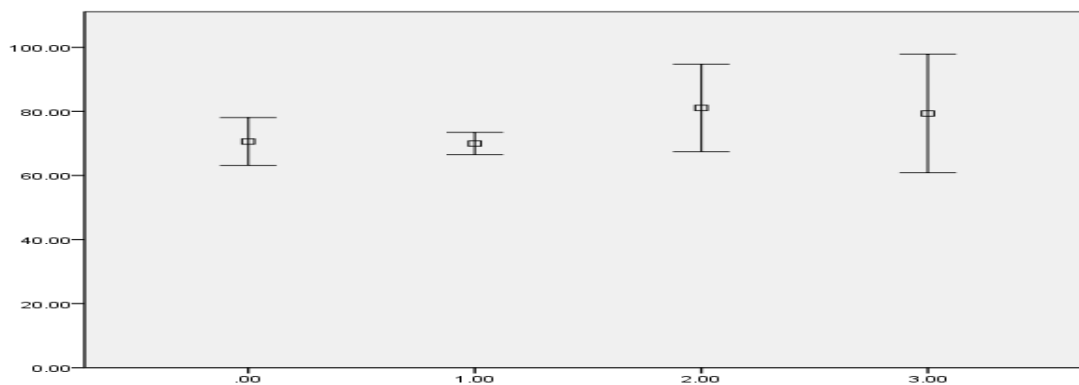
Fuente: elaboración propia. Datos calculados y presentados en la tabla XXII.

Figura 15. **Gráfico 3D de actividad proteolítica, concentración y temperatura**



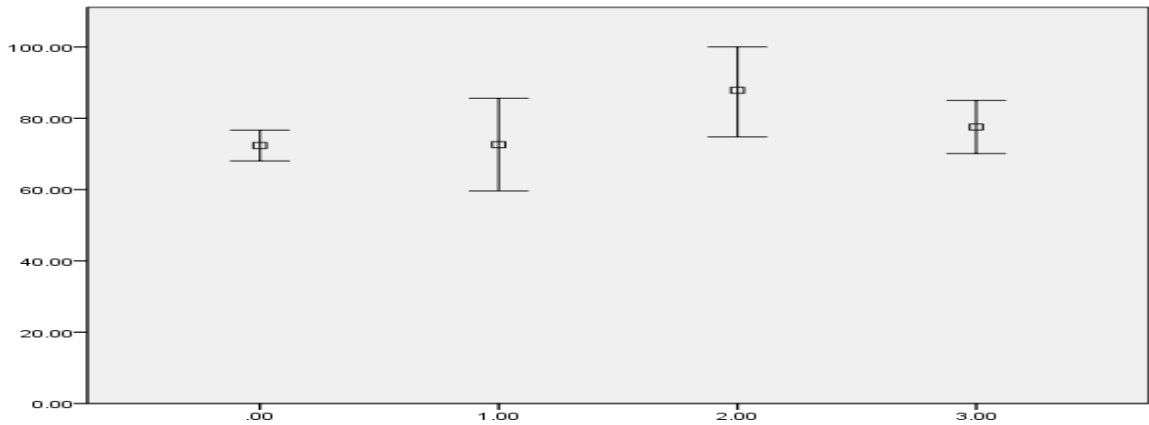
Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

Figura 16. **Rendimiento de actividad proteolítica promedio mediante técnica MCU a 50°C para diferentes concentraciones, respecto de 1 gramo de patrón estándar GNC a 4 000 MCU**



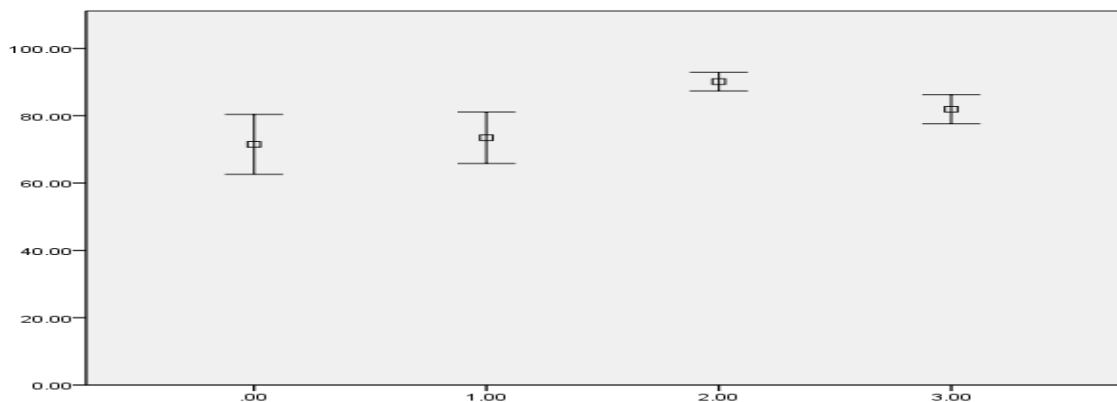
Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

Figura 17. **Rendimiento de actividad proteolítica promedio mediante técnica MCU a 40°C para diferentes concentraciones, respecto de 1 gramo de patrón estándar GNC a 4 000 MCU**



Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

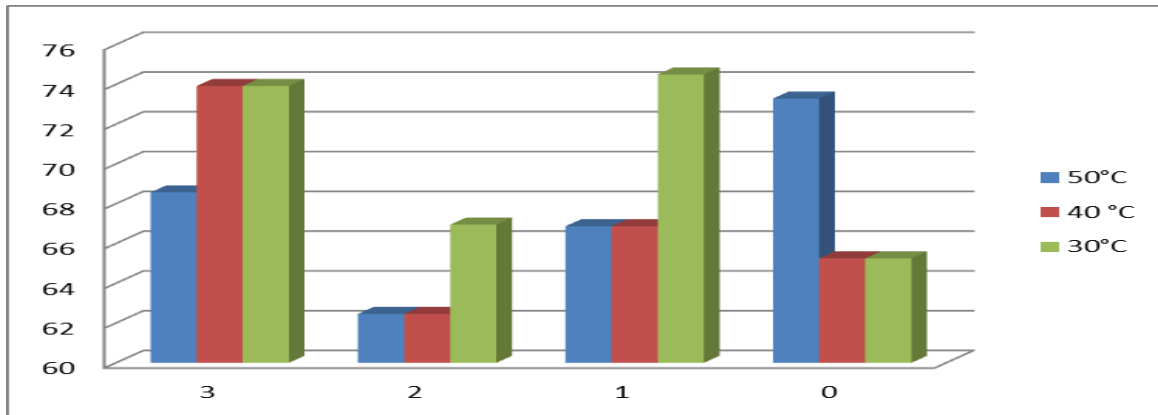
Figura 18. **Rendimiento de actividad proteolítica promedio mediante técnica MCU a 30°C para diferentes concentraciones, respecto de 1 gramo de patrón estándar GNC a 4 000 MCU**



Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

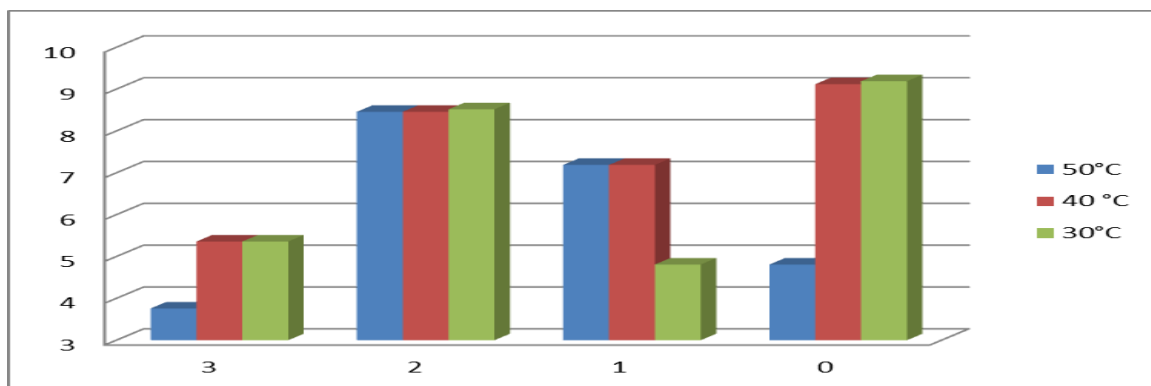


Figura 19. **Gráfico de luminosidad (L) en función de la concentración de preservantes**



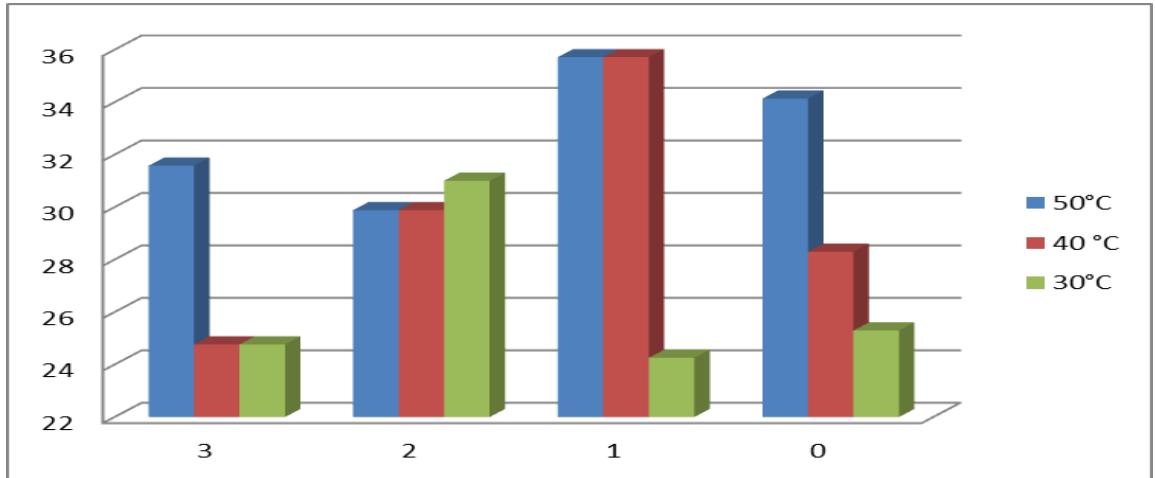
Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

Figura 20. **Gráfico de variación de rojizo-verdoso (a) en función de la concentración de preservantes**



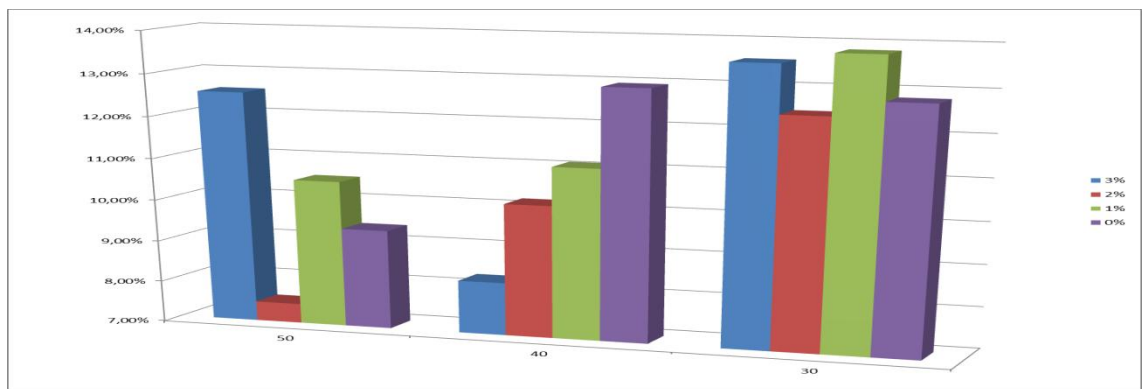
Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

Figura 21. **Gráfico de variación de amarillento-azulado (b) en función concentración de preservantes**



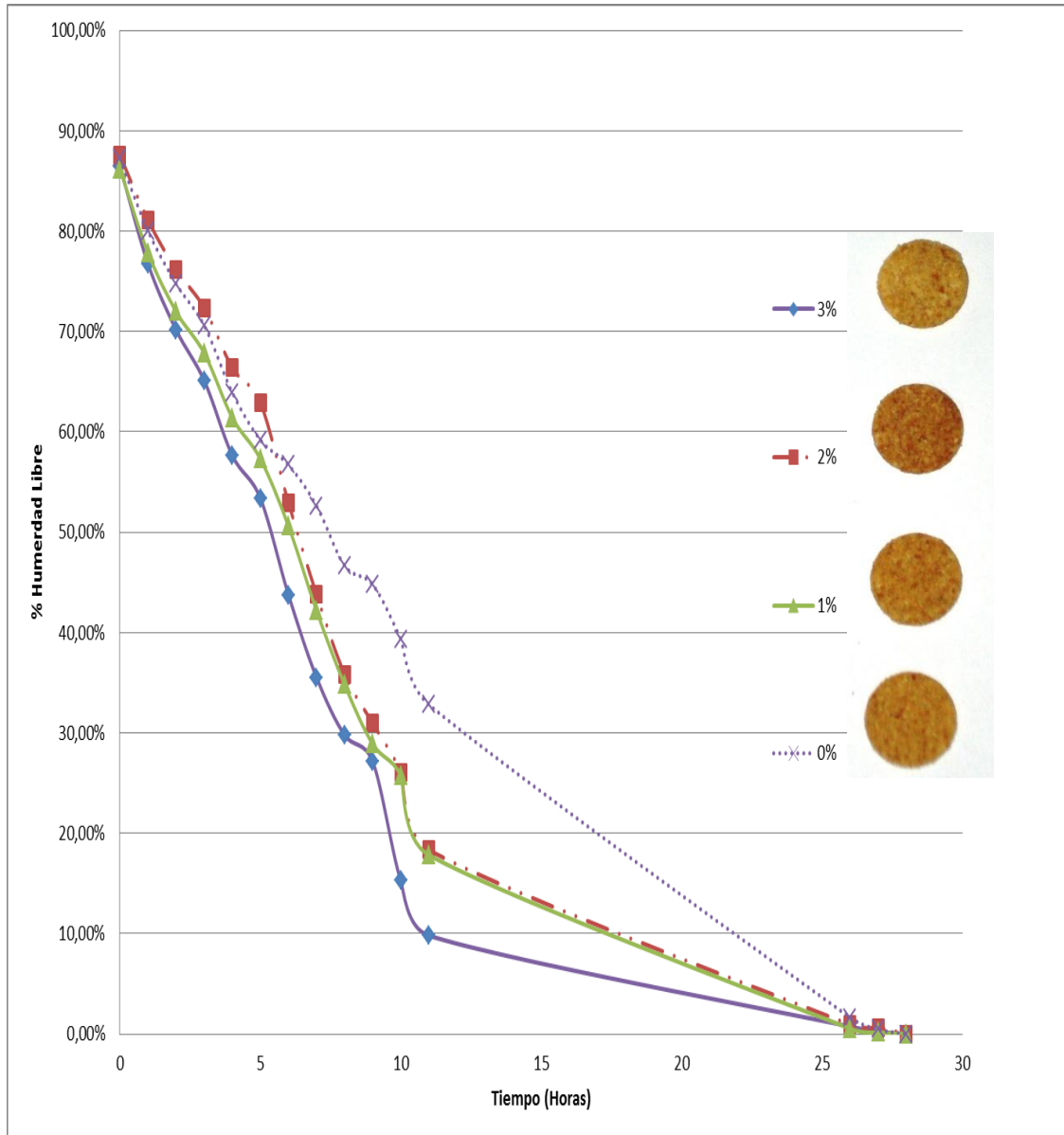
Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

Figura 22. **Humedad final de las muestras en función de la concentración de preservantes para distintas temperaturas**



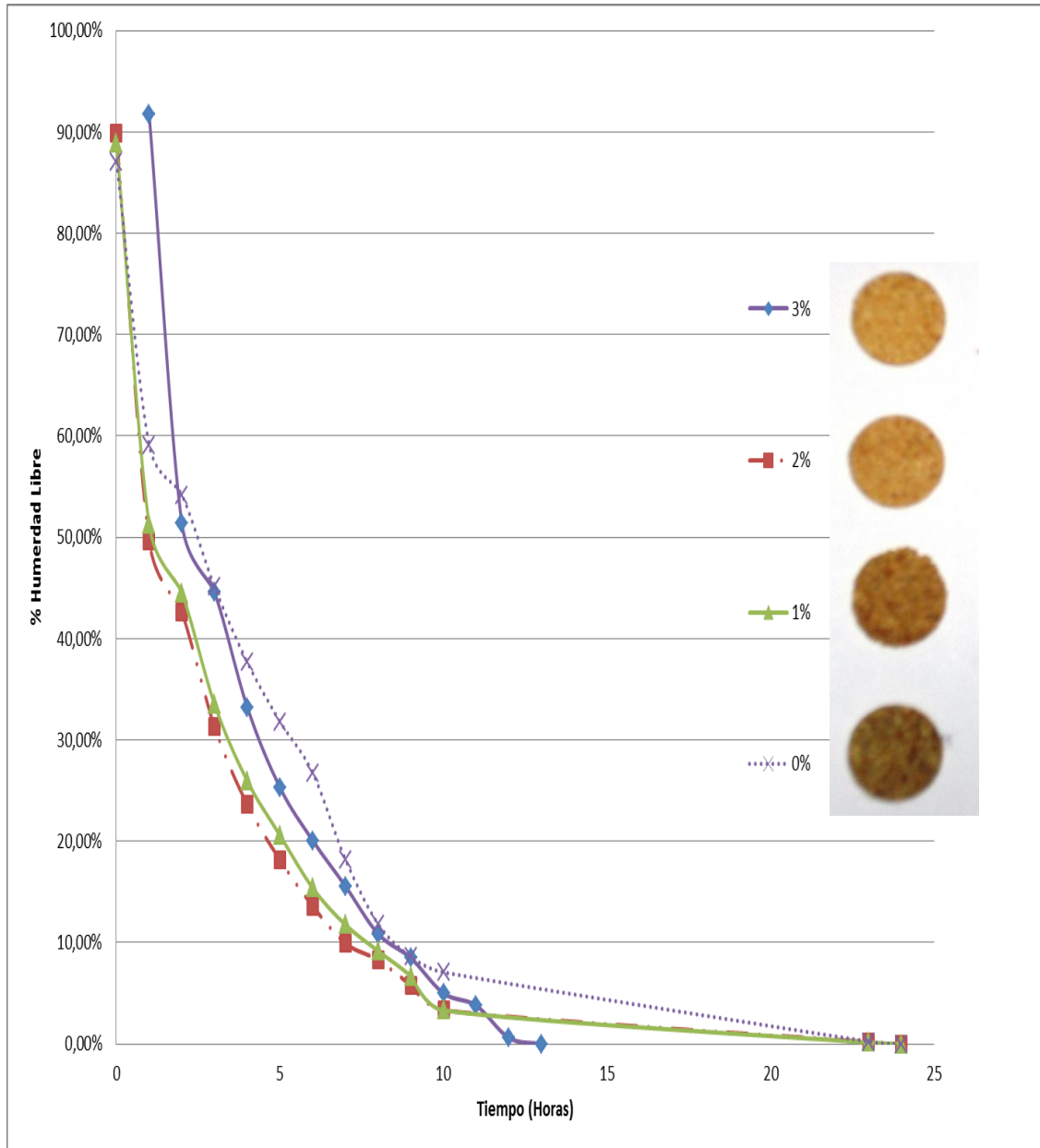
Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

Figura 23. **Curva de humedad libre a 30°C a diferentes concentraciones de preservantes (30% Hr) a 0.42 g/cm<sup>2</sup>**



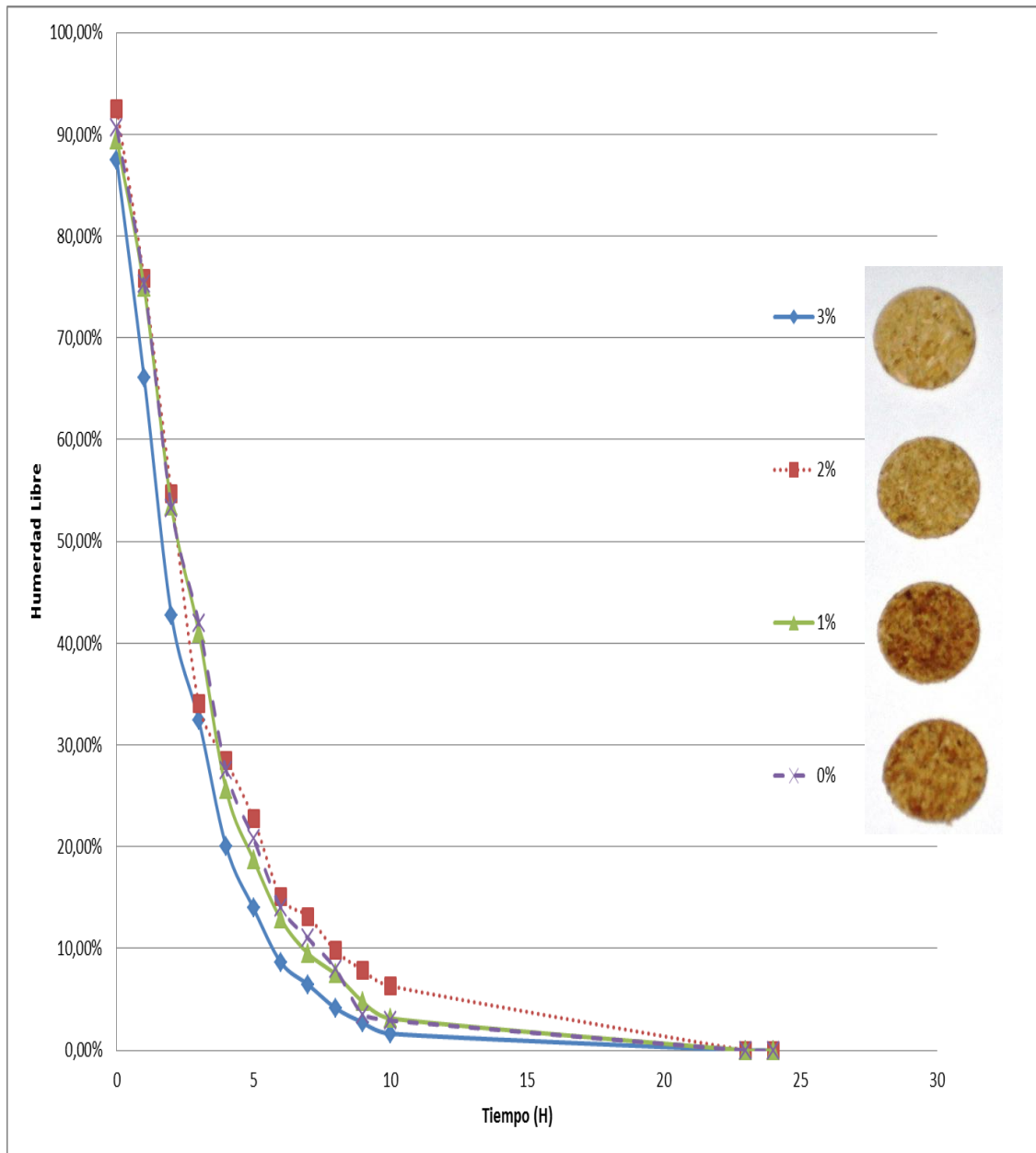
Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

Figura 24. Curva de humedad libre a 40°C a diferentes concentraciones de preservantes (60% Hr) a 0.83g/cm<sup>2</sup>



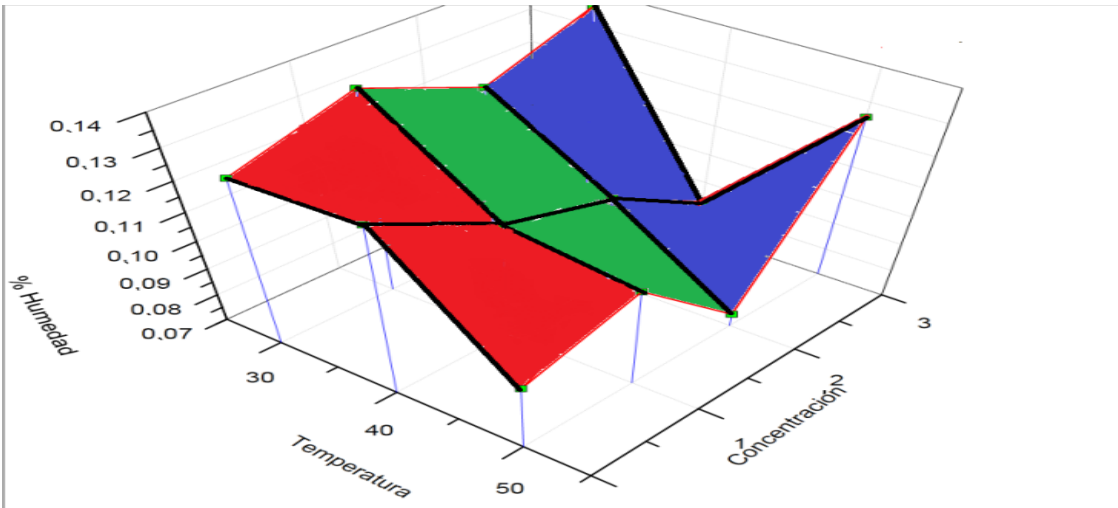
Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

Figura 25. Curva de secado a 50°C a diferentes concentraciones de preservantes (60%*Hr*) a 0.86 g/cm<sup>2</sup>



Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

Figura 26. Gráfico 3D de humedad final, concentración y temperatura



Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

Tabla VIII. **Interpretación de los datos obtenidos del análisis de varianza realizado para las diferentes actividades enzimáticas para diferentes concentraciones de preservantes, a diferentes temperaturas**

<b>Variable</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	<b>F crítico</b>	<b>Interpretación</b>
Temperatura	0,61	0,55	3,40	Ho se rechaza: sí se encuentra diferencia significativa entre las actividades enzimáticas de los productos deshidratados de piña, a diferentes temperaturas de deshidratación.
Concentración de preservantes	5,64	0,00	3,01	Ho se acepta: no existe diferencia en la actividad enzimática de los ejes de inflorescencia del fruto de piña deshidratados, cuando se utilizan diferentes concentraciones de preservantes.
Interacción	0,19	0,98	2,51	Ho se rechaza: hay suficiente evidencia estadística para establecer que, sí existe interacción en la actividad enzimática de los ejes de inflorescencia del fruto de piña deshidratados, cuando se utilizan diferentes concentraciones de preservantes y los diferentes tipos de temperaturas de deshidratación.

Fuente: elaboración propia.

Tabla VII. **Interpretación de los datos obtenidos del análisis de varianza realizado para las pruebas de color para diferentes concentraciones de preservantes, a diferentes temperaturas**

Variable	F	P	F crítico	Interpretación
Temperatura	3,10	0,03	2,61	Ho se acepta: no se encuentra diferencia significativa entre el color de los productos deshidratados de piña a diferentes temperaturas de deshidratación.
Concentración preservantes	0,02	1,00	2,84	Ho se rechaza: si existe diferencia en el color de los ejes de inflorescencia del fruto de piña deshidratado, cuando se utilizan diferentes concentraciones de preservantes.

Fuente: elaboración propia.

Tabla IX. **Prueba de Tukey aplicada a la concentración de preservantes**

	50 a 40		50 a 30		40 a 30	
	Diferencia		Diferencia		Diferencia	
<b>3%</b>	15,05	No Significativa	21,71	No Significativa	36,76	No Significativa
<b>2%</b>	56,92	Significativa	76,23	Significativa	19,31	No Significativa
<b>1%</b>	22,24	No Significativa	29,44	No Significativa	7,20	No Significativa
<b>0%</b>	7,47	No Significativa	7,47	No Significativa	7,26	No Significativa

Fuente: elaboración propia.



Tabla IX. Prueba de Tukey aplicada a la temperatura

	<b>3 a 2</b>		<b>3 a 0</b>		<b>2 a 0</b>	
<b>T (°C)</b>	<b>Diferencia</b>		<b>Diferencia</b>		<b>Diferencia</b>	
<b>50</b>	14,68	No significativa	73,54	Significativa	88,22	Significativa
<b>40</b>	86,65	Significativa	43,76	No significativa	130,41	Significativa
<b>30</b>	69,21	Significativa	87,78	Significativa	156,98	Significativa
	<b>3 a 1</b>		<b>2 a 1</b>		<b>1 a 0</b>	
	<b>Diferencia</b>		<b>Diferencia</b>		<b>Diferencia</b>	
<b>50</b>	78,94	Significativa	93,63	Significativa	5,40	No significativa
<b>40</b>	41,66	No significativa	128,31	Significativa	2,11	No significativa
<b>30</b>	71,21	Significativa	140,41	Significativa	16,57	No significativa

Fuente: elaboración propia. Datos calculados.

## 5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se evaluó la actividad enzimática presente en el eje de inflorescencia de piña, deshidratado a nivel laboratorio. La deshidratación de los ejes de inflorescencia fueron cortados en rodajas de 3 mm de espesor y con un radio de 2,5 cm (1 pulgada), adicionándoles previamente una mezcla de proporción 1:1 en peso de ácido ascórbico y ácido cítrico en diferentes concentraciones (3, 2, 1,0% en peso).

La medición de la actividad enzimática de la bromelina presente en el eje de inflorescencia, se realizó por medio de la cuantificación de la caseína precipitada de la leche; en donde al medir la cantidad de caseína precipitada, se introduce ese resultado en un modelo matemático obtenido con una bromelina estándar (GNC) con unidades conocidas, determinando el contenido enzimático como rendimiento del mismo, respecto del patrón GNC.

Teniendo en cuenta que en este método los puntos críticos de control, la uniformidad de la leche es un factor muy importante, ya que debe de ser homogénea en todo momento, como la temperatura de muestreo debe de ser a 40°C. Estos factores son importantes ya que si uno de ellos se modifica, la cantidad de caseína precipitada no será un reflejo del contenido enzimático.

En figura 14 se encuentra la gráfica de la actividad enzimática en unidades de coagulación de leche (MCU), en función de la cantidad de preservantes agregados para cada una de las isoterma de deshidratación (30, 40,50°C).

La actividad enzimática tiene una tendencia polinomio de grado 3, por lo cual se observa un punto máximo del contenido enzimático; respecto de los datos experimentales se encuentran en la tendencia del 2%, que es el punto máximo experimental en todos los tratamientos y un valor mínimo experimental que se encuentra en 1%.

Respecto de las funciones de la tendencia de datos, se observa que el máximo de las mismas se encuentra no en una concentración exacta de preservante sino a una concentración alrededor de un punto intermedio que se encuentra en el 2.35% de preservante; siendo los valores que se encuentran en 3 y 0%, los valores intermedios de la función polifónica de grado 3.

En los valores máximos de las isotermas se puede observar que la variabilidad de la isotermas no es muy significativa para los tratamientos de 30 (azul) y 40 °C (verde), pero para la isoterma de 50°C que se encuentra en una diferencia gráfica apreciable respecto de las isotermas de 40°C y 30°C, en donde hay un decrecimiento importante de la actividad enzimática. En la isoterma de color rojo (50°C) es evidente que la desnaturalización proteica de bromelina por la temperatura de deshidratación y el efecto gradual que se ve en las isotermas subsiguientes, siendo la isoterma de 30°C la que menos desnaturalización proteica presenta.

Los rendimientos obtenidos respecto de un gramo de bromelina comercial GNC que contiene 4 000 MCU, se encuentran graficados en la figura 16,17 y 18, en donde para el mejor de los tratamientos enzimáticos es a 2% de preservante; se encuentra en 90% para la isoterma de 30°C (figura 18), a un intervalo de confianza de  $\pm 2.78\%$  y de 88% para la isoterma de 40°C (figura 17), con un intervalo de confianza de  $\pm 13\%$ .

La tendencia de los rendimientos para las demás isothermas no marca una diferencia muy significativa para cada uno de los tratamientos a diferentes isothermas, pero sí hay variaciones en los intervalos de confianza calculados. Este efecto de la mínima variación en la eficiencia, es producto de la fricción ocasionada en la molienda de los diferentes tratamientos que es un factor crítico, así como la temperatura de deshidratación. Ya que al tener una humedad baja o actividad de agua menor, la fricción que ocasiona en la molienda es mucho mayor, y la temperatura del proceso se incrementa gradualmente, según el tiempo de retención del producto dentro de esta operación, llegando a alcanzar temperaturas alrededor de los 70°C.

Al analizar la concentración de preservante en función de la colorimetría del producto deshidratado, y cómo se comporta el color en función de la temperatura de deshidratación, determinando si existe influencia de estos en el deterioro de la coloración en los diferentes productos deshidratados; analizando esto por medio de un colorímetro utilizando el modelo CIE-L\*a\*b de 1976; este modelo se basa en un esquema tridimensional en donde se encuentran representados 3 diferentes ejes de color que son: rojo-verde(a), amarillo-azul (b) y blanco-negro o luminosidad (L) de la muestra.

En la figura 19, se encuentran los valores de luminosidad de las muestras en función de la concentración de preservante y temperatura; se encuentra que la luminosidad para los diferentes tratamientos de preservantes no toma una tendencia en particular, pero demuestra mejores resultados en la muestra de 3%, en donde se encuentra una tendencia similar en las isothermas de 30 y 40 °C, disminuyendo en la isoterma de 50°C; esta es comparable a los efectos térmicos encontrados en la concentración de 1% en las isothermas de 50 y 40 °C; las luminosidades más altas encontradas se encuentran en 30°C a

concentraciones de 1% y 2%, y de para 3% para las temperaturas 30°C y 40°C.

En las figuras 20 y 21, las variaciones de rojizo-verdoso son uniformes para las muestras de 2%, teniendo una tendencia todos los tratamientos térmicos a una coloración rojiza más que verdosa; de la misma manera pasa con la coloración de amarillento-azulado en donde también la tendencia es amarillenta, la muestra que tiene más tendencia a una coloración verdosa es la que se encuentra a 3% y 50°C.

La colorimetría de los tratamientos basada en las coordenadas tridimensionales en forma conjunta refleja que la incidencia entre las coordenadas de rojizo-verdoso(a) y amarillento-azulado (b), no son relativamente significantes ya que si se ven las variaciones entre unas son mínimas en la misma coordenada de color, pero si se observa una tendencia grande a un color amarillo que a un color rojizo, pero en la coordenada de la luminosidad (L), sí hay varias disparidades las cuales marcan la intensidad de los colores fuertemente, siendo esta la coordenada de incidencia o la que indica la presencia de la oxidación del producto. Por lo cual se puede decir que la incidencia del ácido ascórbico como antioxidante, trabaja específicamente en la mantención de la coordenada de luminosidad (L).

Los posibles caminos oxidación del producto están dados por 3 mecanismos no enzimáticos que son oxidación por reacciones de Maillard, caramelización del producto y oxidación del ácido ascórbico, influenciado fuertemente por reacciones de Maillard, ya que la piña, por ser un producto con contenido de azúcares, proteínas y aminoácidos, durante el tratamiento térmico que fue prolongado, degrada estos productos.

La utilización en el tratamiento de deshidratación en igual proporción másica de ácido ascórbico y ácido cítrico, realizó un efecto sinérgico en donde el ácido cítrico, acidificó las soluciones primarias de los ejes de inflorescencia, garantizando que la concentración de hidrógeno se elevará de tal manera que no se encontrarán las condiciones óptimas para que se llevara a cabo las reacción de Maillard, ya que aunque estas reacciones se llevan a cabo tanto para medios ácidos como alcalinos, son más fuertemente influenciadas en medio básico; y el ácido ascórbico que es el que actúo eficazmente como antioxidante, no solamente, deteniendo la reacción de Maillard, sino también de la degradación del mismo ácido ascórbico.

En la figura 23 se encuentra la gráfica de humedad libre a 30°C, en donde se observan dos períodos de velocidad constante siendo el primero en el intervalo de 0 a 10 horas y el segundo de 10 horas en adelante; lo cual indica que la transferencia de masa agua aire a esa temperatura, es relativamente baja y uniforme respecto del tiempo, no encontrándose un intervalo de velocidad decreciente.

Este intervalo de velocidad decreciente que en 30°C no es apreciable, en la curva de deshidratación a 40°C (figura 24) sí se encuentra. En esa curva, en el intervalo de 0 a 2 horas, se encuentra el intervalo de velocidad constante en donde la transferencia de agua es superior a la encontrada en la curva de 30°C, pero conforme el tiempo avanza, se observa que la transferencia de masa que cambia, efecto de la cantidad de agua no ligada que contenía el material, fue retirada de la superficie del sólido haciendo que la misma sea más lenta, por lo cual el agua se difunde del interior del sólido hacia el exterior, convirtiéndose el mismo sólido en una resistencia natural.

Esto también se ve reflejado en la curva de deshidratación a 50°C (figura 25), aunque de una manera más pronunciada por el efecto de la temperatura, denotando que conforme la temperatura sube, en cada uno de los tratamientos encontrados se aumenta la velocidad instantánea de pérdida de humedad libre, por lo cual el coeficiente de transferencia de masa es mayor, aunque a 50°C casi no hay diferencia aparente en las gráficas de cada tratamiento a esa temperatura, mientras que en las temperaturas de 40°C y más en la de 30°C, se ve que no hay uniformidad en el efecto térmico del material respecto de la velocidad instantánea de pérdida de agua, lo cual explica la variabilidad de las humedades finales de los materiales.

La humedad de las muestras para los distintos tratamientos se encuentra graficada en la figura 22. En donde la humedad del tratamiento a 50°C con 2% de aditivo es de 7,47%, con lo cual se determina que la humedad de equilibrio de los ejes de inflorescencia de piña se encuentra entre 7 y 8% respectivamente, y la humedad más alta en las muestras se encuentra en la deshidratación de 30°C con 1% es 13,83%.

En la deshidratación de 30° C, aunque el tratamiento térmico no fue del todo uniforme para cada una de las muestras, como lo muestra la curva de deshidratación, el tiempo de deshidratación de los tratamientos fue lo suficientemente largo como para que la velocidad de transferencia de masa se uniformizara para cada uno de los tratamientos, reflejando esto en las humedades finales de ese tratamiento (30°C) que todas la humedades no tienen intervalos de variación muy grandes, denotando que las humedades de los tratamientos a 3% con la de 1% son relativamente parecidas; como las humedades de los tratamientos de 2% y 0% de preservante agregado.

Las variaciones de la humedad final de las muestras son más evidentes en las deshidrataciones de 40 y 50°C, en donde la variación de humedades en la muestra de 40°C y 50°C es de forma escalonada, comenzando en el caso de 40°C desde la humedad más baja que es de 3%, hasta la humedad más alta que es a 0%. y en el caso de 50°C la humedad más baja es la de 2% y continuando así con las muestras de 0, 1 y 3%.

Las variaciones obtenidas en las deshidrataciones, pueden estar influenciadas por la humedad relativa en el interior del secador así como también la variación de la velocidad del aire dentro del secador. Para tratamientos de 40 y 50°C alcanzó el 30% de humedad relativa en la última etapa de deshidratación, mientras que para el caso de las muestras a 30°C, solamente alcanzó 60% de humedad relativa. Las tendencias descritas anteriormente se ven claramente en la figura 26, en donde se encuentra un plano que muestra la variación de la humedad final, respecto de las diferentes temperaturas y concentraciones.

En la figura 26, la humedad final en la concentración de 2%, a 50°C es la humedad más baja en todos los tratamientos, en donde se denota que la intensidad de la luminosidad en la figura 19, también corresponde a los valores más bajos.

Analizando la humedad relativa interna del secador que alcanzó valores de 30% y al tener la humedad más baja de todas, se puede corroborar que en algún momento del secado, las muestras que se sometieron a estos tratamientos fueron altamente influenciadas por una caramelización por la alta temperatura interior, por lo cual los tratamientos tenían un olor a dulce, igual que el de una reacción de Maillard, ya que la activación de estas reacciones comienza alrededor de 12% de humedad.



Al comparar los datos de la figura 22 con los de la figura 26, se ve una ligera tendencia de la humedad final respecto de la actividad enzimática, ya que para las muestras que poseen una humedad final bajo la actividad enzimática, se comporta de la misma manera, como la concentración de 3% de preservante a 40°C , una humedad final 8,27% y una actividad enzimática baja alrededor de los 3 102,17 MCU; lo cual es lógico y demuestra la correlación que existe entre la actividad enzimática respecto de la actividad de agua.

Revisando nuevamente los datos de rendimientos de la actividad enzimática que se encuentran en la figura 22, se puede concluir que la actividad enzimática no se encuentra influenciada por la cantidad de preservante agregado, sino que está en función de temperatura de deshidratación y la actividad de agua; aunque más de la primera que de la segunda. Esto se ve claramente al analizar los gráficos de superficie en las figura 15 y 26.

En el análisis de varianza en la tabla VIII, se reafirma esta tendencia de los gráficos de superficie, en donde demuestra que no hay incidencia significativa en la adición de preservantes en la actividad enzimática, pero sí se encuentra incidencia significativa en las diferentes temperaturas de deshidratación, teniendo una probabilidad de 0,55 o del 55%, sí de que la actividad enzimática se vea disminuida por una desnaturalización proteica causada por la temperatura.

En la prueba de Tukey, muestra específicamente por medio de la obtención de un intervalo de confianza, que la información sobre cuáles actividades enzimáticas presentan variaciones significativas entre temperaturas y cuáles no son significativamente variables entre ellas, dando como resultado que el mejor tratamiento efectivamente fue el de 2% y que a todas las temperaturas dadas hay variaciones de la actividad enzimática. Con la prueba

de Tukey aplicada a la concentración de preservantes no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los tratamiento, a excepción del tratamiento realizado con el 2% de preservante.



## CONCLUSIONES

1. Es posible obtener un corazón de piña deshidratado con una actividad enzimática alrededor de 3,500 MCU, y conservando las características de color mediante la adición de un antioxidante a un porcentaje de 2 a 2.5%.
2. La actividad enzimática de la bromelina en el eje de inflorescencia de piña, no está influenciada o mejorada, por la preservación de los conservantes agregados.
3. La cantidad de conservante agregado (ácido ascórbico/ácido cítrico) ayuda en el tratamiento térmico para detener el oscurecimiento por la degradación del producto, por reacciones de oxidación no enzimáticas (Maillard).
4. El período de velocidad de deshidratación constante para las diferentes temperaturas de deshidratación fluctuó entre cinco a diez horas.
5. La luminosidad L, es la que predomina en las variaciones del color en los distintos tratamientos.
6. Es posible obtener un biomaterial con alto contenido enzimático, por medio de un tratamiento térmico de deshidratación y cuidando la característica de color (40°C y 2% de preservante).



## RECOMENDACIONES

1. Realizar una evaluación de color CIE-L\*a\*b utilizando BHT en combinación de BHA, para determinar si este antioxidante es más efectivo que la vitamina C en el color del producto deshidratado de la piña.
2. Investigar más sobre el efecto de la maduración de la piña, respecto de la actividad enzimática, enfocándose en la clase de piña y qué tanta variabilidad se encontrará en la actividad enzimática entre una y otra clase.
3. Realizar el posible aprovechamiento de la bromelina, en el uso como sustituyentes de los cuajos de origen animal y su implicación o posible aplicación en ese campo.
4. Realizar las pruebas de secado considerando variaciones de la cantidad de material a secar/área, para evitar el posible caramelizado del material por baja humedad relativa del aire.
5. Monitorear la temperatura de deshidratación como la temperatura de molienda, en el proceso de obtención del corazón de piña con una actividad enzimática proteolítica.



## BIBLIOGRAFÍA

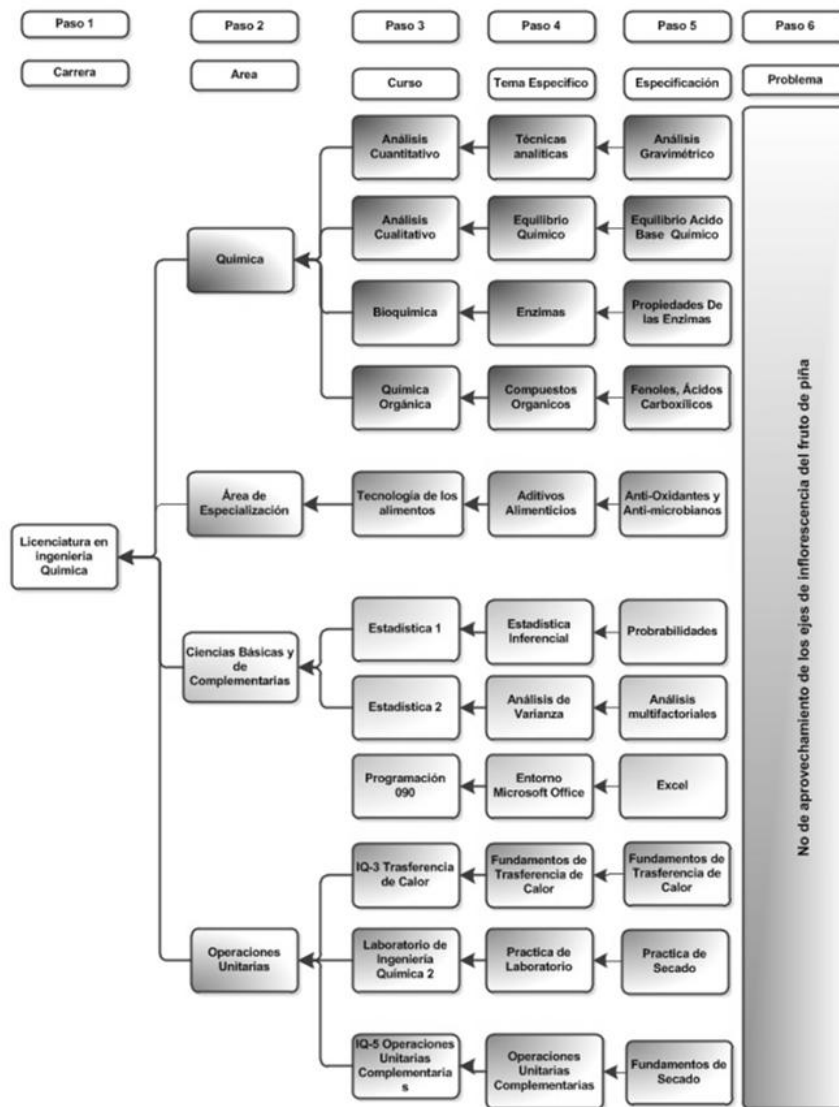
1. EARLE, R.L. *Ingeniería de alimentos*, 2ª ed. España. Acribia, 1988. 203 p.
2. GADAI DERGAL, Salvador. *Química de los alimentos*, 2a ed. México: Alhambra, 1990. 648 p.
3. GERMAN, J. Bruce. *Food additives revised and expanded*, 2a ed. United States of America: Marcel Dekker , 2001. 938 p.
4. LEHNINGER, *Principios de bioquímica*, 4a ed. México: Omega, 2005. 1119 p.
5. *The pineapple botany, production and uses*. Bartholomew, D.P.; Paul, R.E.; Rohrbach , K.G.(eds) United States of America: Cabi, 2002. 301 p.
6. SHARMA, Mulvaney. *Ingeniería de alimentos, operaciones unitarias y prácticas de laboratorio*. México: Limusa Wiley, 2003. 348 p.
7. THERON, María M. *Organic acids and food preservation*. United States of America: Taylor & Francis, 2011. 318 p
8. WALPOLE, Ronald E. *Probabilidad y estadística para ingenieros*. 4a ed. Mexico: McGraw-Hill, 1992. 797 p.





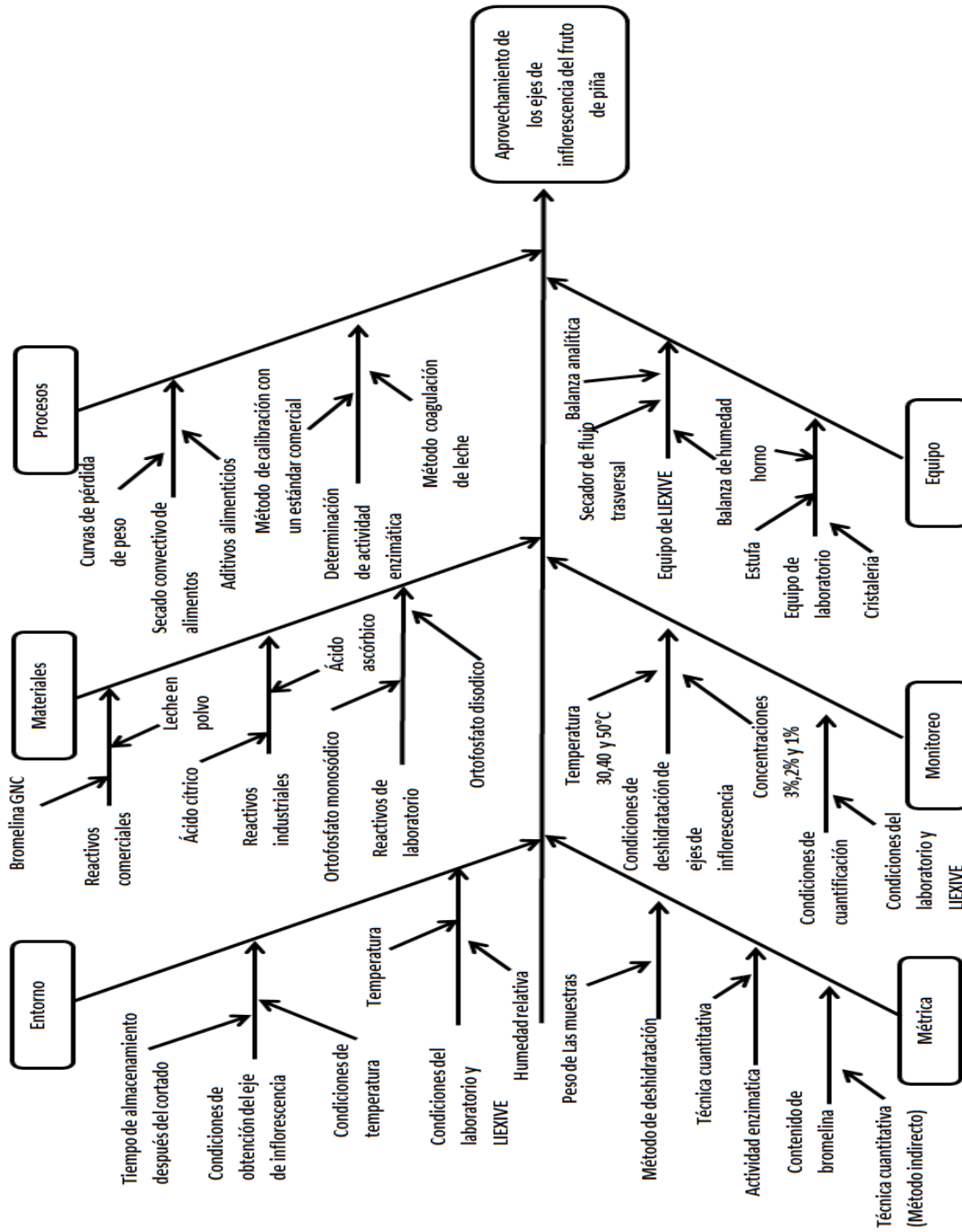
# APÉNDICES

Apéndice 1. **Tabla de requisitos académicos**



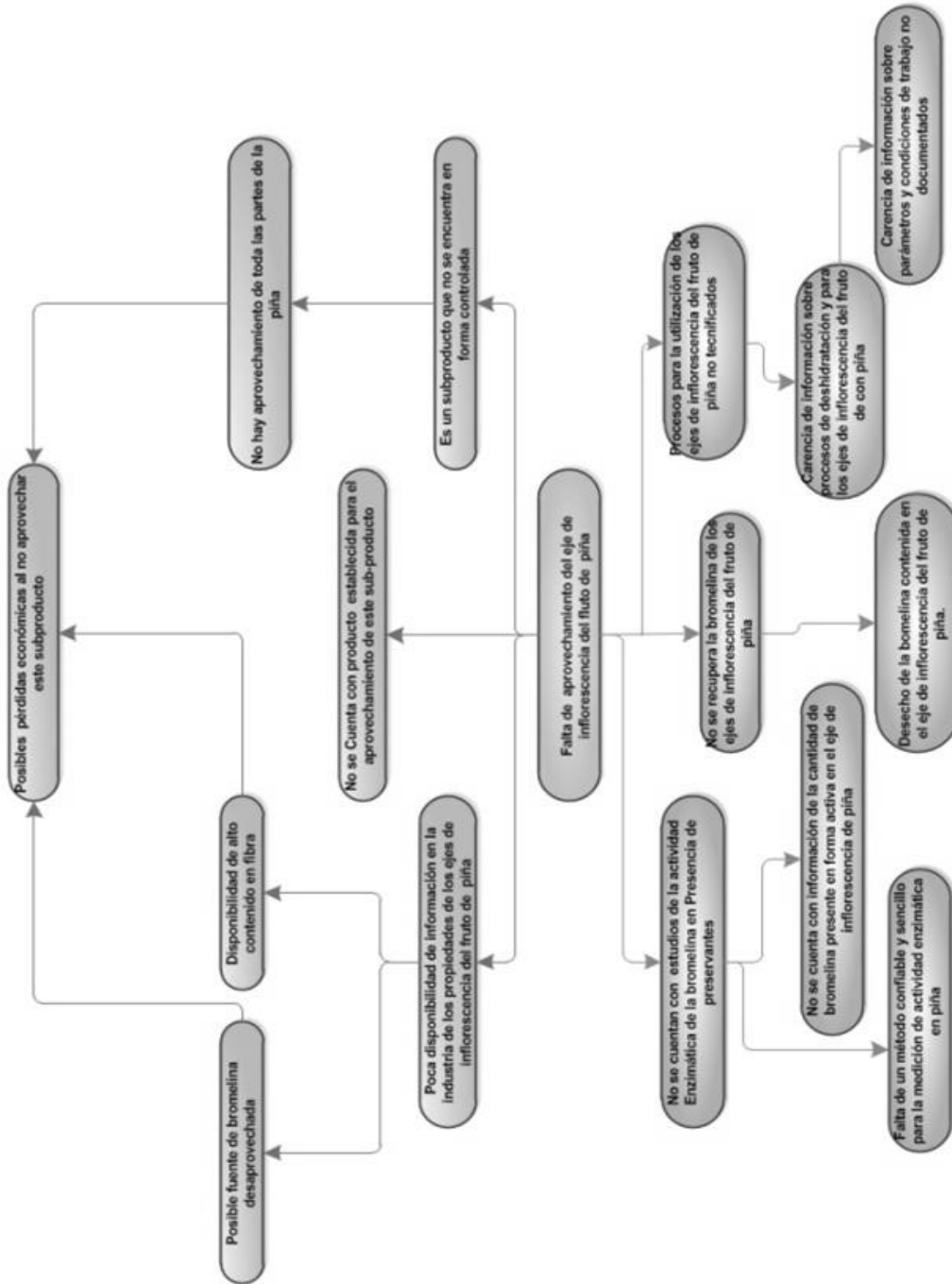
Fuente: elaboración propia.

## Apéndice 2. Diagrama de Ishikawa



Fuente: elaboración propia.

### Apéndice 3. Árbol de problemas



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 4. **Datos de la curva de tara para las diferentes bandejas utilizadas en gramos**

Tara							
8	7	6	5	4	3	2	1
66,14	50,52	67,13	55,83	70,45	62,7	68,06	67,68

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 5. **Datos de la curva de deshidratación para 30°C en gramos con la tara**

<b>Tiempo</b>	<b>3%</b>		<b>2%</b>		<b>1%</b>		<b>0%</b>	
<b>Bandeja</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<b>0</b>	184,93	144,45	188,91	153,17	209,53	184,79	203,83	193,23
<b>1</b>	173,48	135,29	180,61	147,26	196,49	175,88	194,14	184,16
<b>2</b>	165,46	129,29	175,09	142,04	187,5	169,46	187,18	177,41
<b>3</b>	159,31	124,67	169,72	138,94	181,36	164,77	181,67	172,06
<b>4</b>	150,52	117,6	161,48	133,91	171,75	157,48	172,84	163,42
<b>5</b>	145,36	113,66	156,73	130,91	165,78	152,72	165,78	158,08
<b>6</b>	138,81	100,76	143,73	121,9	154,22	146,5	163,39	154,11
<b>7</b>	128,45	93,48	134,67	111,35	146,63	132,57	158,28	148,59
<b>8</b>	119,76	89,57	126,37	102,52	131,45	127,89	150,34	140,89
<b>9</b>	115,56	87,93	123,25	95,48	128,12	116,38	148,23	138,15
<b>10</b>	101,45	76,78	117,78	90,43	125,9	110,73	140,68	131,48
<b>11</b>	96,23	70,67	107,83	83,27	110,78	104,62	131,22	123,85
<b>26</b>	83,3	63,85	83,20	69,05	92,05	78,82	89,20	84,43
<b>27</b>	83,09	63,10	83,13	68,56	91,29	78,59	86,31	84,16
<b>28</b>	82,66	62,96	82,23	68,01	91,28	78,18	85,55	83,67

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 6. **Datos de la curva de deshidratación para 40°C en gramos con la tara**

<b>Tiempo</b>	<b>3%</b>		<b>2%</b>		<b>1%</b>		<b>0%</b>	
<b>Bandeja</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<b>0</b>	170,22	150,34	196,08	164,91	198,37	174,71	197,35	190,42
<b>1</b>	130,56	107,77	140,95	123,88	148,82	133,76	161,99	155,39
<b>2</b>	123,52	100,94	132,43	115,67	140,63	125,83	155,79	149,18
<b>3</b>	111,46	89,9	118,61	102,74	126,89	113,20	144,5	137,63
<b>4</b>	102,93	82,27	109,36	93,83	117,28	104,69	134,97	128,39
<b>5</b>	96,52	77,99	102,48	87,76	110,41	98,69	127,35	121,28
<b>6</b>	90,33	74,94	93,45	85,45	100,35	95,85	119,25	116,57
<b>7</b>	85,35	70,32	89,82	80,52	97,25	90,45	109,15	105,17
<b>8</b>	83,32	67,5	87,85	78,58	93,15	88,23	100,82	97,45
<b>9</b>	80,48	63,3	85,53	75,14	90,33	85,15	95,78	94,26
<b>10</b>	78,36	62,9	80,98	73,58	88,56	79,15	93,45	92,75
<b>23</b>	74,24	60,5	80,07	67,50	84,25	75,80	84,98	83,98
<b>24</b>	74,21	59,3	80,07	67,08	84,24	75,47	84,57	83,79

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 7. **Datos de la curva de deshidratación para 50°C en gramos con la tara**

<b>Tiempo</b>	<b>3</b>		<b>2</b>		<b>1</b>		<b>0</b>	
<b>Bandeja</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<b>0</b>	150,92	125,26	166,69	131,08	192,51	168,69	183,04	179,57
<b>1</b>	138,72	104,07	152,26	116,88	177,32	151,07	164,26	163,62
<b>2</b>	120,75	85,07	131,24	100,95	150,74	128,62	141,36	136,53
<b>3</b>	112,3	77,07	102,24	91,85	135,66	115,37	127,13	125,14
<b>4</b>	99,51	69,81	103,89	82,25	116,73	99,08	110,39	109,07
<b>5</b>	93,28	66,26	97,09	78,75	107,25	92,79	102,01	102,18
<b>6</b>	86,83	63,99	91,08	71,76	100,24	86,50	93,63	95,23
<b>7</b>	84,29	62,95	88,47	70,83	96,78	82,3	90,04	91,92
<b>8</b>	81,47	62,00	83,84	69,26	93,19	81,14	86,34	88,80
<b>9</b>	79,98	61,18	82,51	67,38	89,47	78,63	79,35	85,54

Continuación apéndice 7

<i>Tiempo</i>	<b>3</b>		<b>2</b>		<b>1</b>		<b>0</b>	
<b>Bandeja</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<b>10</b>	78,84	60,56	81,45	65,85	87,48	76,92	80,30	83,38
<b>24</b>	76,93	59,78	74,57	61,45	82,86	74,23	78,12	78,91
<b>25</b>	76,93	59,78	74,58	61,44	82,86	74,23	78,12	78,91

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 8. **Datos de caseína precipitada para cada una de las mediciones de actividad enzimática, a diferentes temperaturas y concentraciones**

<b>Temp</b>		<b>Caseína precipitada</b>		
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>50</b>	3%	1,096	1.124	1,140
	2%	1,124	1.140	1,142
	1%	1,140	1.142	1,137
	0%	1,142	1.137	1,127
<b>40</b>	3%	1,142	1,137	1,127
	2%	1,137	1,127	1,139
	1%	1,127	1,139	1,142
	0%	1,139	1,142	1,141
<b>30</b>	3%	1,139	1,142	1,141
	2%	1,142	1,141	1,141
	1%	1,141	1,141	1,138
	0%	1,141	1,138	1,134

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 9. **Cálculos de las humedades a 50°C**

<b>Tiempo</b>	<b>3%</b>		<b>2%</b>		<b>1%</b>		<b>0%</b>	
<b>Bandeja</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<b>1</b>	85,61%	71,65%	85,51%	81,13%	87,56%	83,38%	83,67%	85,74%
<b>2</b>	64,41%	46,23%	64,39%	59,96%	65,78%	62,19%	63,75%	61,53%
<b>3</b>	54,45%	35,52%	35,27%	47,87%	53,42%	49,69%	51,37%	51,35%
<b>4</b>	39,36%	25,81%	36,92%	35,11%	37,92%	34,32%	36,82%	36,99%
<b>5</b>	32,01%	21,06%	30,09%	30,46%	30,15%	28,39%	29,53%	30,83%
<b>6</b>	24,40%	18,02%	24,06%	21,17%	24,41%	22,45%	22,24%	24,62%
<b>7</b>	21,41%	16,63%	21,43%	19,93%	21,57%	18,49%	19,12%	21,66%
<b>8</b>	18,08%	15,36%	16,78%	17,85%	18,63%	17,40%	15,90%	18,88%
<b>9</b>	16,32%	14,26%	15,45%	15,35%	15,58%	15,03%	9,2%	15,96%
<b>10</b>	14,98%	13,43%	14,38%	13,32%	13,95%	13,42%	10,65%	14,03%
<b>23</b>	12,74%	12,39%	6,78%	8,27%	10,18%	10,89%	8,5%	10,04%
<b>24</b>	12,74%	12,39%	6,78%	8,27%	10,18%	10,89%	8,5%	10,04%
<b>25</b>	12,73%	12,39%	7,48%	7,46%	10,17%	10,88%	8,5%	10,04%
<b>% Final</b>	12,56%		7,47%		10,52%		9,39%	

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 10. **Cálculos de las humedades a 40°C**

<b>Tiempo</b>	<b>3%</b>		<b>2%</b>		<b>1%</b>		<b>0%</b>	
<b>Bandeja</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<b>1</b>	61,89%	57,35%	57,25%	62,39%	61,26%	63,44%	72,65%	71,46%
<b>2</b>	55,13%	50,51%	50,64%	54,86%	54,86%	56,36%	67,86%	66,40%
<b>3</b>	43,54%	39,45%	39,92%	43,01%	44,12%	45,09%	59,12%	56,99%
<b>4</b>	35,35%	31,81%	32,75%	34,84%	36,61%	37,49%	51,75%	49,46%
<b>5</b>	29,19%	27,52%	27,41%	29,27%	31,24%	32,13%	45,86%	43,67%
<b>6</b>	23,24%	24,46%	20,41%	27,15%	23,37%	29,60%	39,59%	39,83%
<b>7</b>	18,46%	19,84%	17,60%	22,63%	20,95%	24,77%	31,78%	30,54%
<b>8</b>	16,51%	17,01%	16,07%	20,86%	17,75%	22,79%	25,34%	24,25%



Continuación de apéndice 10.

Tiempo	3%		2%		1%		0%	
Bandeja	8	7	6	5	4	3	2	1
9	13,78%	12,80%	14,27%	17,70%	15,54%	20,04%	21,44%	21,66%
10	11,74%	12,40%	10,74%	16,27%	14,16%	14,69%	19,64%	20,43%
23	7,78%	10,00%	10,03%	10,70%	10,79%	11,70%	13,09%	13,28%
24	7,75%	8,80%	10,03%	10,31%	10,78%	11,40%	12,77%	13,13%
% Final	<b>8,27%</b>		<b>10,17%</b>		<b>11,09%</b>		<b>12,95%</b>	

Fuente: elaboración propia.

### Apéndice 11. Cálculos de las humedades a 30°C

Tiempo	3%		2%		1%		0%	
Bandeja	8	7	6	5	4	3	2	1
1	90,36%	90,25%	93,18%	93,93%	90,62%	92,70%	92,86%	92,78%
2	83,61%	83,86%	88,65%	88,57%	84,16%	87,44%	87,74%	87,40%
3	78,43%	78,94%	84,24%	85,38%	79,75%	83,60%	83,68%	83,14%
4	71,03%	71,41%	77,48%	80,21%	72,84%	77,63%	77,17%	76,26%
5	66,69%	67,22%	73,58%	77,13%	68,54%	73,73%	71,97%	72,00%
6	61,18%	53,49%	62,90%	67,88%	60,23%	68,64%	70,21%	68,84%
7	52,45%	45,74%	55,46%	57,04%	54,77%	57,23%	66,45%	64,44%
8	45,14%	41,57%	48,65%	47,97%	43,86%	53,40%	60,60%	58,31%
9	41,60%	39,83%	46,08%	40,73%	41,47%	43,97%	59,05%	56,13%
10	29,72%	27,96%	41,59%	35,55%	39,87%	39,34%	53,49%	50,82%
11	25,33%	21,45%	33,42%	28,19%	29,00%	34,34%	46,52%	44,74%
26	14,45%	14,19%	13,20%	13,58%	15,53%	13,20%	15,57%	13,34%
27	14,27%	13,39%	13,14%	13,08%	14,98%	13,01%	13,44%	13,13%
28	13,91%	13,24%	12,40%	12,51%	14,98%	12,68%	12,88%	12,74%
% Final	<b>13,58%</b>		<b>12,46%</b>		<b>13,83%</b>		<b>12,81%</b>	

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 12. **Curva de calibración de la bromelina con una enzima estándar comercial**

Pastilla g	Crisol	Papel	Peso	Caseína	MCU	Bromelina
0,125	25,578	0,544	26,578	0,41	500	43,633
0,25	25,578	0,549	26,592	0,465	1000	87,266
0,5	25,578	0,55	26,8	0,672	2000	174,532
1	25,578	0,547	27,047	0,922	4000	349,065
1,5	25,578	0,539	27,471	1,354	6000	523,597
2	25,578	0,546	27,801	1,677	8000	698,129
2,5	25,578	0,541	28,018	1,899	10000	872,661

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 13. **Datos calculados para la curva de porcentaje de humedad libre a 50°C**

3%		3% μ	2%		2% μ	1%		1% μ	0%		0% μ
8	7		6	5		4	3		2	1	
87,26 %	87,61 %	87,44 %	93,22 %	91,73 %	92,48 %	89,82 %	89,11 %	89,47 %	91,25 %	89,96 %	90,61 %
72,87 %	59,26 %	66,06 %	78,73 %	72,86 %	75,80 %	77,38 %	72,49 %	74,93 %	74,92 %	75,71 %	75,31 %
51,67 %	33,84 %	42,76 %	57,61 %	51,69 %	54,65 %	55,60 %	51,31 %	53,46 %	55,00 %	51,50 %	53,25 %
41,71 %	23,13 %	32,42 %	28,49 %	39,60 %	34,04 %	43,25 %	38,81 %	41,03 %	42,62 %	41,32 %	41,97 %
26,62 %	13,42 %	20,02 %	30,14 %	26,84 %	28,49 %	27,74 %	23,44 %	25,59 %	28,07 %	26,96 %	27,51 %
19,27 %	8,67% %	13,97 %	23,31 %	22,19 %	22,75 %	19,97 %	17,50 %	18,74 %	20,78 %	20,80 %	20,79 %
11,67 %	5,63% %	8,65% %	17,28 %	12,90 %	15,09 %	14,23 %	11,57 %	12,90 %	13,49 %	14,59 %	14,04 %
8,67% %	4,24% %	6,46% %	14,65 %	11,67 %	13,16 %	11,40 %	7,60% %	9,50% %	10,37 %	11,63 %	11,00 %
5,34% %	2,97% %	4,16% %	10,00 %	9,58% %	9,79% %	8,45% %	6,51% %	7,48% %	7,15% %	8,84% %	7,99% %
3,59% %	1,87% %	2,73% %	8,67% %	7,08% %	7,88% %	5,41% %	4,14% %	4,77% %	1,07% %	5,93% %	3,50% %
2,24% %	1,04% %	1,64% %	7,60% %	5,05% %	6,33% %	3,78% %	2,53% %	3,15% %	1,90% %	3,99% %	2,95% %
0,00% %	0,00% %	0,00% %	0,00% %	0,00% %	0,00% %	0,00% %	0,00% %	0,00% %	0,00% %	0,00% %	0,00% %

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 14. **Datos calculados para la curva de porcentaje de humedad libre a 40°C**

3		3%	2		2%	1		1%	0		0%
8	7	μ	6	5	μ	4	3	μ	2	1	μ
92,25 %	91,20 %	91,73 %	89,97 %	89,69 %	89,83 %	89,22 %	88,60 %	88,91 %	87,23 %	86,87 %	87,05 %
54,14 %	48,56 %	51,35 %	47,21 %	52,07 %	49,64 %	50,48 %	52,04 %	51,26 %	59,88 %	58,33 %	59,11 %
47,38 %	41,72 %	44,55 %	40,60 %	44,55 %	42,58 %	44,08 %	44,96 %	44,52 %	55,09 %	53,28 %	54,18 %
35,79 %	30,66 %	33,22 %	29,89 %	32,69 %	31,29 %	33,34 %	33,68 %	33,51 %	46,35 %	43,87 %	45,11 %
27,59 %	23,01 %	25,30 %	22,71 %	24,52 %	23,62 %	25,83 %	26,09 %	25,96 %	38,98 %	36,34 %	37,66 %
21,44 %	18,72 %	20,08 %	17,38 %	18,96 %	18,17 %	20,46 %	20,73 %	20,59 %	33,09 %	30,54 %	31,82 %
15,49 %	15,67 %	15,58 %	10,38 %	16,84 %	13,61 %	12,59 %	18,19 %	15,39 %	26,82 %	26,71 %	26,77 %
10,70 %	11,04 %	10,87 %	7,56 %	12,32 %	9,94 %	10,17 %	13,37 %	11,77 %	19,01 %	17,42 %	18,22 %
8,75 %	8,21 %	8,48 %	6,03 %	10,54 %	8,29 %	6,97 %	11,39 %	9,18 %	12,57 %	11,13 %	11,85 %
6,02 %	4,01 %	5,02 %	4,23 %	7,39 %	5,81 %	4,76 %	8,64 %	6,70 %	8,67 %	8,53 %	8,60 %
3,99 %	3,61 %	3,80 %	0,71 %	5,96 %	3,33 %	3,38 %	3,29 %	3,33 %	6,87 %	7,30 %	7,08 %
0,03 %	1,20 %	0,62 %	0,00 %	0,39 %	0,19 %	0,01 %	0,29 %	0,15 %	0,32 %	0,15 %	0,24 %
0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 15. **Datos calculados para la curva de porcentaje de humedad libre a 30°C**

3		3%	2		2%	1		1%	0		0%
8	7	μ	6	5	μ	4	3	μ	2	1	μ
86,09 %	86,76 %	86,42 %	87,60 %	87,49 %	87,54 %	85,02 %	87,32 %	86,17 %	87,12 %	87,26 %	87,19 %
76,45 %	77,00 %	76,73 %	80,79 %	81,42 %	81,10 %	75,65 %	80,02 %	77,84 %	79,98 %	80,04 %	80,01 %
69,70 %	70,62 %	70,16 %	76,25 %	76,05 %	76,15 %	69,18 %	74,76 %	71,97 %	74,85 %	74,66 %	74,76 %
64,53 %	65,70 %	65,11 %	71,84 %	72,87 %	72,36 %	64,77 %	70,92 %	67,85 %	70,80 %	70,40 %	70,60 %
57,13 %	58,17 %	57,65 %	65,08 %	67,70 %	66,39 %	57,86 %	64,95 %	61,41 %	64,29 %	63,52 %	63,91 %
52,78 %	53,98 %	53,38 %	61,18 %	64,62 %	62,90 %	53,57 %	61,05 %	57,31 %	59,09 %	59,27 %	59,18 %
47,27 %	40,24 %	43,76 %	50,50 %	55,36 %	52,93 %	45,25 %	55,96 %	50,61 %	57,33 %	56,11 %	56,72 %
38,55 %	32,49 %	35,52 %	43,06 %	44,52 %	43,79 %	39,80 %	44,55 %	42,17 %	53,57 %	51,71 %	52,64 %
31,23 %	28,33 %	29,78 %	36,25 %	35,45 %	35,85 %	28,88 %	40,72 %	34,80 %	47,72 %	45,58 %	46,65 %
27,70 %	26,58 %	27,14 %	33,68 %	28,22 %	30,95 %	26,49 %	31,29 %	28,89 %	46,17 %	43,39 %	44,78 %
15,82 %	14,71 %	15,27 %	29,19 %	23,03 %	26,11 %	24,89 %	26,66 %	25,78 %	40,61 %	38,08 %	39,34 %
11,42 %	8,21 %	9,82 %	21,02 %	15,68 %	18,35 %	14,02 %	21,66 %	17,84 %	33,64 %	32,00 %	32,82 %
0,54 %	0,95 %	0,74 %	0,80 %	1,07 %	0,93 %	0,55 %	0,52 %	0,54 %	2,69 %	0,61 %	1,65 %
0,36 %	0,15 %	0,26 %	0,74 %	0,57 %	0,65 %	0,01 %	0,34 %	0,17 %	0,56 %	0,39 %	0,48 %
0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %

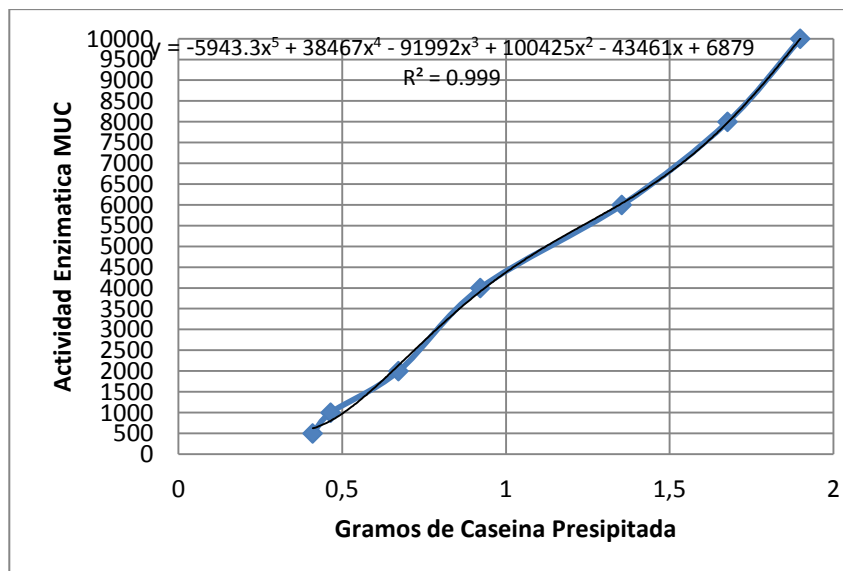
Fuente: elaboración propia.

Apéndice 16. **Datos calculados de la actividad enzimática para distintas concentraciones**

	Concentraciones			
	3%	2%	1%	0%
50	3.490,23	3.320,00	2.910,82	2.975,10
50	3.320,00	2.910,82	2.975,10	2.863,08
50	2.910,82	2.975,10	2.863,08	2.734,97
40	2.975,10	2.863,08	2.734,97	3.146,58
40	2.863,08	2.734,97	3.146,58	3.007,80
40	2.734,97	3.146,58	3.007,80	3.085,33
30	3.146,58	3.007,80	3.085,33	3.085,33
30	3.007,80	3.085,33	3.085,33	2.872,20
30	3.085,33	3.085,33	2.872,20	2.813,00

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 17. **Gráfico de la curva de calibración con la enzima estándar y ecuación de la actividad enzimática**



Fuente: elaboración propia.

# ANEXOS

## Anexo 1. Figuras de deshidratación

1. Bolsas utilizadas para la mezcla y conservación del producto



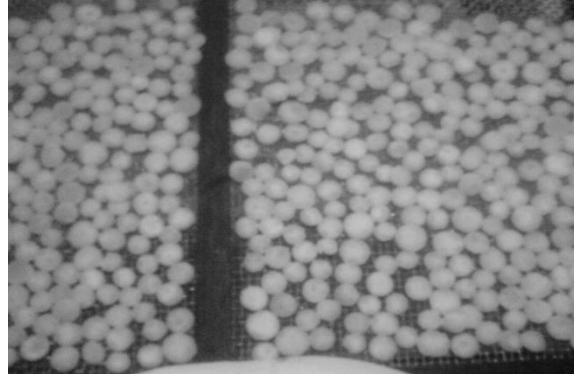
2. Ordenamiento del producto dentro del secador trasversal



3. Ejes de inflorescencia en las canastas de monitoreo de pérdida de peso a 1 hora de deshidratación

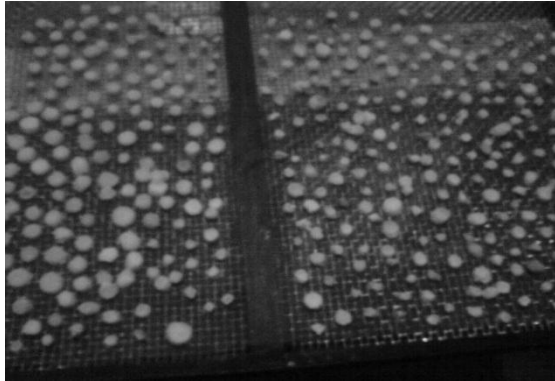


4. Ejes de inflorescencia al inicio del secado en el secador trasversal utilizado.



## Continuación anexo 1

5. Ejes de inflorescencia al final del secado en el secador trasversal utilizado



6. Producto final del secado a 40°C a diferentes concentraciones de ácido ascórbico/cítrico



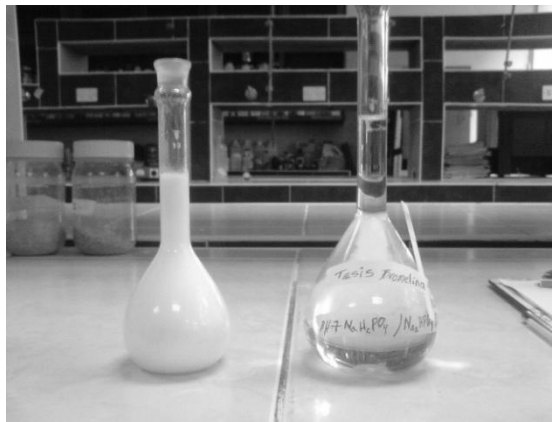
Fuente: fotografías tomadas en el LIEXVE y LAFIQ.

## Anexo 2. Figuras de medición actividad enzimática y color

7. Formación del precipitado de caseína.



8. Solución de Leche a 10% y solución de fosfatos a pH 7

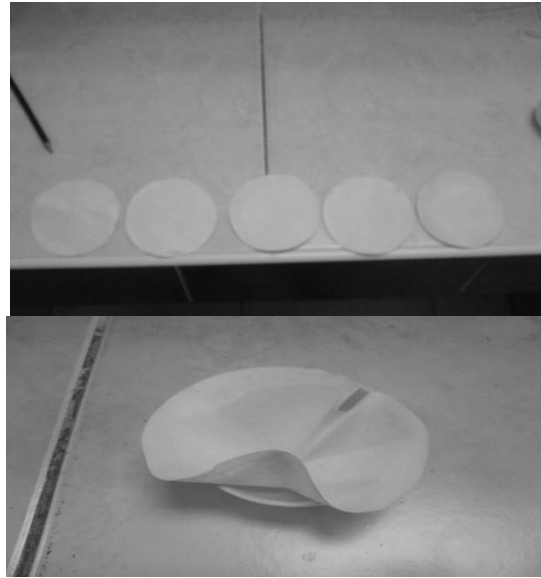


Continuación anexo 2

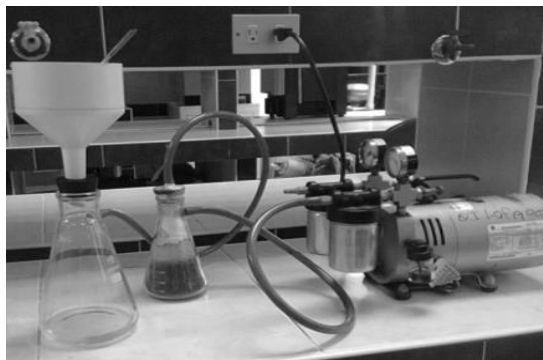
9. Laboratorio de Físicoquímica. Facultad de Farmacia, empastilladora



10. Evolución de caseína precipitada en el papel filtro, donde se nota el aumento de coloración y caseína del patrón estándar



11. Instrumento para la filtración al vacío, laboratorio de Química Industrial. Centro de investigaciones, Facultad de Ingeniería



12. Instrumento para la medición de color, laboratorio de Aseguramiento de Calidad. Siegwark de Centroamérica



Fuente: fotografías tomadas en el LIEXVE y LAFIQ.