



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

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN LOS DIFERENTES SEGMENTOS DEL FRUTO DE LA PIÑA (*Ananas comosus*), PROVENIENTES DE UN SISTEMA DE MANUFACTURA DE RODAJAS DE MESOCARPO ENLATADO PARA APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA PANIFICADORA

Edna Marina Dardon Juárez

Asesorado por la Inga. Hilda Piedad Palma de Martini

Guatemala, julio de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN LOS DIFERENTES SEGMENTOS DEL FRUTO DE LA PIÑA (*Ananas comosus*), PROVENIENTES DE UN SISTEMA DE MANUFACTURA DE RODAJAS DE MESOCARPO ENLATADO PARA APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA PANIFICADORA

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

EDNA MARINA DARDON JUÁREZ

ASESORADO POR LA INGA. HILDA PIEDAD PALMA DE MARTINI

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, JULIO DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

| | |
|------------|--|
| DECANO | Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco |
| VOCAL I | Ing. Angel Roberto Sic García |
| VOCAL II | Ing. Pablo Christian de León Rodríguez |
| VOCAL III | Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa |
| VOCAL IV | Br. Narda Lucía Pacay Barrientos |
| VOCAL V | Br. Walter Rafael Véliz Muñoz |
| SECRETARIA | Inga. Lesbia Magalí Herrera López |

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

| | |
|------------|---------------------------------------|
| DECANO | Ing. Murphy Olympto Paiz Recinos |
| EXAMINADOR | Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía |
| EXAMINADOR | Ing. Estuardo Edmundo Monroy Benitez |
| EXAMINADOR | Dr. Adolfo Narciso Gramajo Antonio |
| 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 EN LOS DIFERENTES SEGMENTOS DEL FRUTO DE LA PIÑA (*Ananas comosus*), PROVENIENTES DE UN SISTEMA DE MANUFACTURA DE RODAJAS DE MESOCARPO ENLATADO PARA APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA PANIFICADORA

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha mayo de 2014.


Edna Marina Dardon Juárez



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

Guatemala, 28 de abril de 2015

Ingeniero
Víctor Manuel Monzón Valdez
Director
Escuela de Ingeniería Química

Respetable Ingeniero Monzón:

Con un cordial saludo me dirijo a su persona para informarle que he asesorado y aprobado el informe final de Trabajo de Graduación titulado: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN LOS DIFERENTES SEGMENTOS DEL FRUTO DE LA PIÑA (*Ananas comosus*), PROVENIENTES DE UN SISTEMA DE MANUFACTURA DE RODAJAS DE MESOCARPO ENLATADO PARA APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA PANIFICADORA”**. Elaborado por la estudiante de Ingeniería Química Edna Marina Dardon Juárez con número de carné 201020611.

Considerando que dicho documento cumple satisfactoriamente con los requisitos exigidos, solicito sirva darle continuidad al proceso para su aprobación.

Agradeciendo su atención, me suscribo atentamente,

Inga. Hilda Palma de Martini
Colegiado No. 453
Asesora de trabajo de graduación

INGA. HILDA PALMA DE MARTINI
COLEGIADO No. 453

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





Guatemala, 09 de junio de 2015.
Ref. EIQ.TG-IF.034.2015.

Ingeniero
Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Monzón:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo **015-2014** 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 la estudiante universitaria: **Edna Marina Dardon Juárez**.
Identificada con número de carné: **2010-20611**.
Previo a optar al título de **INGENIERA QUÍMICA**.


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 EN LOS DIFERENTES SEGMENTOS DEL FRUTO DE LA PIÑA (*Ananas comosus*), PROVENIENTES DE UN SISTEMA DE MANUFACTURA DE RODAJAS DE MESOCARPO ENLATADO PARA APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA PANIFICADORA

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por la Ingeniera Química: **Hilda Piedad Palma de Martini**.

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. Guillermo Álvarez Mejía
COORDINADOR DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo





Ref.EIQ.TG.092.2015

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 de la estudiante, **EDNA MARINA DARDON JUÁREZ** titulado: **"EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN LOS DIFERENTES SEGMENTOS DEL FRUTO DE LA PIÑA (ANANAS COMOSUS), PROVENIENTES DE UN SISTEMA DE MANUFACTURA DE RODAJAS DE MESOCARPO ENLATADO PARA APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA PANIFICADORA"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

"Id y Enseñad a Todos"

Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, julio 2015

Cc: Archivo
VMMV/ale



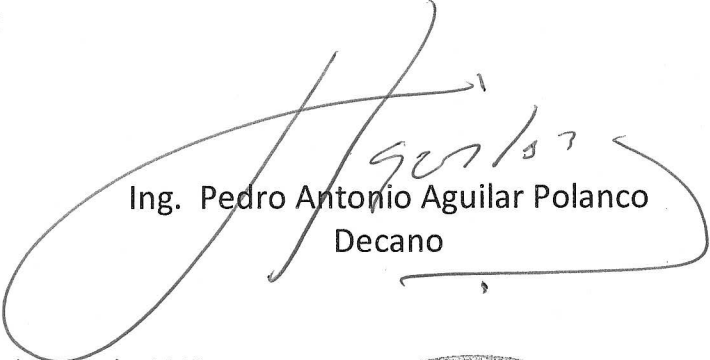
Asociación de Ingenieros Químicos de Guatemala
Asociación de Ingenieros Químicos de Guatemala





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 EN LOS DIFERENTES SEGMENTOS DEL FRUTO DE LA PIÑA (Ananas comosus), PROVENIENTES DE UN SISTEMA DE MANUFACTURA DE RODAJAS DE MESOCARPO ENLATADO PARA APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA PANIFICADORA**, presentado por la estudiante universitaria: **Edna Marina Dardon Juárez**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:


Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
Decano

Guatemala, 13 de julio de 2015

/gdech



ACTO QUE DEDICO A:

Dios

Por ser mi guía de toda la vida, la parte más importante de ella, gracias a él y sus bendiciones todos mis sueños y triunfos se han cumplido.

Virgen María

Por ser la madre de todos nosotros, siempre interceder por mí y toda mi familia, por darnos bendiciones y mantenernos bajo su protección.

Mis padres

Victor Hugo Dardon Castillo y Edna Leonor Juárez Cobar de Dardon, por ser mis guías y el ejemplo a seguir. Por siempre apoyarme en las buenas y en las malas y quererme siempre incondicionalmente. Por su dedicación y esfuerzo empleado siempre hacia mis hermanos y a mí en cada etapa de nuestras vidas. Por inculcarme los valores morales para cada día ser una mejor persona.

Mis hermanos

Hugo Ismael y Maria Mercedes Dardon Juárez, por siempre ser mi apoyo incondicional y mis mejores amigos durante toda la vida.

Mis abuelos

Ismael Arístides Dardón Durán, Marina Castillo de Dardón (q. e. p. d.), Hugo René Juárez Ortiz (q. e. p. d.), y Natalia Gloria Guillermina Cobar Juárez de Juárez, por siempre ser unos segundos padres y darme su amor y apoyo incondicional durante toda mi vida.

Mis tíos

Fernando y Jose Ismael, por su apoyo y cariño mostrado incondicionalmente.

Mis tías

Delia Yamara Sandoval de Dardón, Rina Elizabeth, Luz del Carmen, Melida Arleth Juárez Cobar, Sandra Patricia, Rebeca, Aura Marina y Yolanda Dardón Castillo, por la compañía, cariño y consejos dados durante toda mi vida.

Mis primos

María Andrea, José Fernando, Héctor Javier Dardón Sandoval, Cindy Mariela e Ileana Marleny Dardón Fonseca, Gloria Edialia y Kelly Paola Contreras Juárez, por ser hermanos de corazón y estar siempre en las buenas y en las malas.

.

AGRADECIMIENTOS A:

- Universidad de San Carlos de Guatemala** Mi alma máter, por ser mi casa de estudio y brindarme todos los conocimientos necesarios para sobresalir como profesional.
- Mis amigos de toda la vida** Damaris Lucas, Oscar Rojas, José David Salvador, por ser mis hermanos del alma y apoyarme toda la vida en todos los aspectos.
- Mis amigos de estudios** En especial a Berenice Madrid, Andrea Rodriguez, Ariela Romero, Krista Sandoval, Ana Lucia Martinez, Marvin Aguilar, Jose Carlos Lopez, Diego Valle, por compartir conmigo todos los momentos de alegría, tristezas y frustraciones encontrados a lo largo de nuestra carrera universitaria y nuestra vida.
- Licda. Ingrid Benítez Pacheco** Por haberme brindado su apoyo incondicional, su amistad y cariño así como todos sus conocimientos tanto en la vida diaria como en la investigación realizada.
- Inga. Hilda Palma** Por todos los conocimientos brindados, así como su apoyo a lo largo de esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|-------|
| ÍNDICE DE ILUSTRACIONES..... | V |
| LISTA DE SÍMBOLOS | IX |
| GLOSARIO | XI |
| RESUMEN..... | XV |
| OBJETIVOS..... | XVII |
| Hipótesis | XVIII |
| INTRODUCCIÓN | XXI |
| | |
| 1. MARCO CONCEPTUAL..... | 1 |
| 1.1. Antecedentes..... | 1 |
| 1.2. Justificación | 3 |
| 1.3. Determinación del problema..... | 4 |
| 1.3.1. Definición | 4 |
| 1.3.2. Limitación y alcance | 5 |
| 1.3.2.1. Limitación..... | 5 |
| 1.3.2.2. Alcance..... | 5 |
| | |
| 2. MARCO TEÓRICO..... | 7 |
| 2.1. Piña | 7 |
| 2.1.1. Características de la piña | 8 |
| 2.1.2. Propiedades..... | 10 |
| 2.2. Enzima..... | 11 |
| 2.2.1. Reacción..... | 11 |
| 2.2.2. Propiedades..... | 12 |
| 2.2.3. Clasificación..... | 13 |

| | | |
|----------|---|----|
| 2.3. | Bromelina | 14 |
| 2.3.1. | Propiedades | 15 |
| 2.3.2. | Aplicaciones de la bromelina..... | 16 |
| 2.3.3. | Aditivos alimentarios | 17 |
| 2.3.4. | Antioxidantes..... | 17 |
| 2.3.5. | Ácido ascórbico | 18 |
| 2.3.6. | Antimicrobianos..... | 19 |
| 2.3.7. | Ácido cítrico..... | 19 |
| 2.4. | Solvente | 20 |
| 2.4.1. | Disolventes polares. | 20 |
| 2.4.1.1. | Disolventes polares próticos..... | 20 |
| 2.4.1.2. | Disolventes polares apróticos..... | 21 |
| 2.4.2. | Disolventes apolares. | 21 |
| 2.5. | Actividad enzimática..... | 21 |
| 2.6. | Espectrofotometría..... | 21 |
| 2.6.1. | Transmitancia..... | 22 |
| 2.6.2. | Absorbancia | 23 |
| 2.6.3. | Ley de Lambert – Beer..... | 23 |
| 3. | MARCO METODOLÓGICO | 25 |
| 3.1. | Variables | 25 |
| 3.2. | Delimitación del campo de estudio..... | 26 |
| 3.3. | Recursos humanos disponibles | 27 |
| 3.4. | Recursos materiales disponibles..... | 28 |
| 3.5. | Técnica cuantitativa y cualitativa | 30 |
| 3.5.1. | Técnica cuantitativa..... | 31 |
| 3.5.2. | Técnica cualitativa..... | 32 |
| 3.6. | Recolección y ordenamiento de la información..... | 33 |
| 3.6.1. | Objetivo 1 | 33 |

| | | |
|--------|--|----|
| 3.6.2. | Objetivo 2..... | 34 |
| 3.6.3. | Objetivo 3..... | 37 |
| 3.6.4. | Objetivo 4..... | 38 |
| 3.6.5. | Objetivo 5..... | 39 |
| 3.7. | Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información | 40 |
| 3.7.1. | Objetivo 1..... | 40 |
| 3.7.2. | Objetivo 2..... | 41 |
| 3.7.3. | Objetivo 3..... | 42 |
| 3.7.4. | Objetivo 4..... | 43 |
| 3.7.5. | Objetivo 5..... | 44 |
| 3.8. | Análisis estadístico | 45 |
| 4. | RESULTADOS | 47 |
| 4.1. | Objetivo 1 | 47 |
| 4.2. | Objetivo 2 | 48 |
| 4.3. | Objetivo 3 | 49 |
| 4.4. | Objetivo 4 | 50 |
| 4.5. | Objetivo 5 | 51 |
| 5. | INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS..... | 55 |
| | CONCLUSIONES | 61 |
| | RECOMENDACIONES..... | 63 |
| | BIBLIOGRAFÍA..... | 65 |
| | APÉNDICES | 67 |

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

| | | |
|-----|---|----|
| 1. | Calibre de maduración de la piña..... | 8 |
| 2. | Energía de activación respecto al uso de enzimas | 12 |
| 3. | Estructura de la bromelina | 14 |
| 4. | Espectro de absorción de dos compuestos distintos | 22 |
| 5. | Técnica cuantitativa..... | 31 |
| 6. | Técnica cualitativa..... | 32 |
| 7. | Encuesta para prueba organoléptica..... | 44 |
| 8. | Rendimientos solventes al 50 % | 47 |
| 9. | Rendimientos con solventes al 70 %..... | 47 |
| 10. | Curva de calibración..... | 48 |
| 11. | Comparación de la actividad enzimática de los diferentes segmentos de la piña | 49 |
| 12. | Comparación de porcentajes con respecto al color del pan de francés y de manteca realizados a las distintas concentraciones de enzima de las pruebas organolépticas. | 51 |
| 13. | Comparación de porcentajes con respecto al olor del pan de francés y de manteca realizados a las distintas concentraciones de enzima de las pruebas organolépticas. | 52 |
| 14. | Comparación de porcentajes con respecto al sabor del pan de francés y de manteca realizados a las distintas concentraciones de enzima de las pruebas organolépticas. | 52 |

15. Comparación de porcentajes con respecto a la textura del pan de francés y de manteca realizados a las distintas concentraciones de enzima de las pruebas organolépticas.....53

TABLAS

| | | |
|--------|---|----|
| I. | Características de la piña Cayena Lisa..... | 9 |
| II. | Beneficios nutricionales de la piña..... | 10 |
| III. | Concentraciones de bromelina en los segmentos de la piña..... | 15 |
| IV. | Propiedades físicas de la bromelina | 16 |
| V. | Variables independientes..... | 25 |
| VI. | Variables dependientes | 26 |
| VII. | Concentraciones para método de Biuret..... | 36 |
| VIII. | Formulación para pan francés | 39 |
| IX. | Formulación para pan de manteca | 39 |
| X. | Porcentajes de bromelina para prueba organoléptica..... | 40 |
| XI. | Toma de datos de extracción con agua | 40 |
| XII. | Toma de datos de extracción sin agua | 41 |
| XIII. | Toma de datos de determinación de concentración | 41 |
| XIV. | Toma de datos para actividad enzimática bromelina estándar | 42 |
| XV. | Toma de datos para actividad enzimática bromelina extraída eje de inflorescencia..... | 42 |
| XVI. | Toma de datos para actividad enzimática bromelina extraída en el exocarpo | 43 |
| XVII. | Toma de datos para determinación de pureza | 43 |
| XVIII. | Tratamientos del análisis estadístico | 45 |
| XIX. | Expresión matemática para la curva de determinación de la concentración de proteína | 48 |
| XX. | Concentración en las distintas fracciones solubles..... | 49 |

| | | |
|-------|--|----|
| XXI. | Actividad enzimática de los diferentes segmentos de la piña | 50 |
| XXII. | Actividad específica enzimática de los diferentes segmentos de la piña | 50 |

LISTA DE SÍMBOLOS

| Símbolo | Significado |
|----------------|---|
| Y_i | Absorbancia |
| A_b | Absorbancia del blanco |
| A_m | Absorbancia de la muestra |
| A_c | Actividad enzimática |
| A_c | Actividad enzimática específica |
| A_t | Absorbancia de la solución estándar de tirosina |
| X_i | Concentraciones |
| Da | Dalton |
| ρ | Densidad |
| D | Determinante |
| Fd | Factor de dilución |
| GRAS | Generalmente conocido como seguro |
| m | Masa |
| min | Minutos |
| mg/mL | Miligramos por mililitro |
| mL | Mililitros |
| n | Número de datos |
| M_f | Peso del precipitado |
| m_o | Peso del precipitado seco + peso del vidrio reloj |
| m_v | Peso del vidrio reloj |
| % | Porcentaje |
| % p/p | Porcentaje peso/peso |
| % v/v | Porcentaje volumen / volumen |

| | |
|----------------------|--|
| P_t | Proteínas totales |
| R | Rendimiento de extracción |
| CDU | Unidades digestivas de caseína |
| CDU/g | Unidades digestivas de caseína por gramo |
| V_i | Volumen inicial |

GLOSARIO

| | |
|------------------------------|---|
| Absorbancia | Medida de la atenuación de una radiación al atravesar una sustancia. |
| Actividad enzimática | Es la cantidad de enzima que en una reacción enzimática cataliza la conversión de 1 μmol de sustrato por minuto. |
| Albúmina | Es una proteína que produce el hígado. |
| Bromelina | Es una enzima con acción proteolítica (que rompe las moléculas proteicas) para una mejor asimilación de los aminoácidos que las componen. |
| Centrifugación | Es un método que separa sólidos de líquidos de diferente densidad por medio de una fuerza giratoria. |
| Eje de inflorescencia | Centro de la piña. |
| Enzima | Es una enzima con acción proteolítica (que rompe las moléculas proteicas) para una mejor asimilación de los aminoácidos que las componen. |
| Enzima proteolítica | Ayudan a digerir las proteínas contenidas en los alimentos. |

| | |
|-------------------------------|--|
| Espectrofotómetro | Es uno de los instrumentos utilizados en la física óptica, que mide la longitud de onda así como la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica. |
| Exocarpo | Cáscara de la piña. |
| Pardeamiento | Es una reacción de oxidación en la que interviene como substrato el oxígeno molecular, catalizada por un tipo de enzimas que se puede encontrar en prácticamente todos los seres vivos, desde las bacterias al hombre. |
| Precipitado | Es el sólido que se produce en una disolución por efecto de cristalización o de una reacción química. |
| Proteína | Son moléculas de un enorme tamaño formadas por aminoácidos con diversas funciones. |
| Pruebas organolépticas | Son todas aquellas descripciones de las características físicas que tiene la materia en general, según las pueden percibir los sentidos, por ejemplo su sabor, textura, olor y color. |
| Reacción | Es un proceso por el cual una o más sustancias, llamadas reactivos, se transforman en sustancias con propiedades diferentes llamadas productos. |

Solubilidad

Es la máxima cantidad de soluto que se puede disolver en una cantidad de disolvente a una temperatura determinada.

Sustrato

Es una molécula sobre la que actúa una enzima. Se une al sitio activo de la enzima, y se forma un complejo enzima-sustrato.

RESUMEN

Se extrajo la enzima proteolítica localizada en el eje de inflorescencia y exocarpo de la piña (*Ananas comosus*). Estos son desechos de su proceso de manufactura y se aplican a la industria panificadora.

Todos los objetivos se realizaron con el eje de inflorescencia y exocarpo de la piña (*Ananas comosus*). Debido a que se elaboró una comparación entre la enzima extraída de cada segmento de la piña.

Se evaluó la solubilidad de la bromelina en dos solventes diferentes: acetona y etanol. Estos se utilizaron a dos distintas concentraciones a 75 % v/v y 50 % v/v. Se pesó el precipitado obtenido, para evaluar cuál de los dos solventes fue el más eficiente en la extracción. Se llegó a la conclusión que el mejor solvente para la extracción es la acetona al 50 % con la cual se obtuvo un rendimiento de eje de inflorescencia de 0,39 mg/mL y de exocarpo de 0,333 mg/mL.

Se realizó una cuantificación de proteínas en cada muestra por medio del método de Biuret. Se realizaron varias soluciones usando como patrón una solución estándar de albúmina. A estas soluciones se les midió la absorbancia para construir una curva de calibración de proteínas totales y determinar la concentración de proteínas en cualquier muestra incógnita. Se midió el absorbancia en una muestra de eje de inflorescencia y exocarpo en las cuales se obtuvo una concentración de 0,335 mg/mL y 0,382 mg/mL respectivamente.

También se evaluó la actividad enzimática usando la caseína como sustrato. Se utilizaron disoluciones de caseína y disoluciones buffer de fosfatos las cuales se mezclarán con el extracto. Se adicionó TCA para detener la reacción y determinar la actividad enzimática del extracto. Se encontraron las actividades enzimáticas tanto del eje de inflorescencia como del exocarpo de la piña las cuales fueron de 1 420,187 CDU y 1 269,103 CDU respectivamente.

Se determinó la pureza de la enzima extraída por medio de las proteínas totales y la actividad enzimática encontrada anteriormente dando así una actividad específica del eje de inflorescencia de 475,76 CDU/mg y del exocarpo de 0,127 CDU/mg.

Se utilizó la enzima extraída con el objetivo de preparar pan francés y de manteca y determinar, por medio de pruebas organolépticas, cuál es la reacción que tiene la masa en presencia de esta enzima. Se obtuvieron las mejores características del pan de francés al 1 % y del pan de manteca al 0.5 % de concentración de enzima extraída.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la actividad enzimática de la bromelina en el eje de inflorescencia y exocarpo del fruto de la piña (*Ananas comosus*) provenientes de un sistema de manufactura de rodajas de mesocarpo enlatado, para posible aplicación en la industria panificadora.

Objetivos específicos

1. Evaluar la solubilidad de la enzima proteolítica en dos diferentes solventes (etanol y acetona).
2. Determinar la concentración de la enzima proteolítica en la fracción soluble del eje de inflorescencia y del exocarpo del fruto.
3. Evaluar la actividad enzimática en la fracción soluble del eje de inflorescencia y del exocarpo del fruto por medio espectrofotométrico.
4. Determinar la pureza de la enzima proteolítica extraída en la fracción soluble del eje de inflorescencia y del exocarpo del fruto utilizando la actividad enzimática y la cantidad de proteínas totales.
5. Evaluar las características físicas y gustativas del pan con la enzima extraída por medio de pruebas organolépticas.

Hipótesis

Científica

Es posible extraer la enzima proteolítica existente en el eje de inflorescencia y en el exocarpo de la piña (*Ananas comosus*) para lograr una ruptura en la estructura del gluten y así ser utilizada en la industria panificadora para mejorar la plasticidad de la masa.

Estadística

- Hipótesis de Investigación (H_i):

$H_{i, 1}$ La solubilidad de la enzima proteolítica encontrada es igual en los dos tipos de solvente.

$H_{i, 2}$ La concentración de la enzima proteolítica varía significativamente dependiendo de la parte del fruto de la piña de la cual se extrae.

$H_{i, 3}$ La actividad enzimática varía dependiendo de la parte del fruto de la piña que se extrae.

$H_{i, 4}$ La adición de la enzima proteolítica presenta una gran mejora en las propiedades organolépticas del pan.

- Hipótesis nula (H_0):

$H_{0, 1}$ La solubilidad de la enzima proteolítica encontrada en la piña (*Ananas comosus*) no es igual, en los dos tipos de solvente.

$H_{0, 2}$ La concentración de la enzima proteolítica no cambia dependiendo de la parte del fruto de la piña que se extrae.

- H_{0, 3} La actividad enzimática no varía dependiendo de la parte del fruto de la piña que se extrae.
- H_{0, 4} La adición de la enzima proteolítica no presenta mejora en las propiedades organolépticas del pan.

INTRODUCCIÓN

La piña es un cultivo de mucha importancia entre las frutas tropicales ocupa un lugar preferencial. En los últimos años la exportación y producción de la piña han crecido de una manera acelerada, debido al incremento de las áreas de siembra en Guatemala. La piña es una planta con gran contenido nutricional, siendo un beneficio para el consumidor.

La demanda de productos procesados de piña, en los últimos tiempos, ha crecido significativamente en Guatemala, así como los desechos industriales que son subproductos de estos procesos de manufactura. En la actualidad se han hecho estudios acerca de las propiedades de estos subproductos, para elaborar nuevos productos aprovechables y así cerrar el ciclo de producción de la piña.

Las proteasas son enzimas proteolíticas que cumplen un papel importante en reacciones propias del metabolismo humano; estas actúan rompiendo los enlaces peptídicos de las proteínas para liberar los aminoácidos. Pueden romper todas las proteínas a menos que sean parte de una célula viva.

La piña es una fuente importante de una proteasa llamada bromelina. Esta puede ser extraída de varias partes de la piña, tales como: el tallo, exocarpo, eje de inflorescencia y la pulpa. La bromelina es una enzima que puede utilizarse para la elaboración de muchos productos, en diversas industrias tales como las de alimentos, farmacéuticas, entre otras.

El desarrollo de este trabajo de investigación se basa en la industria panificadora, debido a que la bromelina es una proteasa que rompe la estructura del gluten en la harina, y logra una mayor plasticidad en la masa. Esto da como resultado un pan mucho más agradable para el consumidor debido a que cambia la textura y el sabor.

1. MARCO CONCEPTUAL

1.1. Antecedentes

A nivel mundial en los últimos años se han hecho muchos trabajos de investigación con respecto al tema propuesto para este proyecto. Carvajal y otros en el 2010, indica que la piña se utilizó como planta medicinal en varias culturas. La bromelina es una cisteino-proteasa extraída de plantas de la familia *Bromeliaceae*. Como resultado de su investigación mencionan que el preparado obtenido por intercambio iónico es un producto heterogéneo en actividad proteolítica, que cuenta con una actividad específica alta. Esta identificación demuestra un control de preparados enzimáticos, indicando su potencial para usos industriales.

En el 2010 Gautam y otros, mencionan a la bromelina como la principal proteína aislada a nivel industrial de la piña (*Ananas comosus*). El estudio tenía como objetivo comparar la cantidad y cantidad de bromelina presente en el tallo y fruta de la planta. La bromelina se extrajo por medio de una solución de buffer acuosa amortiguadora, la purificación se realizó por medio de centrifugación, técnica de precipitación de sales, diálisis y cromatografía de intercambio iónico.

La actividad enzimática que presentaba la bromelina fue probada por medio del método de hidrolisis en la gelatina. Llegaron a la conclusión que la cromatografía de intercambio iónico con dietilaminoetil celulosa mantiene la integridad estructural de la bromelina purificada. También se encontró que la mayor actividad enzimática fue encontrada en el fruto de la piña.

María Elena Ramos, en la investigación sobre la obtención de bromelina a partir de desechos agroindustriales de la piña, indica como resultado que se realizaron varios tratamientos, observando mayor actividad enzimática de la bromelina extrayéndola con acetona y el jugo de la cáscara. Establecieron que en la corona hay muy poca cantidad de enzima y muy poca actividad enzimática.

Dispusieron que la generación de hidrolizados proteicos se podrían hacer *in situ*, o realizando extracciones a través de un proceso tecnológico con precipitaciones con disolventes como acetona y vinagre.

En el artículo publicado por la Universidad de Ciego de Águila se encuentra una forma alternativa de extracción de bromelina. La innovación es que utilizan valores de pH ácido que minimizan la autoproteólisis y utilizan protectores de grupos SH centro activo de la enzima.

Lamsal B.P, en su artículo, cambió las propiedades de la harina de soya por medio de bromelina al 2 % y 4 % de grados de hidrólisis. Se determinaron solubilidades en agua, deformaciones y viscosidades aparente de hidrolizados. Se utilizaron rangos de pH entre 3-7 y mejoraron los resultados de la hidrolisis. Los resultados sugieren que la hidrolisis producida por la bromelina es limitada en la harina de soya.

1.2. Justificación

Guatemala es un país en el cual la industria de la piña es muy importante. El país cuenta con 6 524 fincas, las cuales albergan en total una superficie cultivada de 12 524 manzanas cuadradas; en las cuales se producen 8,11 millones de quintales de piña cultivada.

Del total de fincas cultivadoras de piña el 54 % están ubicadas en Alta Verapaz, 11 % en Suchitepéquez 8 % en El Progreso e Izabal 7 % en Escuintla 6 % en Quiché 5 % en Petén y únicamente, 1 % en Quetzaltenango. Sin embargo, aunque la mayor concentración de fincas este en Alta Verapaz, eso no quiere decir que es el departamento con mayor producción. Quetzaltenango es el de mayor producción.

En la actualidad existen 15 empresas exportadoras de piña o de derivados y preparados de la piña, indicando que es un fruto con mucha demanda en el país.

Este trabajo de investigación es de interés debido a que estas empresas productoras de derivados y preparados de la piña tienen muchos desechos industriales, los cuales son una pérdida económica para la empresa así como una fuente de contaminación industrial. Se desea cerrar la cadena productiva de la piña para maximizar el rendimiento productivo de la piña en la industria.

El eje de inflorescencia y la cáscara de la piña son los dos desechos industriales más predominantes en esta industria. Estos tienen muchas características que pueden ser explotadas para utilizarlas como un subproducto de estos procesos industriales.

Estos dos desechos tienen muchas propiedades entre las cuales está la bromelina, siendo una enzima conocida por sus varias aplicaciones en varias industrias. Se utiliza como ablandador de carnes, suplemento alimenticio y como aditivo en la industria panificadora.

En la industria panificadora se utilizan muchos aditivos. Químicos y a veces son muy caros, lo cual disminuye las utilidades del producto. Por lo tanto se quiere proponer una alternativa natural y económica.

Esta investigación pretende estudiar métodos de extracción de la enzima en los dos desechos y evaluar cuál de las dos es más viable para una posible utilización en la industria panificadora. Se determinará la concentración de la enzima y su actividad enzimática en el eje de inflorescencia y la cáscara evaluando cuál es mejor procesar en la industria.

1.3. Determinación del problema

Lo primordial para empezar a desarrollar un trabajo de investigación es determinar el objeto de estudio.

1.3.1. Definición

¿Es posible evaluar la actividad enzimática en los diferentes segmentos del fruto de la piña (*Ananas comosus*) provenientes de un sistema de manufactura de rodajas de mesocarpo enlatado para obtener una posible aplicación en la industria panificadora?

1.3.2. Limitación y alcance

En esta sección se explican todas las limitaciones y alcances que tiene este trabajo de investigación.

1.3.2.1. Limitación

Se contará con limitaciones tanto económicas como materiales.

Los recursos materiales y económicos, el espacio físico, cristalería, reactivos y análisis químicos serán facilitados por el laboratorio de Análisis Fisicoquímicos de la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería.

En cuanto a la materia prima, ejes de inflorescencia y cáscara de la piña serán facilitados por la empresa de Alimentos Montesol, S. A.

1.3.2.2. Alcance

Se tendrá una alternativa para disminuir la contaminación a nivel industrial, debido a que se utilizará los desechos obtenidos en la manufactura de la piña en almíbar para obtener nuevos subproductos. En este caso se tendrá la posibilidad de aislar la bromelina, siendo una enzima proteolítica muy buena y que se desperdicia con los desechos de la piña.

Al aislarla se aplicará en la industria panificadora, pues es una de las industrias más grandes, más adelante, ayudará al desarrollo de una nueva formulación para obtener un producto más saludable y de mejor calidad.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Piña

La piña pertenece a la familia de las *Bromiliaceae*. Es una planta procedente de las zonas tropicales y subtropicales de Brasil y Paraguay, las cuales son las regiones del mundo climáticamente aptas para su cultivo comercial.

En Guatemala, la altura y altitud apropiada para el cultivo de la piña esta entre un intervalo de 1-1 000 pies sobre el nivel del mar. La temperatura ideal para este cultivo esta entre 21-27 °C , a esta temperatura la concentración de ácido en la piña se reduce, lo cual es beneficioso, ya que si la temperatura es menor a los 21 °C la fruta tiende a tener una gran cantidad de ácido y se vuelve baja en azúcares.


Se ha identificado cerca de 40 variedades de piña, pero únicamente tres son de importancia comercial a nivel mundial, estas son: Smooth Cayenne, Queen y Red Spanish. La primera es la más difundida tanto en fruta fresca como en conserva. Es importante mencionar la variedad "Del Monte Gold" de reciente introducción a los mercados (mayo de 1996). Esta variedad cuadruplica la cantidad de azúcar de la piña tradicional (15 a 18 grados brix en promedio), tiene la misma cantidad de vitamina C que la naranja y su desarrollo se realiza en menor tiempo.

2.1.1. Características de la piña

La variedad a utilizar será cayena lisa. Las hojas tienen bordes lisos, el fruto es alargado y cilíndrico con un peso promedio de 2,4 Kg. Contiene poco contenido de fibra y alto porcentaje de jugo, la cáscara es lisa y contiene una pulpa blanco-amarillenta.

Para el proceso de enlatado de la piña se clasifican por medio de su tiempo de maduración. Estas se pueden clasificar de la siguiente forma:

Figura 1. Calibre de maduración de la piña

| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|------------------------------|--|--|--|--|---|--|--|
| Calibre de Maduración |  |  |  |  |  |  |  |
| | Totalmente verde | Ligero cambio de color | ¼ de maduración | ½ de maduración | ¾ de maduración | Menos de la coloración total | Totalmente madura |

Fuente: V. Massey. *Maduración de la piña*.

<http://vmasseyors.blogspot.com/2011/12/pina-tropical-ananas-escala.htm>.

Consulta: 4 de mayo de 2014.

Se recomienda utilizar el fruto a $\frac{3}{4}$ de maduración debido a que en ese punto contiene los mayores niveles de azúcares, por lo tanto se puede aprovechar mucho más las características del fruto.

Tabla I. **Características de la piña Cayena Lisa**

| CARACTERISTICA | Cayena Lisa |
|--------------------------|--------------------|
| Peso (Kg.) | 1.97 |
| Diámetro: | 9.68 |
| Apical (cm) | 13.13 |
| Medio (cm) | 10.43 |
| Basal (cm) | |
| Longitud (cm) | 16.58 |
| Longitud Corona (cm) | 1.68 |
| Profundidad ojos (cm) | 0.95 |
| Diámetro Central (cm) | 3.33 |
| Porcentaje Pulpa | 65.93 |
| Porcentaje Corteza | 31.88 |
| Porcentaje Jugo | 50.13 |
| Sólidos Solubles (%Brix) | 15.95 |
| Acidez (%) | 0.58 |
| SS/A | 27.50 |
| Fibra (%) | 0.49 |
| Color Pulpa | Amarillo Brillante |

Fuente: PRONAGRO. *Parámetros de comercialización de la piña.*
<http://pronagro.sag.gob.hn/assets/display-anything/gallery/1/513/PARAMETROS-DE-COMERCIALIZACION-DE-LA-PINA-MD2.pdf> /. Consulta: 6 de mayo de 2014.

2.1.2. Propiedades

La piña posee minerales como potasio, magnesio, calcio, hierro y sodio, así como vitaminas A, C y ácido fólico, y aunque los contenidos de estos nutrientes no son en realidad tan espectaculares como ocurre en otros frutos, sí es muy destacable su principal activo: la bromelina.

Tabla II. **Beneficios nutricionales de la piña**

| Contenido | Unidad | Valor |
|---------------|--------|--------|
| Energía | Kcal | 45.00 |
| Proteína | g | 0.50 |
| Carbohidratos | g | 11.50 |
| Fibra | g | 1.20 |
| Calcio | mg | 12.00 |
| Hierro | mg | 0.50 |
| Magnesio | mg | 14.00 |
| Sodio | mg | 3.00 |
| Potasio | mg | 250.00 |
| Fósforo | mg | 11.00 |
| Vitamina E | mg | 0.10 |
| Niacina | mg | 0.30 |
| Acido Fólico | µg | 11.00 |
| Vitamina C | mg | 20.00 |
| Vitamina A | µg | 13.00 |

Fuente: V. Massey. *Propiedades de la piña*.

<http://vmasseyors.blogspot.com/2011/12/pina-tropical-ananas-escala.htm>.

Consulta: 4 de mayo de 2014.

2.2. Enzima

Están compuestas por cadenas de L- aminoácidos unidos covalentemente en una secuencia definida llamada estructura primaria, y enrollados en una estructura zwitteriónica. También tienen un centro activo, formado por aminoácidos, que son los responsables de la unión con el sustrato y catalizan la reacción característica de cada enzima.

Las enzimas son proteínas altamente especializadas. Su principal función es la catálisis o regulación de la velocidad de las reacciones químicas que se llevan a cabo en todos los seres vivos.

2.2.1. Reacción

En las reacciones catalizadas por una enzima (E) se utilizan varios términos: los reactivos son denominadas sustratos (S). La sustancia sobre la que actúa la enzima es modificado químicamente y se convierte en uno o más productos (P).



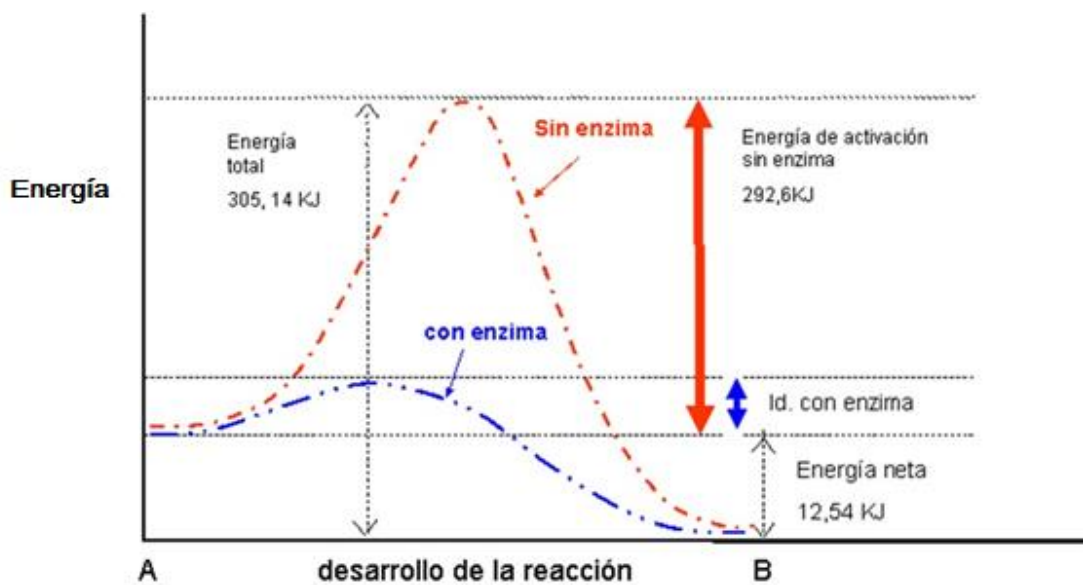
El sustrato se une al sitio activo de la enzima y se forma un complejo enzima-sustrato. El sustrato por acción de la enzima se transforma en un producto y es liberado del sitio activo.

Mediante el incremento de la concentración del sustrato, la velocidad de la reacción tenderá a aumentar, ya que habrá más probabilidad de formación de complejos enzima-sustrato, esto ocurrirá hasta que no haya más enzimas

disponibles para formar complejos enzima-sustrato. Esto indica que las enzimas son un factor limitante en la reacción.

Las enzimas actúan como catalizadores y disminuyen la energía de activación al permitir que gran parte de las moléculas actúen al mismo tiempo.

Figura 2. **Energía de activación respecto al uso de enzimas**



Fuente: ITESCAM. *Enzimas proteolíticas*.

www.itescam.edu.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/46007.PDF.

Consulta: 10 de abril de 2014.

2.2.2. Propiedades

Las enzimas tienen la capacidad de acelerar las reacciones químicas sin modificar las reacciones, son específicas y solo actúan en ciertos tipos de reacciones.

El sustrato se une a un sitio en la superficie de la enzima, denominado sitio activo, que es en donde toma lugar la catálisis.

2.2.3. Clasificación

Se clasifican en 6 grupos diferentes dependiendo del tipo de reacción que catalicen: óxido-redactadas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas.

- Óxido-reductasas: catalizan las reacciones de óxido-reducción que implican oxigenación, como las $C - H \rightarrow C - OH$. También en todas en las que se da una eliminación o adición de átomos de hidrógeno equivalentes, así como $CH(OH) \rightarrow C = O$.
- Transferasas: son las responsables de la transferencia de una molécula a otra de diversos grupos, tales como: aldehído, cetona, acilo, azúcar, fosforilo, entre otras.
- Hidrolasa: los grupos hidrolizables son muy extensos e incluyen ésteres, amidas, péptidos y otras funciones que contienen grupos $C - N$, anhídridos, glicósidos, y otros.
- Liasas: son las encargadas en catalizar las reacciones de adición o formación de dobles enlaces, tales como $C = C$, $C = O$ y $C = N$.
- Isomerasas: catalizan diversos tipos de isomerizaciones incluyendo la racemización.

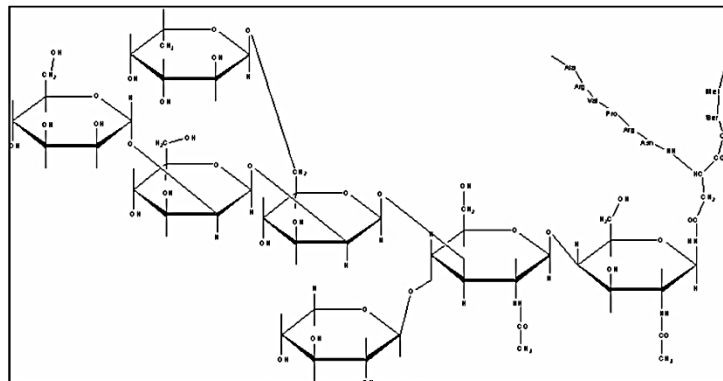
- Ligasas: estas enzimas son nombradas frecuentemente sintetetas miden la formación de enlaces $C - O$, $C - S$ y $C - N$.

Las proteasas son enzimas que rompen los enlaces peptídicos de las proteínas. Para hacerlo usan la molécula de agua y por lo tanto se clasifican como hidrolasas.

2.3. Bromelina

La enzima llamada bromelina se obtiene del jugo, pulpa, tallo o cáscara de la piña (*Ananas comosus*). Es una glicoproteína del grupo de las cisteín proteasas. Esta enzima actúa preferentemente sobre los aminoácidos básicos y aromáticos de las proteínas. El pH óptimo varía en el rango de 5-8. Es una proteína constituida por aminoácidos que se encuentran enrollados en dos partes separadas por un puente que tiene un lugar activo con un grupo tiol (SH) libre.

Figura 3. Estructura de la bromelina



Fuente: PULIDO A. *Propiedades de la bromelina*.

www.itzamna.bnct.ipn.mx8080/dspace/bistream/123456789/7327/1/.pdf

Consulta: 5 de abril de 2014.

Tabla III. **Concentraciones de bromelina en los segmentos de la piña**

| PARTE DE LA PLANTA | BROMELINA (1) | ACTIVIDAD (2) |
|---------------------|---------------|---------------|
| TALLO | | |
| Parte Baja | 0.25 | 138 |
| Parte Alta | 0.16 | 1309 |
| Tallo verde | 0.14 | 51.44 |
| HOJAS | 0.11 | 84.33 |
| FRUTO VERDE | | |
| Corona | 0.14 | 235.6 |
| Piel | 0.17 | 346.4 |
| Pulpa | 0.08 | 449.8 |
| FRUTO MADURO | | |
| Corona | 0.04 | 137.3 |
| Piel | 0.18 | 278.3 |
| Pulpa | 0.13 | 336.9 |

Fuente: PULIDO A. *Propiedades de la bromelina.*

www.itzamna.bnct.ipn.mx8080/dspace/bistream/123456789/7327/1/.pdf

Consulta: 5 de abril de 2014.

2.3.1. **Propiedades**

La bromelina es una enzima glicoproteína que tiene un oligosacárido por molécula, el cual está unido por covalencia a la cadena peptídica. La enzima localizada en el tallo tiene un grupo sulfhídrido reactivo por molécula, el cual es esencial para que se dé la catálisis enzimática. Los principales aminoácidos contenidos en la bromelina son: arginina, ácido aspártico, serina, alanina, valina, glicina, metionina, amonio y glucosamina.

Tabla IV. **Propiedades físicas de la bromelina**

| PROPIEDADES | TALLO DE PIÑA |
|-----------------------------|----------------------|
| Peso molecular | 33000 Da |
| Color | Blanco |
| Estado | Polvo |
| Olor y sabor | Característico |
| Solubilidad | En agua |
| pH óptimo | 7 |
| Temperatura de inactivación | 70°C |

Fuente: PULIDO A. *Propiedades de la bromelina*

www.itzamna.bnct.ipn.mx8080/dspace/bistream/123456789/7327/1/.pdf

Consulta: 5 de abril de 2014.

2.3.2. 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), además del sustituto de los sulfitos empleados para impedir el pardeamiento de los jugos de frutos y del vino blanco, para la clarificación de la cerveza.

En la industria farmacéutica se emplea como digestivo en el tratamiento de dispepsias, como antiinflamatorio y como antiedematoso. También en tratamientos contra las infecciones, 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 exprimida 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.

2.3.3. 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 ellos, como resultado de cualquier aspecto de producción, procesamiento, almacenado o empacado. 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 su uso.

Hoy en día se encuentran más de 2 500 aditivos que intencionalmente agregados a las comidas para inhibir un efecto. El uso de estos aditivos es bien aceptado, pero con controversias. Ya que algunos de ellos tienen beneficios potenciales y riesgosos.

2.3.4. 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 forma multietapas, con múltiples factores de proceso. 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).

2.3.5. 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.

2.3.6. 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 su uso 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.

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.

2.3.7. 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. 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.

2.4. Solvente

Los solventes son compuestos orgánicos basados en el elemento químico carbono. Estas sustancias que expelen vapores a temperatura ambiente (solventes volátiles como la nafta o la acetona) o que son en sí mismas gases (butano, propano) pueden ser inhalados a través de la boca o nariz generando un efecto psicoactivo.

2.4.1. Disolventes polares: son los solventes en los cuales las moléculas tienen una distribución de la nube electrónica asimétrica; por lo tanto, la molécula presenta un polo positivo y otro negativo, separados por una cierta distancia, indicando que hay un dipolo permanente.

2.4.1.1. Disolventes polares próticos: son los solventes que contienen un enlace del O-H o

del N-H, así como agua (H-O-H), etanol (CH₃-CH₂-OH) y ácido acético (CH₃-C(=O)OH).

2.4.1.2. Disolventes polares apróticos: son disolventes polares que no tiene enlaces O-H o N-H. Este tipo de disolvente que no dan ni aceptan protones. La acetona (CH₃-C(=O)-CH₃) es un ejemplo.

2.4.2. Disolventes apolares: son disolventes de tipo orgánico y cuyas moléculas tienen una distribución de la nube electrónica simétrica; por lo tanto, estas sustancias carecen de polo positivo y negativo en sus moléculas, y no pueden considerarse dipolos permanentes.

2.5. Actividad enzimática

Puede ser expresada en moles, como las de cualquier compuesto químico, o pueden ser cuantificadas en términos de su actividad enzimática.

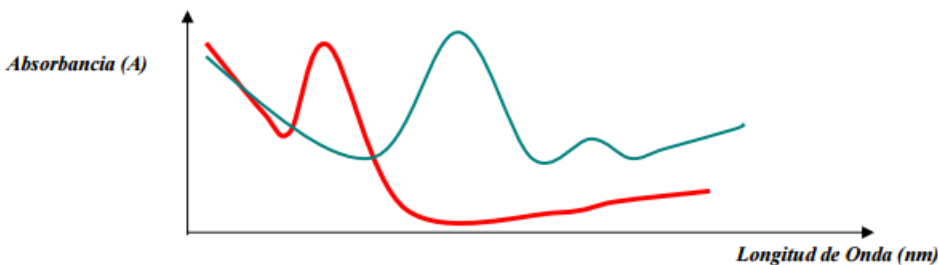
La actividad enzimática es la medida de la cantidad de enzima activa presente en una muestra, al igual que el nivel de actividad de la misma, por lo cual es muy dependiente de las condiciones de medición.

2.6. Espectrofotometría

Es uno de los métodos de análisis más usados, y se basa en la relación que existe entre la absorción de luz por parte de un compuesto y su concentración. Cuando se hace incidir luz monocromática (de una sola longitud

de onda) sobre un medio homogéneo, una parte de la luz incidente es absorbida por el medio y otra transmitida, como consecuencia de la intensidad del rayo de luz sea atenuada desde P_0 a P , siendo P_0 la intensidad de la luz incidente y P la intensidad del rayo de luz transmitido. Dependiendo del compuesto y el tipo de absorción a medir, la muestra puede estar en fase líquida, sólida o gaseosa. En las regiones visibles y ultravioleta del espectro electromagnético, la muestra es generalmente disuelta para formar una solución. Cada sustancia tiene su propio espectro de absorción, el cual es una curva que muestra la cantidad de energía radiante absorbida. Absorbancia por la sustancia en cada longitud de onda del espectro electromagnético, es una determinada longitud de onda de la energía radiante, cada sustancia absorbe una cantidad de radiación que es distinta a la que absorbe otro compuesto.

Figura 4. **Espectro de absorción de dos compuestos distintos**



Fuente: L. Pecsok ,Robert y Shields ,L. Donal. Métodos modernos de análisis químicos.
Espectro de absorción. p. 34.

2.6.1. Transmitancia

A medida que un haz de luz atraviesa un medio absorbente, la cantidad de luz absorbida en cualquier volumen es proporcional a la intensidad de luz incidente multiplicado por el coeficiente de absorción. Consecuentemente, la

intensidad de un haz incidente decae exponencialmente a medida que pasa a través del absorbente.

La transmitancia puede ser expresada como la intensidad de la radiación incidente.

2.6.2. Absorbancia

Medida de la atenuación de una radiación al atravesar una sustancia, que se expresa como el logaritmo de la relación entre la intensidad saliente y la entrante.

2.6.3. Ley de Lambert – Beer

Dentro de un fotómetro se utiliza un haz de luz enfocado de manera precisa para penetrar el elemento del procesado. Una célula fotoeléctrica de silicio mide la intensidad resultante de luz. La alteración de la intensidad de la luz, causada por la absorción y difusión está explicada en la Ley Lambert-Beer.

La Ley Lambert-Beer es un medio matemático de expresar cómo la materia absorbe la luz. Esta ley afirma que la cantidad de luz que sale de una muestra es disminuida por tres fenómenos físicos: La cantidad de material de absorción en su trayectoria (concentración). La distancia que la luz debe atravesar a través de la muestra (distancia de la trayectoria óptica).

La probabilidad de que el fotón de esa amplitud particular de onda sea absorbido por el material (absorbancia o coeficiente de extinción).

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Variables

Al estudiar y analizar la información encontrada con respecto a esta investigación se identificaron varias variables dependientes e independientes que se tendrán que controlar a lo largo de esta investigación.

Tabla V. Variables independientes

| Núm. | Variable | Dimensional | Constante | Variable | Descripción |
|------|---------------------------------------|-------------|-----------|----------|--|
| 1 | Concentración de solvente | % V/V | | X | Concentración de los distintos solventes |
| 2 | Temperatura | °C | X | | Temperatura del proceso de extracción |
| 3 | Concentración de solución de albumina | mg/mL | | X | Concentración de albumina para determinar concentración de la proteína |
| 4 | Volumen del reactivo de Biuret | mL | X | | Volumen del reactivo para reaccionar con la albúmina |
| 5 | Tiempo | min | X | | Tiempo de incubación |
| 6 | Concentración de caseína | % p/p | X | | Concentración de caseína para determinar actividad enzimática |
| 7 | Volumen de bromelina | mL | | X | Volumen para realizar pruebas organolépticas |

Fuente: elaboración propia.

Tabla VI. **Variables dependientes**

| Núm. | Variable | Dimensional | Descripción |
|-------------|-------------------------------|--------------------|--|
| 1 | Precipitado obtenido | mg | Precipitado obtenido de la extracción |
| 2 | Absorbancia de las soluciones | ---- | Absorbancia obtenida de las soluciones |
| 3 | Concentración de bromelina | mg/mL | Concentración de bromelina obtenida en cada solución |
| 4 | Actividad enzimática | CDU | Actividad enzimática de cada solución |

Fuente: elaboración propia.

3.2. Delimitación del campo de estudio

Es la especificación de las áreas de las cuales forma parte el proyecto de investigación así como el lugar y condiciones en las cuales se ejecutará.

- Campo: ingeniería química
- Área : bioquímica
- Industria: tecnología de los alimentos

- Proceso: evaluar la actividad enzimática de la bromelina en el eje de inflorescencia y exocarpo del fruto de la piña (*ananas comosus*) para aplicación en la industria panificadora.
- Ubicación: el exocarpo y el eje de inflorescencia de la piña (*ananas comosus*) de la variedad Cayena Lisa se adquirirán de los desechos industriales de la empresa Alimentos Montesol S. A la cual está ubicada en el kilómetro 1,5 carretera a Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala. La harina se adquirirá de una venta de suplementos para panificación en la zona 2. Todos los análisis físicos y químicos serán realizados en el laboratorio de análisis Fisicoquímicos del Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Ciudad Universitaria, zona 12, Guatemala.
- La preparación de las muestras de pan para el panel de degustación se realizará en una panadería local ubicada en Residenciales San Ángel 3, zona 2 de la ciudad capital.

3.3. Recursos humanos disponibles

Son todas las personas que contribuirán para el desarrollo y cumplimiento de los objetivos establecidos en el trabajo de investigación, aportando su desempeño y todos sus conocimientos para obtener resultados exitosos.

- Investigador: Br. Edna Marina Dardon Juárez.
- Asesor: Inga. Qca. Hilda Piedad Palma de Martini.
- Coasesora: Licda. Ingrid Lorena Benítez Pacheco.

3.4. Recursos materiales disponibles

Conjunto de recursos materiales tangibles necesarios para llegar a cumplir todos los objetivos propuestos en la investigación.

- Materias primas
 - Eje de Inflorescencia de la piña
 - Cáscara de la piña
 - Harina
- Reactivos
 - Agua desmineralizada
 - Etanol 50 % y 70 % v/v
 - Acetona 50 % y 70 % v/v
 - Ácido cítrico
 - Reactivo de Biuret
 - Albúmina sérica bovina
 - Caseína
 - Ácido acético 1 M
 - Solución de buffer fosfato pH 6
- Equipo de medición
 - Químico
 - Potenciómetro portátil, HAC-LPV-2550T.97.002
 - Espectrofotómetro Genesys 10UV
 - Másico
 - Balanza analítica, WPS 750/C/1, RADWAG
 - Volumétrico
 - Balón aforado – 100 mL
 - Balón aforado – 10 mL
 - Pipeta volumétrica 10 mL

- Probeta -100 mL
 - Probeta – 500 mL
 - Micropipeta 1000 μ L
 - Térmico
 - Termómetro
- Equipo auxiliar
 - Mecánico
 - Extractor de jugo centrifugo, Black & Becker 120 V
 - Centrifugadora Champion S-50D
 - Vidrio
 - Beaker – 50 mL
 - Beaker – 100 mL
 - Beaker – 200 mL
 - Beaker – 400 mL
 - Embudo de vidrio
 - Vidrio reloj
 - Metálico
 - Espátula para laboratorio de acero inoxidable
 - Cuchara para laboratorio de acero inoxidable
 - Plástico
 - Agitador magnético
 - Colador
 - Piseta 500 mL
 - Hielera 45,4 L ,Rubbermaid
 - Tubos plásticos para centrifugadora de 50 mL
- Térmico
 - Eléctrico
 - Plancha de calentamiento, Fisher Scientific, 11-100-49SH
 - Refrigerador

- Consumibles
 - Guantes descartables de látex
 - Hielo
 - Papel absorbente en rollo de secado

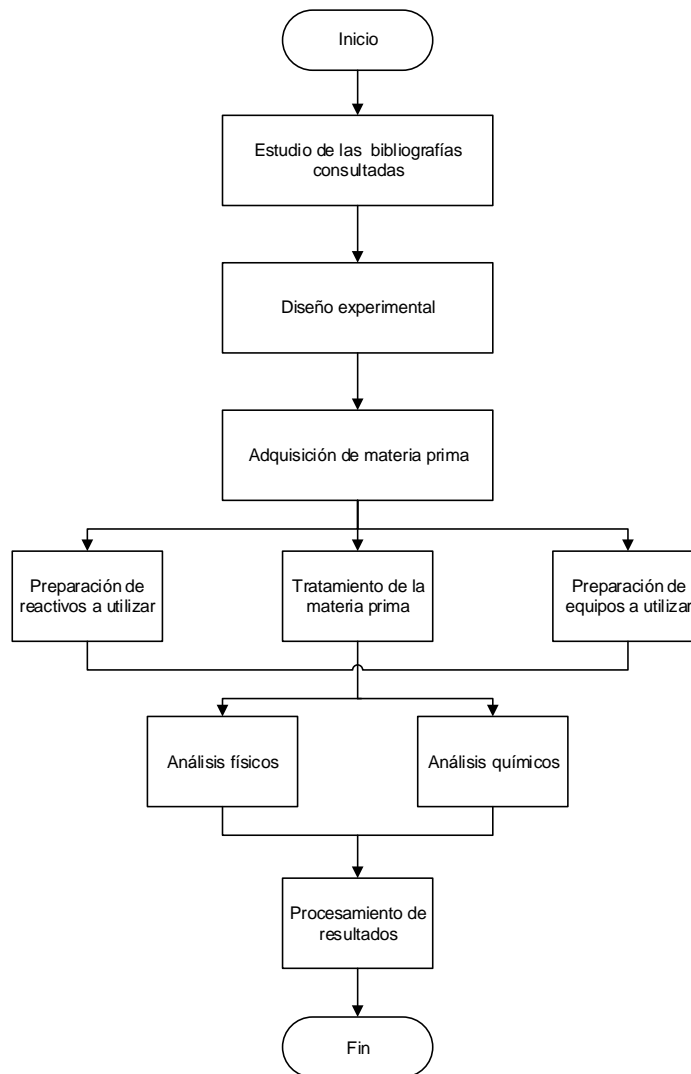
3.5. Técnica cuantitativa y cualitativa

Debido a la naturaleza de la investigación se utilizará una técnica cualitativa y una cuantitativa para llegar al cumplimiento de todos los objetivos establecidos.

3.5.1. Técnica cuantitativa

Se utilizó esta técnica debido a que se manejarán resultados numéricos que deben de ser tratados con el cuidado pertinente para llegar al cumplimiento de los objetivos adecuadamente.

Figura 5. Técnica cuantitativa

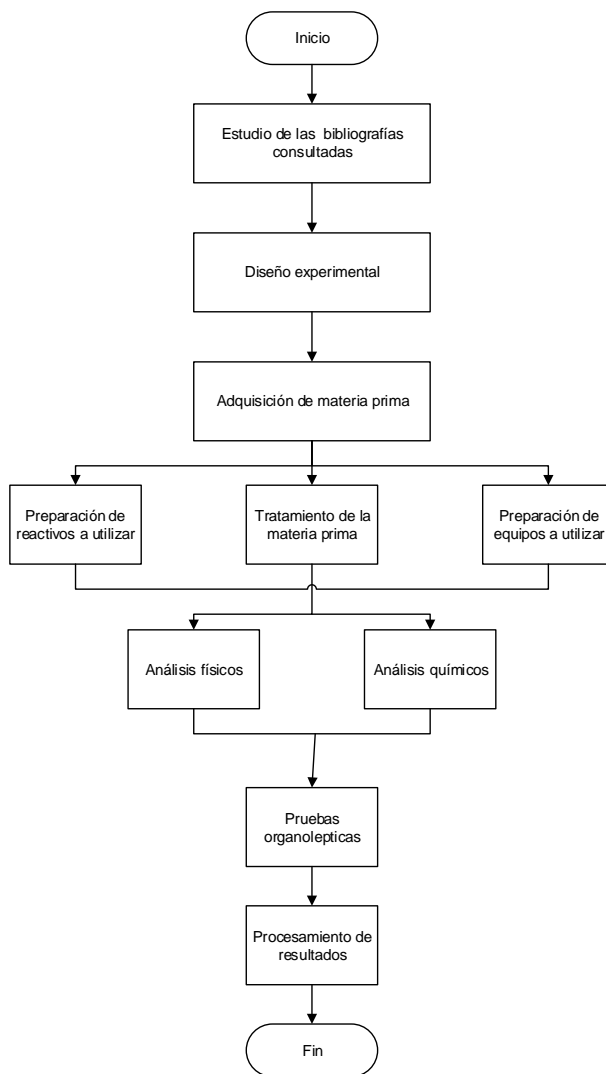


Fuente: elaboración propia, con programa Visio 2013.

3.5.2. Técnica cualitativa

Para el siguiente procedimiento se realizarán técnicas cualitativas las cuales serán útiles para manejar todos los resultados de las pruebas cualitativas.

Figura 6. Técnica cualitativa



Fuente: elaboración propia, con programa Visio 2013.

3.6. Recolección y ordenamiento de la información

Se realizarán varios procedimientos y se recolectaran todos los datos obtenidos para tener una base de datos más ordenados y resultados más verídicos.

3.6.1. Objetivo 1

Se realizó la extracción de la enzima proteolítica por medio de dos solventes: acetona y etanol. Se determinó cuál solvente es más eficaz por medio del peso obtenido de precipitado al terminar la extracción.

Para llevar a cabo este objetivo se realizó el siguiente procedimiento:

- Extraer el jugo del eje de inflorescencia y del exocarpo de la piña.
- Filtrar el jugo obtenido.
- Preparar 500 mL de soluciones de etanol y acetona al 75 % v/v y 50 % v/v.
- Preparar una solución de ácido ascórbico en acetona y una de ácido ascórbico en etanol, con una relación de 0,03 (volumen de preservante con respecto al volumen de jugo).
- Llevar las soluciones de etanol, acetona y el jugo a una temperatura de 5-10 °C.
- Centrifugar a 4 000 rpm por 20 minutos el jugo.
- Mezclar las soluciones con el jugo en una proporción de 1:1.
- Centrifugar la mezcla a 4 000 rpm por 20 minutos.
- Dejar reposar la mezcla en tubos para centrifugadora durante 50 horas manteniendo una temperatura entre 5-10 °C.
- Centrifugar a 4 000 rpm por 25 minutos.

- Se elimina el sobrenadante y los precipitados se transfieren a vidrio reloj.
- Secar las muestras a 40 °C durante 48 horas.
- Dejarlas enfriar en la desecadora durante 10 minutos.
- Pesar las muestras secas.

3.6.2. Objetivo 2

Para llevar a cabo este objetivo se realizó una curva de calibración de proteínas totales. Esta fue construida con cantidades conocidas de solución de albumina sérica bovina.

Con esta curva se determinó la cantidad de proteína en una muestra incógnita.

Para llevar a cabo este objetivo se realizó el siguiente procedimiento:

- Se prepararon los siguientes reactivos:
 - Albumina sérica bovina:

Se tenía una solución estándar de albumina de 300 mg/mL, por lo tanto se hicieron 10 soluciones para realizar la curva, las cuales fueron de: 0,1 mg/mL, 0,20 mg/mL, 0,30 mg/mL, 0,40 mg/mL, 0,50 mg/mL, 0,60 mg/mL , 0,70 mg/mL, 0,80 mg/mL, 0,90 mg/mL, 1,0 mg/mL.

○ Reactivo de Biuret:

Se prepararon 250 mL del reactivo de Biuret el cual se realizó de la siguiente manera:

- Disolución A: 4,79 g de CuSO_4 en 27,7 mL de agua destilada caliente.
- Disolución B: 4,80 g de citrato sódico y 27,77 g de Na_2CO_3 anhidro en 222,22 mL de agua destilada caliente.

Se mezclan ambas soluciones y se colocan en un matraz cubierto para evitar la acción de la luz.

- Se necesitarán 12 tubos para realizar cada muestra, las proporciones de cada solución se presentan en la siguiente tabla:

Tabla VII. **Concentraciones para método de Biuret**

| Núm. Tubo | Agua destilada | Muestra proteica | Solución estándar | Reactivo de Biuret |
|-----------|----------------|------------------|-------------------|--------------------|
| 1 | 0,5 mL | ----- | ----- | 2 mL |
| 2 | ----- | 0,5 mL | ----- | 2 mL |
| 3 | ----- | ----- | 0,1 mg/mL | 2 mL |
| 4 | ----- | ----- | 0,20 mg/mL | 2 mL |
| 5 | ----- | ----- | 0,30 mg/mL | 2 mL |
| 6 | ----- | ----- | 0,40 mg/mL | 2 mL |
| 7 | ----- | ----- | 0,50 mg/mL | 2 mL |
| 8 | ----- | ----- | 0,60 mg/mL | 2 mL |
| 9 | ----- | ----- | 0,70 mg/mL | 2 mL |
| 10 | ----- | ----- | 0,80 mg/mL | 2 mL |
| 11 | ----- | ----- | 0,90 mg/mL | 2 mL |
| 12 | ----- | ----- | 1,0 mg/mL | 2 mL |

Fuente: elaboración propia.

El reactivo de Biuret debe agregarse al mismo tiempo en todas las soluciones debido a que al momento de agregarlo empieza la reacción.

1. Se movieron muy bien los tubos en una agitadora durante 10 a 30 segundos.
2. Se dejaron incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
3. Se midió la absorbancia de cada solución en el espectrofotómetro para realizar la curva de calibración.

3.6.3. Objetivo 3

Para determinar la actividad enzimática se realizó el siguiente procedimiento y soluciones:

- Caseína

Se realizó una solución de caseína al 2 % p/p de la siguiente manera:

- Se pesaron 2 gramos caseína y se disuelve en 50 mL de agua destilada.
- Se agregó gota a gota una solución amoniacal hasta que la caseína quede completamente disuelta.
- Se puso a evaporar la solución amoniacal a baño de maría.
- Se aforó a 100 mL.

- Precipitante de proteína

- Se preparó una solución de 0,1 M de ácido tricloroacético.
- Se preparó una solución de 0,2 M de acetato de sodio.
- Se preparó una solución de 0,1 M de ácido acético.
- Se afora a 500 mL.

- Diluyente de la enzima

- Se preparó una solución de 0,03 M de L- Cisteina HCL * H₂O
- Se preparó una solución de 0,006 M de EDTA
- Llevar la solución a un pH de 4,5 con NaOH a 1 N
- Aforar a un volumen de 2000 mL.

- Solución estándar de tirosina

Se preparó una solución 50 $\mu\text{m}/\text{mL}$ en una solución de 0,1 N HCL.

Procedimiento

- Se disuelve la bromelina sólida en el diluyente de enzima (esta solución se debe de utilizar antes de los 30 minutos de ser preparada).
- Se agregaron 5 mL de la solución de caseína en cada tubo de ensayo.
- Se coloca en baño de maría y se lleva a 37 °C por aproximadamente 10 minutos.
- Se le agrega 1 mL de la solución de enzima.
- Se mezcla por 10 segundos.
- Se regresa, por otros 10 minutos, al baño maría a 37 °C.
- Se agrega 5 mL del precipitante de proteína para frenar la reacción.
- Para hacer el blanco, inmediatamente después de agregar el precipitante de proteína se agrega 1 mL de solución de enzima.
- Se agitan vigorosamente y se regresan al baño de maría por 30 minutos.
- Luego se dejan enfriar a temperatura ambiente.
- Se filtra dos veces al vacío cada muestra.
- Se midieron las absorbancias de cada muestra en el espectrofotómetro.
- Se midieron las absorbancias de la solución de tirosina.

3.6.4. Objetivo 4

Para determinar la pureza de la enzima proteolítica se determinó la actividad enzimática específica, la cual es el número de unidades de enzima por miligramo de proteína. La pureza se determinó con el cociente de la actividad enzimática y la cantidad total de proteínas.

3.6.5. Objetivo 5

Se utilizaron las siguientes formulaciones para la fabricación del pan con la enzima para determinar la influencia de la bromelina.

Tabla VIII. **Formulación para pan francés**

| Ingredientes | Porcentaje % | Gramo | Libras | Onzas | % Relativo |
|-----------------------------|---------------------|--------------|---------------|--------------|-------------------|
| Agua | 53 | 240,6 | 0 | 8,5 | 31,64 % |
| Harina dura sol | 100 | 454,0 | 1 | 0,0 | 59,70 % |
| Levadura fresca | 2,50 | 11,4 | 0 | 0,4 | 1,49 % |
| Margarina industrial olmeca | 10 | 45,4 | 0 | 1,6 | 5,97 % |
| Sal | 2 | 9,1 | 0 | 0,3 | 1,19 % |

Fuente: elaboración propia.

Tabla IX. **Formulación para pan de manteca**

| Ingredientes | Porcentaje % | Gramo | Libras | Onzas | % Relativo |
|---------------------|---------------------|--------------|---------------|--------------|-------------------|
| Agua | 32 | 145,3 | 0 | 5,1 | 16,12 % |
| Azúcar | 20 | 90,8 | 0 | 3,2 | 10,08 % |
| Harina suave | 100 | 454,0 | 1 | 0,0 | 50,38 % |
| Huevos | 20 | 90,8 | 0 | 3,2 | 10,08 % |
| Levadura | 3 | 13,6 | 0 | 0,5 | 1,51 % |
| Manteca | 20 | 90,8 | 0 | 3,2 | 10,08 % |
| Polvo de hornear | 2.5 | 11,4 | 0 | 0,4 | 1,26 % |
| Sal | 1 | 4,5 | 0 | 0,2 | 0,50 % |

Fuente: elaboración propia.

Tabla X. **Porcentajes de bromelina para prueba organoléptica**

| Tipo de Pan | Porcentaje de bromelina extraída | | |
|-------------|----------------------------------|-----|-------|
| | 0,5 % | 1 % | 1,5 % |
| Francés | 0,5 % | 1 % | 1,5 % |
| Manteca | 0,5 % | 1 % | 1,5 % |

Fuente: elaboración propia.

3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

Se presentan los cuadros que se utilizaron para la toma de dato de todos los procedimientos realizados.

3.7.1. Objetivo 1

Los datos obtenidos serán tabulados de la siguiente manera:

Tabla XI. **Toma de datos de extracción con agua**

| Extracción con etanol | | Extracción con acetona | |
|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 75 % v/v | 50 % v/v | 75 % v/v | 50 % v/v |
| Masa de precipitado + agua | Masa de precipitado + agua | Masa de precipitado + agua | Masa de precipitado + agua |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XII. **Toma de datos de extracción sin agua**

| Extracción con etanol | | Extracción con acetona | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 75 % v/v | 50 % v/v | 75 % v/v | 50 % v/v |
| Masa de precipitado seco | Masa de precipitado seco | Masa de precipitado seco | Masa de precipitado seco |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Fuente: elaboración propia.

3.7.2. **Objetivo 2**

Los datos serán presentados de la siguiente manera:

Tabla XIII. **Toma de datos de determinación de concentración**

| Tubo Núm. | Concentración de solución estándar (mg/mL) | Absorbancia | | |
|-----------|--|-------------|--|--|
| 1 | ----- | | | |
| 2 | ----- | | | |
| 3 | 0,05 mg/mL | | | |
| 4 | 0,10 mg/mL | | | |
| 5 | 0,15 mg/mL | | | |
| 6 | 0,20 mg/mL | | | |
| 7 | 0,25 mg/mL | | | |
| 8 | 0,30 mg/mL | | | |

Fuente: elaboración propia.

3.7.3. Objetivo 3

Los datos obtenidos se manejaran de la siguiente forma:

Tabla XIV. **Toma de datos para actividad enzimática bromelina estándar**

| Muestra | Absorbancia | | |
|----------------|--------------------|--|--|
| Blanco | | | |
| 1 | | | |
| 2 | | | |
| 3 | | | |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XV. **Toma de datos para actividad enzimática bromelina extraída
eje de inflorescencia**

| Muestra | Absorbancia | | |
|----------------|--------------------|--|--|
| Blanco | | | |
| 1 | | | |
| 2 | | | |
| 3 | | | |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XVI. **Toma de datos para actividad enzimática bromelina extraída en el exocarpo**

| Muestra | Absorbancia | | |
|----------------|--------------------|--|--|
| Blanco | | | |
| 1 | | | |
| 2 | | | |
| 3 | | | |

Fuente: elaboración propia.

3.7.4. Objetivo 4

Se tabularán los datos de la siguiente manera:

Tabla XVII. **Toma de datos para determinación de pureza**

| Datos | Valor | | |
|----------------------|--------------|--|--|
| Actividad enzimática | | | |
| Proteínas totales | | | |

Fuente: elaboración propia.

3.7.5. Objetivo 5

Los datos obtenidos se tabularán de la siguiente manera:

Figura 7. Encuesta para prueba organoléptica

| Evaluacion sensorial | | | | | | |
|---|--------------|---------------------------|---------------------|-----------|-----------------|--|
| <p>Tesis titulada: EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA EN LOS DIFERENTES SEGMENTOS DEL FRUTO DE LA PIÑA (ANANAS COMOSUS) PROVENIENTES DE UN SISTEMA DE MANUFACTURA DE RODAJAS DE MEXOCARPO ENLATADO PARA POSIBLE APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA PANIFICADORA</p> | | | | | | |
| Edad (años): | 25 - 35 | 35 - 45 | 45-55 | 55 - 65 | Código: | |
| Género: | M | F | | | | |
| Instrucciones: Marcar con una X la ponderacion preferente | | | | | | |
| Propiedades del pan : | | | | | | |
| Color | No me agrada | No me agrada ni desagrada | Me agrada levemente | Me agrada | Me agrada mucho | |
| Olor | No me agrada | No me agrada ni desagrada | Me agrada levemente | Me agrada | Me agrada mucho | |
| Sabor | No me agrada | No me agrada ni desagrada | Me agrada levemente | Me agrada | Me agrada mucho | |
| Textura | No me agrada | No me agrada ni desagrada | Me agrada levemente | Me agrada | Me agrada mucho | |

Fuente: elaboración propia.

3.8. Análisis estadístico

Es necesario para demostrar la relación entre las variables a manejar y la influencia que tienen sobre los resultados obtenidos.

Se utilizó el análisis de varianza de dos factores.

Este método se basa en el análisis de varianza de los resultados obtenidos en una investigación de dos factores. Se utilizaron varias repeticiones en un diseño totalmente aleatorio. Se realizaron “n” repeticiones de tratamientos determinadas por a veces del factor “a” y b veces del factor “b”.

Tabla XVIII. **Tratamientos del análisis estadístico**

| Tratamientos | Repeticiones | | | | Totales | media |
|--------------|--------------|--------|--------|--------|-----------------------|-----------------------|
| | 1 | 2 | 3 | B | | |
| 1 | Z(ijx) | Z(ijx) | Z(ijx) | Z(ijx) | T_j | y_j |
| 2 | Z(ijx) | Z(ijx) | Z(ijx) | Z(ijx) | T_j | y_j |
| a | Z(ijx) | Z(ijx) | Z(ijx) | Z(ijx) | T_j | y_j |
| Totales | T_j | T_j | T_j | T_j | $\sum T_i = \sum T_j$ | |
| Media | y_j | y_j | y_j | y_j | | $\sum y_i = \sum y_j$ |

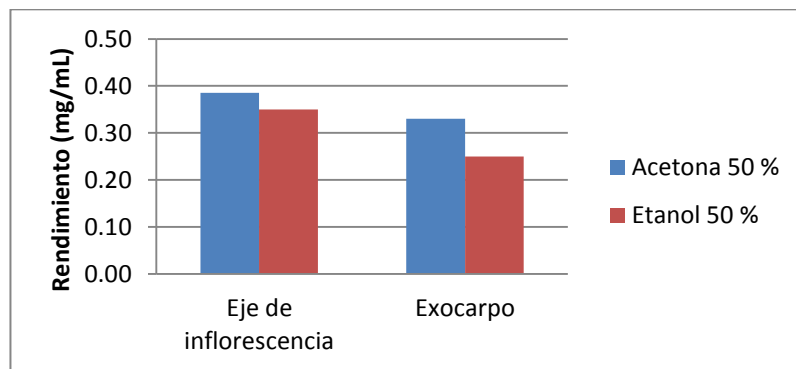
Fuente: WALPOLE, Ronald E. *Probabilidad y estadística para ingenieros*. p. 509.

4. RESULTADOS

4.1. Objetivo 1

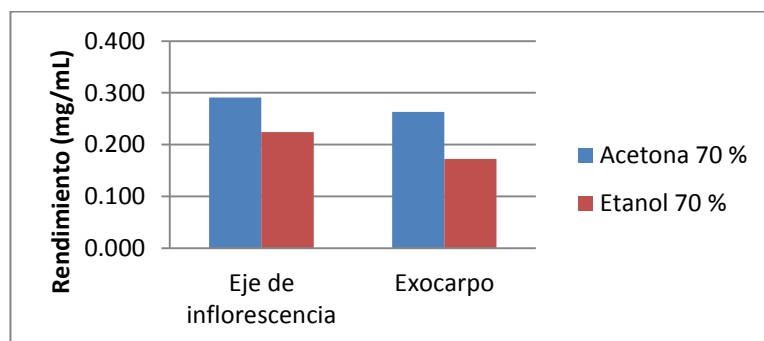
Se realizaron las extracciones con los solventes indicados en cada proporción y se graficaron los rendimientos obtenidos.

Figura 8. Rendimientos solventes al 50 %



Fuente: elaboración propia.

Figura 9. Rendimientos con solventes al 70 %

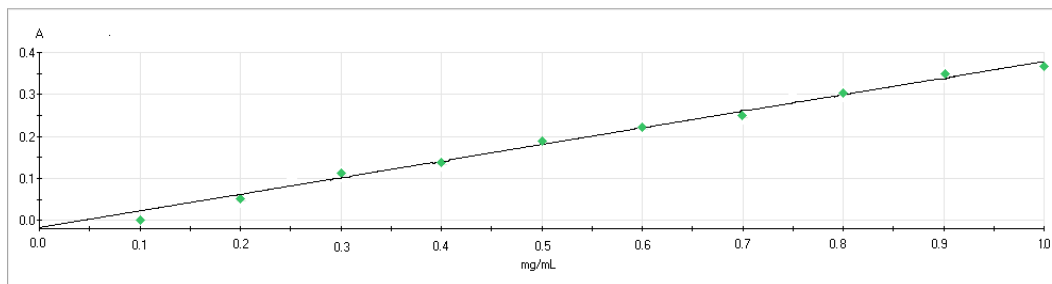


Fuente: elaboración propia.

4.2. Objetivo 2

Se realizó una curva de calibración con las diferentes concentraciones de disoluciones para determinar la concentración de proteína.

Figura 10. **Curva de calibración**



Fuente: elaboración propia.

Tabla XIX. **Expresión matemática para la curva de determinación de la concentración de proteína**

| Línea | Ecuación | Intervalo (mg/mL) | R ² |
|-------|-------------------------|-------------------|----------------|
| — | $Y = 0,333x + 0,000067$ | 0-1 | 0,9977 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XX. **Concentración en las distintas fracciones solubles**

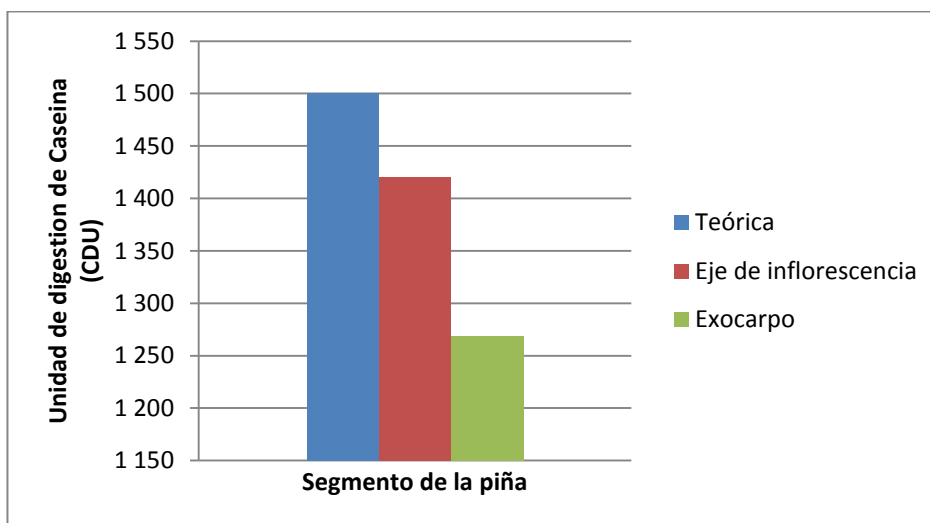
| Segmento de la piña | Absorbancia | Contenido (mg/mL) |
|-----------------------|-------------|-------------------|
| Eje de inflorescencia | 0,113 | 0,342 |
| Exocarpo | 0,127 | 0,381 |

Fuente: elaboración propia.

4.3. Objetivo 3

Se determinó por el método de coagulación de caseína la actividad enzimática del extracto tanto del eje de inflorescencia como de la cáscara.

Figura 11. **Comparación de la actividad enzimática de los diferentes segmentos de la piña**



Fuente: elaboración propia.

Tabla XXI. **Actividad enzimática de los diferentes segmentos de la piña**

| Segmento de la piña | Absorbancia | Actividad (CDU) |
|-----------------------|-------------|-----------------|
| Eje de inflorescencia | 0,542 | 1 420,1876 |
| Exocarpo | 0,489 | 1 269,1038 |
| Teórica | ----- | 1 500 |

Fuente: elaboración propia.

4.4. **Objetivo 4**

Se determinó la actividad enzimática específica por medio de la concentración de proteínas y la actividad enzimática para determinar la pureza.

Tabla XXII. **Actividad específica enzimática de los diferentes segmentos de la piña**

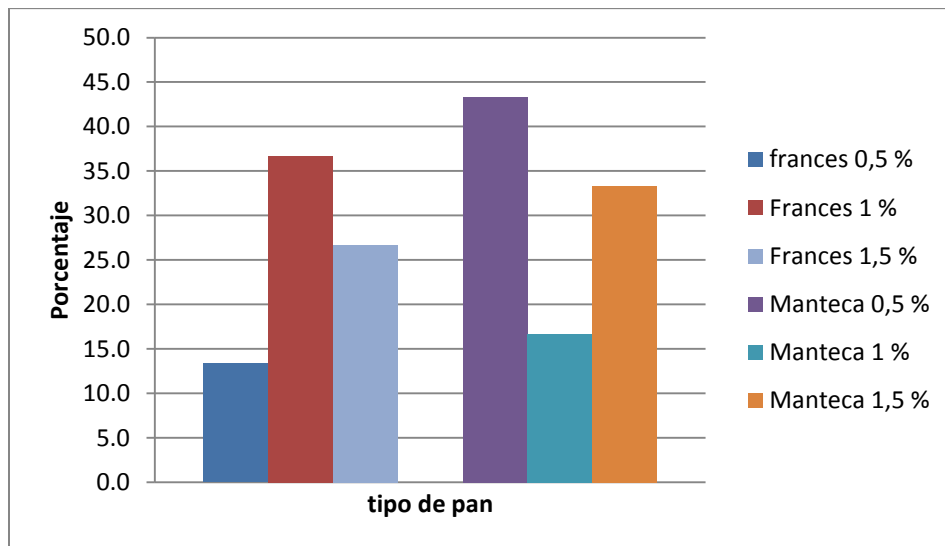
| Segmento de la piña | Actividad específica (CDU/mg) |
|-----------------------|-------------------------------|
| Eje de inflorescencia | 475,762846 |
| Exocarpo | 484,7976516 |

Fuente: elaboración propia.

4.5. Objetivo 5

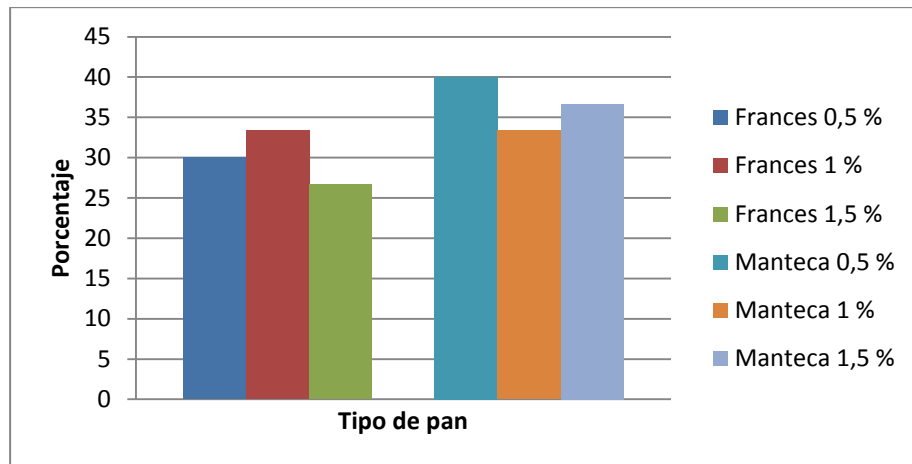
Se realizaron gráficas de barras para comparar cada una de las características del pan elaborado.

Figura 12. **Comparación de porcentajes con respecto al color del pan de francés y de manteca realizados a las distintas concentraciones de enzima de las pruebas organolépticas**



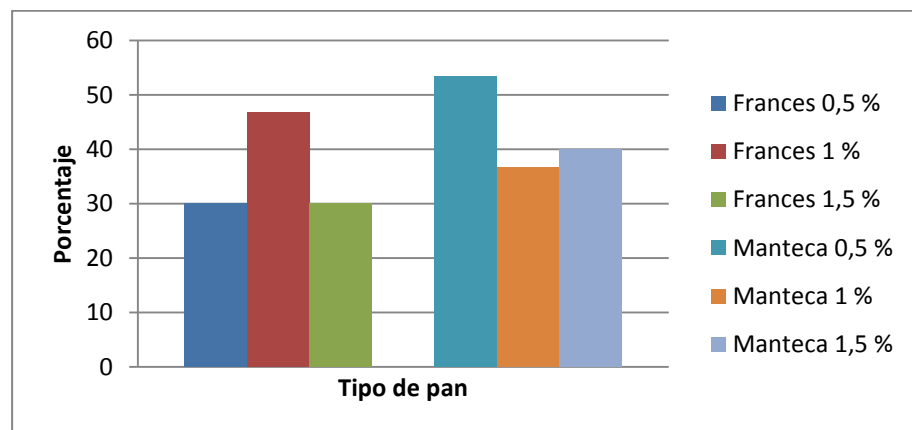
Fuente: elaboración propia.

Figura 13. **Comparación de porcentajes con respecto al olor del pan de francés y de manteca realizados a las distintas concentraciones de enzima de las pruebas organolépticas**



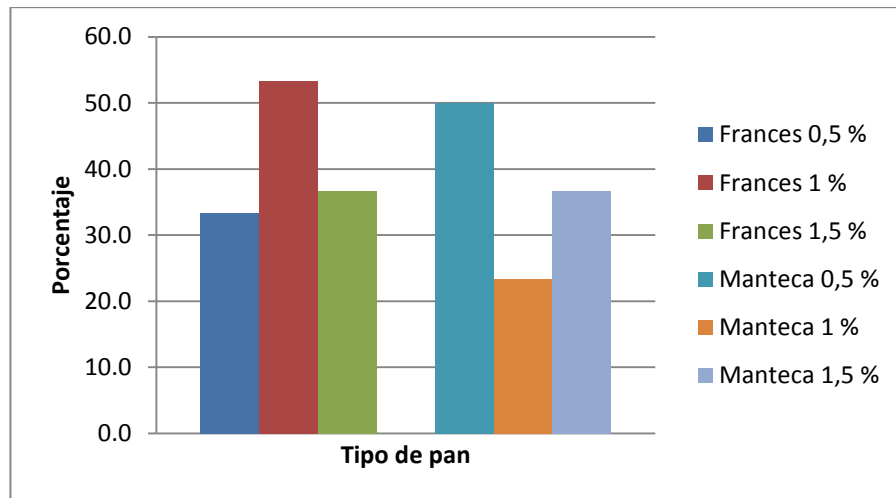
Fuente: elaboración propia.

Figura 14. **Comparación de porcentajes con respecto al sabor del pan de francés y de manteca realizados a las distintas concentraciones de enzima de las pruebas organolépticas**



Fuente: elaboración propia.

Figura 15. **Comparación de porcentajes con respecto a la textura del pan de francés y de manteca realizados a las distintas concentraciones de enzima de las pruebas organolépticas**



Fuente: elaboración propia.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La presente investigación consistió en la evaluación de la actividad enzimática en los diferentes segmentos del fruto de la piña. Estos, provenientes de un sistema de manufactura de rodajas de mesocarpo enlatado para posible aplicación en la industria panificadora.

Para llegar a cumplir el objetivo de esta investigación se realizaron diferentes pruebas así como la extracción de la enzima proveniente del fruto. Estos fueron la determinación de proteína en el extracto, la comparación de la actividad enzimática del eje de inflorescencia y el exocarpo del fruto, la determinación de la actividad específica de cada segmento y por último la elaboración de pan con distintas concentraciones de enzima extraída.

El objetivo 1 fue la evaluación de la solubilidad de la enzima proteolítica en dos diferentes solventes. Para esto se utilizaron etanol y acetona como solventes a dos distintas concentraciones las cuales fueron 50 % y 70 %, durante todo el procedimiento se usaron cada una de las concentraciones primero en una proporción de jugo- solvente de 1:1 y 1:0.5. En la figura 8 se puede observar la comparación de los rendimientos obtenidos con los dos tipos de solvente al 50 % tanto en el exocarpo así como en el eje de inflorescencia de la piña. La gráfica de barras representa los rendimientos de cada segmento. En esta gráfica se puede observar que en las concentraciones al 50 % la enzima es más insoluble en etanol que en acetona debido a que se obtuvo una mayor recuperación en ella. Para el eje de inflorescencia se obtuvo un rendimiento de 0,385 mg/mL y del exocarpo es de 0,333 mg/mL.

En la figura 9 se presentan los resultados obtenidos de la extracción de los dos solventes a la concentración de 70 %. En esta gráfica se representan los rendimientos obtenidos, en este caso a una concentración más grande la acetona siendo el solvente más eficiente debido a que se obtienen los rendimientos del eje de inflorescencia de 0,291 mg/mL y del exocarpo de 0,263 mg/mL. Pero aún se puede observar que la acetona generó mayores rendimientos por lo tanto es el mejor solvente para extraer la enzima.

El objetivo 2 fue la determinación de la concentración de la enzima proteolítica en la fracción soluble del eje de inflorescencia y del exocarpo del fruto. Para realizar este objetivo se realizaron 10 soluciones de un estándar de albumina, las cuales sirvieron para realizar una curva de calibración y obtener la concentración de la muestra extraída. En la figura 10 se presenta la curva construida con las soluciones preparadas y las absorbancias correspondientes para cada una de las concentraciones realizadas. Se logró una curva con una ecuación: $y = 0,333x + 0,000067$. Esta ecuación se obtuvo por medio del método de mínimos cuadrados, que muestra la mejor línea recta que pasa por todos los puntos obtenidos en el procedimiento experimental. Con la curva construida ya fue posible encontrar la concentración de proteína contenida en cada muestra, se prepararon las muestras tanto del eje de inflorescencia como del exocarpo a una concentración de 1 mg/mL y se les midió la absorbancia con el espectrofotómetro. Para obtener las concentraciones. En la tabla XX se presentan los resultados obtenidos gracias a la curva de calibración, se puede observar que para el eje de inflorescencia se obtuvo una absorbancia de 0,113 lo cual da una concentración de 0,342 mg/mL, y del exocarpo una absorbancia de 0,127 con una concentración de 0,381 mg/mL. Por lo tanto se observa que se obtiene una mayor concentración en el exocarpo de la piña.

El objetivo 3 fue la evaluación de la actividad enzimática en la fracción soluble del eje de inflorescencia y del exocarpo del fruto. Para lograr este objetivo se realizaron varias soluciones, una solución de caseína la cual se utilizó como sustrato logrando la medición de la actividad enzimática, también se realizó una solución TCA la cual es una solución de ácido tricloroacético que sirve para precipitar las proteínas. Además se realizó la solución de enzima y una solución estándar de tirosina, siendo un producto de la degradación del proceso de hidrólisis enzimática de la caseína y la enzima, se mezclaron y se dejaron a una temperatura de 37 °C. Se midieron las absorbancias a 280 nm de cada muestra.

En la figura 11 se muestra una comparación de las actividades enzimáticas tanto de la bromelina estándar, el eje de inflorescencia y el exocarpo de la piña. Se observa que se obtuvo una mayor actividad del eje de inflorescencia que en el exocarpo.

En la tabla XXI se presentan las absorbancias obtenidas de cada una de las muestras. Se presentan las absorbancias del eje de inflorescencia que es de 0,542 dando una actividad enzimática de 1420,1876 CDU y la del exocarpo es una absorbancia de 0,489 dando una actividad enzimática de 1269,1038 CDU.

Estos datos representan que la actividad enzimática del eje de inflorescencia es mayor que la del exocarpo.

En el objetivo 4 se determinó la pureza de la enzima proteolítica extraída en la fracción soluble del eje de inflorescencia y del exocarpo del fruto. La pureza se determinó por medio de la actividad enzimática específica, debido al cociente de la actividad enzimática y la concentración de proteína determinada. En la tabla XXII se presentan las actividades específicas de cada uno de los

segmentos de la piña. Se logró una actividad específica del eje de inflorescencia de 475,7628 CDU/mg y del exocarpo de 484,7972 CDU/mg, dando una mayor pureza para el exocarpo de la piña.

En el objetivo 5 se evaluaron las características del pan con la enzima extraída por medio de las pruebas organolépticas.

Para el cumplimiento de este objetivo se formuló una libra de cada tipo de pan con las diferentes concentraciones. Se realizaron varias muestras para que el panel de degustación pudiera dar su opinión respecto a las propiedades del mismo.

Se evaluaron 4 características: color, olor, sabor y textura. El panel de degustación fue de 30 personas, se les dio una muestra con un código y así fueron ellos calificando cada una de las características.

En la figura 12 se pueden observar los resultados de la primera característica del pan: el color. En esta gráfica se puede observar que con respecto al pan francés se obtiene un porcentaje de 36,7 % al 1 % de concentración el cual es el más alto, para el pan de manteca se observó un 43,3 % al utilizar una concentración al 0,5 %. Al realizar el pan con la bromelina extraída se observó una coloración levemente amarillenta generada por la coloración de la enzima.

En la figura 13 se muestran los resultados del olor. Para el pan francés se obtuvo un porcentaje de 33,3 % con un porcentaje de enzima del 1 %, y para el pan de manteca se obtuvo un 40 % para el porcentaje de 0,5 %. Se obtuvo un leve olor a piña en el pan elaborado. La intensidad depende del porcentaje de enzima empleado en cada formulación.

El sabor se representó en la figura 14, con respecto al pan de francés y obtuvo un porcentaje de 46,7 %. Cuando se utiliza un porcentaje de 1 % de enzima y un porcentaje de 53,3 % con lo que respecta al pan de manteca se usa un 0,5 % de enzima. En el pan elaborado se obtuvo un leve sabor a piña lo cual endulza un poco el pan, por lo que hace que la utilización de la enzima sea más apropiada para el pan de manteca.

La figura 15 muestra la calificación de la textura del pan. Para el pan francés se obtiene un 53,6 % al utilizar una concentración del 1 % de enzima, y para el pan de manteca se obtuvo un porcentaje del 50 % al utilizar una concentración del 0,5 % de bromelina. Con respecto a la textura se obtuvo un mayor volumen de masa y una textura más esponjosa del pan.

6. CONCLUSIONES

1. La solubilidad de la enzima es menor en acetona debido a que se obtuvo más precipitado tanto en el eje de inflorescencia como en el exocarpo a las dos concentraciones.
2. La concentración de la enzima proteolítica, en la fracción soluble del eje de inflorescencia, es menor a la obtenida en el exocarpo del fruto.
3. La actividad enzimática evaluada, en la fracción soluble del eje de inflorescencia, es mayor a la de la fracción soluble del exocarpo del fruto.
4. La pureza de la enzima, en la fracción soluble del eje de inflorescencia, es mayor a la de la fracción soluble del exocarpo del fruto.
5. Las pruebas organolépticas del pan francés con la enzima extraída fueron más beneficiosas al utilizar el 1 % de concentración de enzima, y del pan de manteca fueron mejores al utilizar el 0,5 % de concentración de enzima.

7. RECOMENDACIONES

1. Utilizar concentraciones altas de solventes para determinar la concentración de solvente apropiado obteniendo mayor rendimiento.
2. Usar más solventes próticos y apróticos para determinar con cuál se obtiene un mayor rendimiento.
3. Emplear otros segmentos de la piña para la extracción, tales como la corona.
4. Sería conveniente, en el proceso de extracción, dejar reposar los tubos después del segundo centrifugado 7 días completos, para intentar obtener un mayor rendimiento.
5. Realizar una curva de calibración de proteína con otros métodos para determinación de proteínas tales como el de Bradford y BCA.
6. Utilizar otro tipo de sustrato para determinar la actividad enzimática.
7. Realizar las pruebas organolépticas con pan de yemas y pan de pita.
8. Utilizar la enzima para otras aplicaciones, tales como ablandador de carne o para medicamentos.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. DAPEAU, G. *Methods in Enzymology*. 2a ed. USA: 1998. 454- 471 p.
2. EARLE, R.L. *Ingeniería de alimentos*, 2a ed. España: Acribia,1988. 167 p.
3. GUATAM, S. *Comparative study of extraction, purification and estimation of bromelian from tem and fruit of pineapple plant*. [en línea] <www.pharm.chula.ac.th/tjps/contentVol34No2/V34-2Art3%20pp67-76.pdf> [Consulta: 3 de mayo de 2014].
4. ITESCAM. *Bromelina: una enzima*. [en línea] <comercialwww.itescam.edu.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/46007.PDF> [Consulta 4 de abril de 2014].
5. LEHNINGER. *Principios de bioquímica*. 4a ed. México: Omega, 2005. 986 p.
6. MORALES, Albert Ronald. *Frutoterapia: nutrición y salud*. 2a ed. Buenos Aires: Edaf del Plata, 2007. 136 p.
7. PEREZ. A. Carvajal. *Actividad proteolítica de extractos enzimáticos obtenidos de las plantas de la familia Bromeliaceae*. [en línea] <www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol11_206/pla03206.htm> .[Consulta 5 de abril del 2014].

8. PRONAGRO. *Parámetros de comercialización de la piña*. [en línea] <<http://pronagro.sag.gob.hn/assets/displayanything/gallery/1/513/PARAMETROS-DE-COMERCIALIZACION-DE-LA-PINA-MD2.pdf>>. [Consulta: 1 mayo de 2014].
9. PULIDO SALINAS. *Estudio técnico-económico para la fabricación de bromelina*. [en línea] <www.itzamna.bnct.ipn.mx8080/dspace/bistream/123456789/7327/1/.pdf>. [Consulta 6 de abril de 2014].
10. RINZLER, Carol Ann. *The new complete book of food*. 2a ed. USA: Infobase Publishing, 2009. 356 p.
11. THERON, Maria M.; RYKERS LUES, J. F. *Organic acids and food preservation*. USA: Taylor and Francis Group, 2011. 268 p
12. WARPOLE, Ronald E. *Probabilidad y estadística para ingenieros*. 4a ed. Mexico: Mcgraw-Hill, 1992. 797 p.

APÉNDICES

1. Muestra de cálculo

- Determinación de la densidad del jugo

$$\rho = \frac{m}{v} \quad \text{[Ecuación \# 1]}$$

Donde:

ρ = densidad (g/mL)

m = masa (g)

v = volumen (v)

Ejemplo: determinación de la densidad del eje de inflorescencia

$$\rho = \frac{10,169 \text{ g}}{10 \text{ mL}} = 1,0169 \text{ g/mL}$$

- Determinación del precipitado obtenido

$$M_f = (m_o - m_v) \quad \text{[Ecuación \# 2]}$$

Donde:

M_f = peso de precipitado obtenido luego del secado (g)

m_o = peso del precipitado secado + Peso del vidrio reloj (g)

m_v = peso del vidrio reloj (g)

Ejemplo: determinación del precipitado obtenido en la extracción

$$M_f = (37,527g - 37,437g) = 0,089 g$$

- Determinación del rendimiento de extracción

$$R = \frac{M_f}{V_i} \quad \text{[Ecuación \# 3]}$$

Donde:

R= rendimiento de extracción (mg/mL)

M_f = peso de precipitado obtenido luego del secado (g)

V_i= volumen inicial (mL)

Ejemplo: determinación del rendimiento de la extracción

$$R = \frac{89 \text{ mg}}{180 \text{ mL}} = 0,49 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$$

- Cálculo del determinante para encontrar la mejor recta

$$D = \begin{vmatrix} \sum(x_i^2) & \sum x_i \\ \sum x_i & n \end{vmatrix} \quad \text{[Ecuación \# 4]}$$

Donde:

D = determinante

x_i= concentración (mg/mL)

n = número de datos

Ejemplo: cálculo del determinante

$$D = \begin{vmatrix} 3,85 & 5,5 \\ 5,5 & 10 \end{vmatrix} = 8,25$$

- Cálculo de la pendiente para encontrar la mejor recta

$$m = \frac{\begin{vmatrix} \sum x_i y_i & \sum x_i \\ \sum y_i & n \end{vmatrix}}{D} \quad \text{[Ecuación \# 5]}$$

Donde:

m = pendiente

y_i = absorbancias

D = determinante

x_i = concentración (mg/mL)

n = número de datos

Ejemplo: cálculo de la pendiente

$$m = \frac{\begin{vmatrix} 1,283 & 5,5 \\ 1,833 & 10 \end{vmatrix}}{8,25} = 0,333$$

- Cálculo de la ordenada al origen para encontrar la mejor recta

$$b = \frac{\begin{vmatrix} \sum (x_i)^2 & \sum x_i y_i \\ \sum x_i & \sum y_i \end{vmatrix}}{D} \quad \text{[Ecuación \# 6]}$$

Donde:

b = ordenada al origen

y_i = absorbancias

D = determinante

x_i = concentración (mg/mL)

Ejemplo: cálculo de la ordenada al origen

$$b = \begin{vmatrix} 3,85 & 1,1283 \\ 5,5 & 1,833 \end{vmatrix} \div 8,25 = 0,000067$$

- Determinación del contenido de proteína

$$y = 0,333x + 0,000067 \quad \text{[Ecuación \# 7]}$$

Donde:

y= absorbancia

x = concentración (mg/mL)

Ejemplo: determinación del contenido de proteína en el eje de inflorescencia

$$x = \frac{0,11 - 0,000067}{0,333} = 0,342 \text{ mg/mL}$$

- Determinación de la actividad enzimática

$$Ac = \frac{A_m - A_b}{A_t} \times 50 \times \frac{11}{10} \times fd \quad \text{[Ecuación \# 8]}$$

Donde:

A_c = actividad enzimática (CDU)

A_m = absorbancia de la muestra

A_b = absorbancia del blanco

A_t = absorbancia de la tirosina estándar

F_d = factor de dilución

Ejemplo: determinación de la actividad enzimática para el eje de inflorescencia

$$A_c = \frac{0,422 - 0,119}{0,364} \times 50 \times \frac{11}{10} \times 22,22 = 1\,420,1876 \text{ CDU}$$

- Determinación de la pureza de la enzima extraída

$$A_e = \frac{A_c}{P_t} \quad \text{[Ecuación \# 9]}$$

Donde:

A_e = actividad específica (CDU/mg)

A_c = actividad enzimática (CDU)

P_t = proteínas totales (mg)

Ejemplo: determinación de la pureza de la enzima del eje de inflorescencia

$$A_e = \frac{1\,420,1876}{0,342} = 475,762 \text{ CDU/mg}$$

2. Datos calculados

Tabla XXIII. **Pesos obtenidos de la extracción con solvente acetona**

| Extracción | Solvente | Porcentaje | Peso vidrio reloj+ precipitado + agua | Peso vidrio reloj + precipitado | Recuperado vidrio reloj (g) |
|------------|----------|------------|--|------------------------------------|--------------------------------|
| Centro | Acetona | 50 % | 38,319 | 37,757 | 0,049 |
| | | | 38,732 | 37,526 | 0,089 |
| | | | 10,811 | 35,174 | 0,052 |
| Cáscara | Acetona | 50 % | 39,258 | 38,285 | 0,06 |
| | | | 44,535 | 44,149 | 0,03 |
| Centro | Acetona | 70 % | 18,548 | 18,073 | 0,043 |
| | | | 45,041 | 44,163 | 0,07 |
| | | | 42,429 | 42,025 | 0,044 |
| Cáscara | Acetona | 70 % | 74,302 | 73,631 | 0,052 |
| | | | 37,219 | 37,002 | 0,052 |
| | | | 41,104 | 40,58 | 0,038 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXIV. Rendimientos obtenidos de la extracción con acetona

| Extracción | Solvente | Porcentaje | Rendimiento (%) | Promedio (%) | Rendimiento mg/mL | Promedio de rendimiento mg/mL |
|------------|----------|------------|-----------------|--------------|-------------------|-------------------------------|
| Centro | Acetona | 50 % | 0,047 | 0,038 | 0,48 | 0,39 |
| | | | 0,033 | | 0,34 | |
| | | | 0,033 | | 0,34 | |
| Cáscara | Acetona | 50 % | 0,027 | 0,032 | 0,28 | 0,33 |
| | | | 185,436 | | 0,27 | |
| | | | 0,044 | | 0,46 | |
| Centro | Acetona | 70 % | 0,0234 | 0,029 | 0,24 | 0,29 |
| | | | 0,0382 | | 0,39 | |
| | | | 0,024 | | 0,24 | |
| Cáscara | Acetona | 70 % | 0,028 | 0,026 | 0,29 | 0,26 |
| | | | 0,028 | | 0,29 | |
| | | | 0,0204 | | 0,21 | |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXV. Pesos obtenidos de la extracción con solvente etanol

| Extracción | Solvente | Porcentaje | Tara vidrio reloj | Peso vidrio reloj+ precipitado + agua | Peso vidrio reloj + precipitado | Recuperado vidrio reloj (g) |
|------------|----------|------------|-------------------|---------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| Centro | Etanol | 50 % | 38,223 | 0 | 38,309 | 0,086 |
| | | | 35,12 | 36,118 | 35,181 | 0,061 |
| Cáscara | Etanol | 50 % | 44,09 | 44,953 | 44,14 | 0,05 |
| | | | 37,702 | 39,315 | 37,784 | 0,082 |
| Centro | Etanol | 70 % | 95,027 | 95,778 | 95,081 | 0,054 |
| | | | 73,576 | 73,625 | 73,608 | 0,032 |
| Cáscara | Etanol | 70 % | 33,109 | 33,364 | 33,132 | 0,023 |
| | | | 36,931 | 37,124 | 36,951 | 0,02 |
| | | | 40,54 | 40,559 | 40,59 | 0,05 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXVI. **Rendimientos obtenidos de la extracción de la enzima con solvente acetona a las 2 concentraciones**

| Extracción | Solvente | Porcentaje | Rendimiento (%) | Promedios (%) | rendimiento mg/mL | promedio de rendimiento mg/mL |
|------------|----------|------------|-----------------|---------------|-------------------|-------------------------------|
| Centro | Etanol | 50 % | 0,026 | 0,035 | 0,27 | 0,35 |
| | | | 0,048 | | 0,49 | |
| | | | 0,028 | | 0,29 | |
| Cáscara | Etanol | 50 % | 0,032 | 0,024 | 0,33 | 0,25 |
| | | | 0 | | 0,00 | |
| | | | 0,016 | | 0,17 | |
| Centro | Etanol | 70 % | 0,030 | 0,022 | 0,3 | 0,22 |
| | | | 0,019 | | 0,19 | |
| | | | 0,017 | | 0,18 | |
| Cáscara | Etanol | 70 % | 0,012 | 0,017 | 0,13 | 0,17 |
| | | | 0,011 | | 0,11 | |
| | | | 0,027 | | 0,28 | |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXVII. **Cálculos para determinar mínimos cuadrados**

| | X_i | Y_i | $x_i y_i$ | x_i^2 | $d_i = y_i - mX_i - b$ | d_i^2 |
|------|-------|-------|-----------|---------|------------------------|----------|
| | 0,1 | 0,03 | 0,0033 | 0,01 | -3.67E-03 | 1,35E-05 |
| | 0,2 | 0,067 | 0,0133 | 0,04 | 9,33E-04 | 8,70E-07 |
| | 0,3 | 0,100 | 0,03 | 0,09 | 9,33E-04 | 8,70E-07 |
| | 0,4 | 0,133 | 0,053 | 0,16 | 9,33E-04 | 8,70E-07 |
| | 0,5 | 0,167 | 0,083 | 0,25 | 1,93E-03 | 3,74E-06 |
| | 0,6 | 0,2 | 0,12 | 0,36 | 1,93E-03 | 3,72E-06 |
| | 0,7 | 0,233 | 0,163 | 0,49 | 1,93E-03 | 3,72E-06 |
| | 0,8 | 0,267 | 0,213 | 0,64 | 2,93E-03 | 8,58E-06 |
| | 0,9 | 0,3 | 0,27 | 0,81 | 2,93E-03 | 8,58E-06 |
| | 1 | 0,33 | 0,33 | 1 | -6,67E-05 | 4,44E-09 |
| Suma | 5,5 | 1,83 | 1,283 | 3,85 | 1,07E-02 | 4,44E-05 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXVIII. **Absorbancias utilizadas para la curva de calibración**

| mg/mL | Absorbancia | Absorbancia | Absorbancia | PROMEDIO |
|-------|-------------|-------------|-------------|----------|
| 0,1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,2 | 0,048 | 0,048 | 0,046 | 0,047 |
| 0,3 | 0,103 | 0,1 | 0,104 | 0,102 |
| 0,4 | 0,139 | 0,136 | 0,14 | 0,138 |
| 0,5 | 0,19 | 0,15 | 0,21 | 0,183 |
| 0,6 | 0,226 | 0,228 | 0,23 | 0,228 |
| 0,7 | 0,268 | 0,265 | 0,269 | 0,267 |
| 0,8 | 0,306 | 0,303 | 0,308 | 0,305667 |
| 0,9 | 0,349 | 0,353 | 0,351 | 0,351 |
| 1 | 0,387 | 0,389 | 0,391 | 0,389 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXIX. **Absorbancias obtenidas para la determinación de la concentración de enzima**

| | Absorbancia | Absorbancia | Absorbancia | promedio | contenido |
|---------|-------------|-------------|-------------|----------|-----------|
| Centro | 0,1 | 0,12 | 0,11 | 0,11 | 0,335 |
| Cascara | 0,12 | 0,13 | 0,13 | 0,13 | 0,382 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXX. **Absorbancias obtenidas para la actividad enzimática**

| | Absorbancia 1 | Absorbancia 2 | Absorbancia 3 | Promedio |
|---------------------------------|---------------|---------------|---------------|----------|
| Eje de inflorescencia | 0,553 | 0,529 | 0,544 | 0,542 |
| Exocarpo | 0,497 | 0,483 | 0,486 | 0,489 |
| Tirosina | 0,365 | 0,362 | 0,364 | 0,364 |
| Blanco (Eje de inflorescencia) | 0,116 | 0,119 | 0,122 | 0,119 |
| Blanco Exocarpo | 0,108 | 0,111 | 0,114 | 0,111 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXXI. **Numeración utilizada para el manejo de las categorías de las encuestas realizadas para la prueba organoléptica**

| | | | | |
|--------------|---------------------------|---------------------|-----------|-----------------|
| No me agrada | No me agrada ni desagrada | Me agrada levemente | Me agrada | Me agrada mucho |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXXII. **Códigos utilizados para las muestras encuestadas en las pruebas organolépticas**

| Muestra | Códigos |
|---------------|---------|
| Francés 0,5 % | F1 |
| Francés 1 % | F2 |
| Francés 1,5 % | F3 |
| | |
| Manteca 0,5 % | M1 |
| Manteca 1 % | M2 |
| Manteca 1,5 % | M3 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXXIII. **Tabulación de la prueba organoléptica del pan francés al 0,5 % de concentración de enzima**

| Núm. | CÓDIGO | DATOS DE LA POBLACIÓN | | VALORACIÓN DEL PAN | | | |
|------|--------|-----------------------|------------|--------------------|------|-------|---------|
| | | EDAD | GENERO M/F | COLOR | OLOR | SABOR | TEXTURA |
| 1 | F1 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 4 | 4 |
| 2 | F1 | 35 - 45 | F | 2 | 5 | 4 | 5 |
| 3 | F1 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 4 | 5 |
| 4 | F1 | 35 - 45 | F | 3 | 5 | 4 | 5 |
| 5 | F1 | 25 - 35 | F | 5 | 4 | 5 | 5 |
| 6 | F1 | 25 - 35 | F | 3 | 4 | 5 | 4 |
| 7 | F1 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 5 | 4 |
| 8 | F1 | 35 - 45 | F | 2 | 4 | 5 | 4 |
| 9 | F1 | 55 - 65 | F | 4 | 4 | 5 | 5 |
| 10 | F1 | 25 - 35 | F | 4 | 4 | 5 | 5 |
| 11 | F1 | 25 - 35 | F | 4 | 4 | 5 | 5 |
| 12 | F1 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 5 | 5 |
| 13 | F1 | 35 - 45 | M | 3 | 5 | 5 | 5 |
| 14 | F1 | 35 - 45 | F | 4 | 3 | 5 | 5 |
| 15 | F1 | 55 - 65 | F | 2 | 4 | 4 | 5 |
| 16 | F1 | 35 - 45 | F | 3 | 5 | 4 | 5 |
| 17 | F1 | 25 - 35 | F | 5 | 4 | 4 | 5 |
| 18 | F1 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 5 | 4 |
| 19 | F1 | 55 - 65 | M | 3 | 4 | 4 | 5 |
| 20 | F1 | 45-55 | M | 4 | 5 | 4 | 5 |
| 21 | F1 | 35 - 45 | M | 2 | 4 | 4 | 4 |
| 22 | F1 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 4 | 5 |
| 23 | F1 | 25 - 35 | F | 4 | 5 | 5 | 4 |
| 24 | F1 | 25 - 35 | F | 5 | 4 | 5 | 5 |
| 25 | F1 | 45-55 | F | 3 | 4 | 4 | 5 |
| 26 | F1 | 35 - 45 | F | 3 | 5 | 4 | 5 |
| 27 | F1 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 4 | 4 |
| 28 | F1 | 35 - 45 | F | 5 | 4 | 5 | 4 |
| 29 | F1 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 30 | F1 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 4 | 5 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXXIV. **Tabulación de la prueba organoléptica del pan francés al 1 % de concentración de enzima**

| Núm. | CÓDIGO | DATOS DE LA POBLACIÓN | | VALORACIÓN DEL PAN | | | |
|------|--------|-----------------------|------------|--------------------|------|-------|---------|
| | | EDAD | GENERO M/F | COLOR | OLOR | SABOR | TEXTURA |
| 1 | F2 | 35 - 45 | F | 3 | 5 | 3 | 4 |
| 2 | F2 | 35 - 45 | F | 5 | 4 | 3 | 3 |
| 3 | F2 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 3 | 4 |
| 4 | F2 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 5 | F2 | 25 - 35 | F | 4 | 5 | 4 | 4 |
| 6 | F2 | 25 - 35 | F | 4 | 5 | 4 | 4 |
| 7 | F2 | 35 - 45 | F | 3 | 5 | 4 | 5 |
| 8 | F2 | 35 - 45 | F | 3 | 3 | 4 | 5 |
| 9 | F2 | 55 - 65 | F | 3 | 4 | 5 | 5 |
| 10 | F2 | 25 - 35 | F | 5 | 4 | 5 | 3 |
| 11 | F2 | 25 - 35 | F | 5 | 4 | 5 | 3 |
| 12 | F2 | 35 - 45 | F | 5 | 4 | 5 | 3 |
| 13 | F2 | 35 - 45 | M | 5 | 4 | 5 | 3 |
| 14 | F2 | 35 - 45 | F | 5 | 5 | 4 | 5 |
| 15 | F2 | 55 - 65 | F | 3 | 5 | 3 | 5 |
| 16 | F2 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 4 | 5 |
| 17 | F2 | 25 - 35 | F | 4 | 5 | 3 | 5 |
| 18 | F2 | 35 - 45 | F | 4 | 3 | 5 | 4 |
| 19 | F2 | 55 - 65 | M | 3 | 3 | 4 | 4 |
| 20 | F2 | 45-55 | M | 3 | 3 | 4 | 4 |
| 21 | F2 | 35 - 45 | M | 4 | 3 | 4 | 4 |
| 22 | F2 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 4 | 5 |
| 23 | F2 | 25 - 35 | F | 5 | 4 | 4 | 5 |
| 24 | F2 | 25 - 35 | F | 5 | 4 | 4 | 5 |
| 25 | F2 | 45-55 | F | 5 | 4 | 4 | 3 |
| 26 | F2 | 35 - 45 | F | 5 | 4 | 5 | 3 |
| 27 | F2 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 5 | 5 |
| 28 | F2 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 5 | 4 |
| 29 | F2 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 4 | 4 |
| 30 | F2 | 35 - 45 | F | 5 | 3 | 3 | 4 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXXV. **Tabulación de la prueba organoléptica del pan francés al 1,5 % de concentración de enzima**

| Núm. | CÓDIGO | DATOS DE LA POBLACIÓN | | VALORACIÓN DEL PAN | | | |
|------|--------|-----------------------|------------|--------------------|------|-------|---------|
| | | EDAD | GENERO M/F | COLOR | OLOR | SABOR | TEXTURA |
| 1 | F3 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 5 | 4 |
| 2 | F3 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 5 | 3 |
| 3 | F3 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 5 | 4 |
| 4 | F3 | 35 - 45 | F | 4 | 3 | 5 | 3 |
| 5 | F3 | 25 - 35 | F | 4 | 4 | 4 | 5 |
| 6 | F3 | 25 - 35 | F | 3 | 5 | 4 | 4 |
| 7 | F3 | 35 - 45 | F | 5 | 3 | 4 | 3 |
| 8 | F3 | 35 - 45 | F | 5 | 4 | 4 | 5 |
| 9 | F3 | 55 - 65 | F | 5 | 3 | 3 | 4 |
| 10 | F3 | 25 - 35 | F | 4 | 3 | 3 | 3 |
| 11 | F3 | 25 - 35 | F | 3 | 4 | 3 | 3 |
| 12 | F3 | 35 - 45 | F | 3 | 3 | 3 | 4 |
| 13 | F3 | 35 - 45 | M | 3 | 3 | 5 | 5 |
| 14 | F3 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 4 | 5 |
| 15 | F3 | 55 - 65 | F | 5 | 4 | 3 | 4 |
| 16 | F3 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 5 | 3 |
| 17 | F3 | 25 - 35 | F | 5 | 5 | 4 | 4 |
| 18 | F3 | 35 - 45 | F | 3 | 5 | 3 | 5 |
| 19 | F3 | 55 - 65 | M | 5 | 5 | 5 | 4 |
| 20 | F3 | 45-55 | M | 4 | 4 | 4 | 3 |
| 21 | F3 | 35 - 45 | M | 4 | 4 | 3 | 4 |
| 22 | F3 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 4 | 4 |
| 23 | F3 | 25 - 35 | F | 4 | 4 | 5 | 5 |
| 24 | F3 | 25 - 35 | F | 5 | 3 | 4 | 5 |
| 25 | F3 | 45-55 | F | 4 | 3 | 3 | 5 |
| 26 | F3 | 35 - 45 | F | 4 | 3 | 3 | 4 |
| 27 | F3 | 35 - 45 | F | 3 | 3 | 5 | 3 |
| 28 | F3 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 29 | F3 | 35 - 45 | F | 5 | 5 | 4 | 5 |
| 30 | F3 | 35 - 45 | F | 3 | 5 | 3 | 5 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXXVI. **Tabulación de la prueba organoléptica del pan de manteca al 0,5 % de concentración de enzima**

| Núm. | CÓDIGO | DATOS DE LA POBLACIÓN | | VALORACIÓN DEL PAN | | | |
|------|--------|-----------------------|------------|--------------------|------|-------|---------|
| | | EDAD | GENERO M/F | COLOR | OLOR | SABOR | TEXTURA |
| 1 | M1 | 35 - 45 | F | 3 | 5 | 4 | 3 |
| 2 | M1 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 4 | 4 |
| 3 | M1 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 5 | 4 |
| 4 | M1 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 5 | 4 |
| 5 | M1 | 25 - 35 | F | 4 | 4 | 5 | 5 |
| 6 | M1 | 25 - 35 | F | 4 | 4 | 4 | 5 |
| 7 | M1 | 35 - 45 | F | 4 | 3 | 4 | 5 |
| 8 | M1 | 35 - 45 | F | 5 | 3 | 4 | 3 |
| 9 | M1 | 55 - 65 | F | 5 | 3 | 4 | 3 |
| 10 | M1 | 25 - 35 | F | 4 | 4 | 3 | 3 |
| 11 | M1 | 25 - 35 | F | 3 | 5 | 3 | 4 |
| 12 | M1 | 35 - 45 | F | 3 | 5 | 3 | 4 |
| 13 | M1 | 35 - 45 | M | 3 | 4 | 4 | 5 |
| 14 | M1 | 35 - 45 | F | 3 | 3 | 4 | 5 |
| 15 | M1 | 55 - 65 | F | 4 | 3 | 3 | 3 |
| 16 | M1 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 5 | 3 |
| 17 | M1 | 25 - 35 | F | 5 | 5 | 4 | 4 |
| 18 | M1 | 35 - 45 | F | 5 | 5 | 3 | 5 |
| 19 | M1 | 55 - 65 | M | 5 | 5 | 4 | 5 |
| 20 | M1 | 45-55 | M | 5 | 4 | 5 | 5 |
| 21 | M1 | 35 - 45 | M | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 22 | M1 | 35 - 45 | F | 4 | 3 | 5 | 3 |
| 23 | M1 | 25 - 35 | F | 4 | 3 | 4 | 3 |
| 24 | M1 | 25 - 35 | F | 3 | 5 | 4 | 4 |
| 25 | M1 | 45-55 | F | 3 | 5 | 5 | 5 |
| 26 | M1 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 4 | 5 |
| 27 | M1 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 28 | M1 | 35 - 45 | F | 5 | 3 | 5 | 4 |
| 29 | M1 | 35 - 45 | F | 5 | 3 | 4 | 3 |
| 30 | M1 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 3 | 3 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXXVII. **Tabulación de la prueba organoléptica del pan de manteca al 1 % de concentración de enzima**

| Núm. | CÓDIGO | DATOS DE LA POBLACIÓN | | VALORACIÓN DEL PAN | | | |
|------|--------|-----------------------|------------|--------------------|------|-------|---------|
| | | EDAD | GENERO M/F | COLOR | OLOR | SABOR | TEXTURA |
| 1 | M2 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 5 | 5 |
| 2 | M2 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 5 | 3 |
| 3 | M2 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 4 | 5 |
| 4 | M2 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 4 | 5 |
| 5 | M2 | 25 - 35 | F | 5 | 4 | 4 | 4 |
| 6 | M2 | 25 - 35 | F | 3 | 3 | 3 | 4 |
| 7 | M2 | 35 - 45 | F | 4 | 3 | 3 | 4 |
| 8 | M2 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 3 | 4 |
| 9 | M2 | 55 - 65 | F | 3 | 5 | 3 | 3 |
| 10 | M2 | 25 - 35 | F | 3 | 3 | 5 | 3 |
| 11 | M2 | 25 - 35 | F | 4 | 4 | 5 | 3 |
| 12 | M2 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 4 | 5 |
| 13 | M2 | 35 - 45 | M | 5 | 4 | 3 | 5 |
| 14 | M2 | 35 - 45 | F | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 15 | M2 | 55 - 65 | F | 4 | 5 | 3 | 4 |
| 16 | M2 | 35 - 45 | F | 4 | 3 | 5 | 4 |
| 17 | M2 | 25 - 35 | F | 5 | 4 | 4 | 3 |
| 18 | M2 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 4 | 3 |
| 19 | M2 | 55 - 65 | M | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 20 | M2 | 45-55 | M | 3 | 5 | 5 | 5 |
| 21 | M2 | 35 - 45 | M | 4 | 5 | 5 | 5 |
| 22 | M2 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 3 | 3 |
| 23 | M2 | 25 - 35 | F | 3 | 4 | 3 | 3 |
| 24 | M2 | 25 - 35 | F | 3 | 4 | 5 | 4 |
| 25 | M2 | 45-55 | F | 3 | 3 | 4 | 4 |
| 26 | M2 | 35 - 45 | F | 5 | 3 | 4 | 4 |
| 27 | M2 | 35 - 45 | F | 5 | 3 | 4 | 4 |
| 28 | M2 | 35 - 45 | F | 3 | 5 | 5 | 3 |
| 29 | M2 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 5 | 3 |
| 30 | M2 | 35 - 45 | F | 4 | 3 | 5 | 3 |

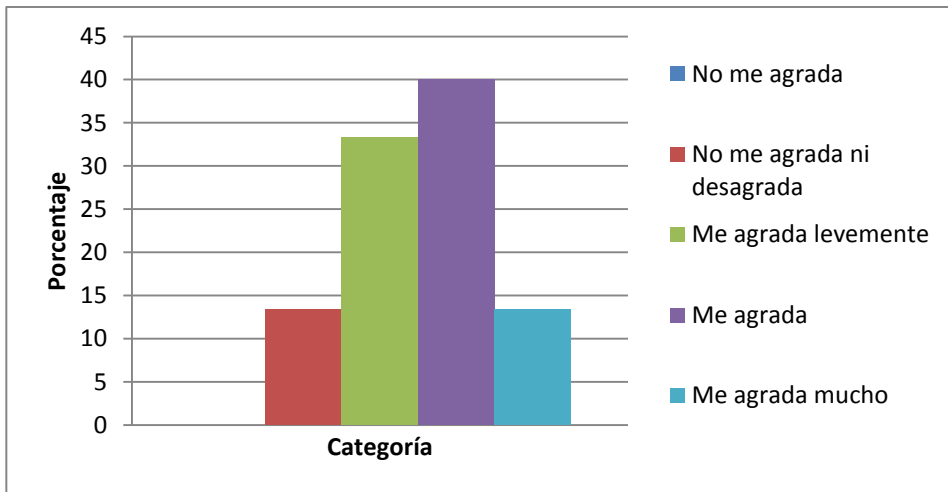
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXXVIII. **Tabulación de la prueba organoléptica del pan de manteca al 1,5 % de concentración de enzima**

| Núm. | CÓDIGO | DATOS DE LA POBLACIÓN | | VALORACIÓN DEL PAN | | | |
|------|--------|-----------------------|------------|--------------------|------|-------|---------|
| | | EDAD | GENERO M/F | COLOR | OLOR | SABOR | TEXTURA |
| 1 | M3 | 35 - 45 | F | 4 | 5 | 4 | 5 |
| 2 | M3 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 4 | 4 |
| 3 | M3 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 3 | 4 |
| 4 | M3 | 35 - 45 | F | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 5 | M3 | 25 - 35 | F | 4 | 3 | 3 | 3 |
| 6 | M3 | 25 - 35 | F | 5 | 4 | 4 | 4 |
| 7 | M3 | 35 - 45 | F | 5 | 4 | 5 | 5 |
| 8 | M3 | 35 - 45 | F | 4 | 3 | 5 | 4 |
| 9 | M3 | 55 - 65 | F | 4 | 5 | 5 | 5 |
| 10 | M3 | 25 - 35 | F | 3 | 4 | 5 | 4 |
| 11 | M3 | 25 - 35 | F | 3 | 3 | 4 | 4 |
| 12 | M3 | 35 - 45 | F | 3 | 3 | 4 | 3 |
| 13 | M3 | 35 - 45 | M | 5 | 5 | 5 | 3 |
| 14 | M3 | 35 - 45 | F | 5 | 5 | 3 | 5 |
| 15 | M3 | 55 - 65 | F | 5 | 5 | 4 | 5 |
| 16 | M3 | 35 - 45 | F | 5 | 4 | 5 | 5 |
| 17 | M3 | 25 - 35 | F | 4 | 4 | 4 | 5 |
| 18 | M3 | 35 - 45 | F | 4 | 3 | 4 | 3 |
| 19 | M3 | 55 - 65 | M | 3 | 3 | 3 | 4 |
| 20 | M3 | 45-55 | M | 3 | 3 | 3 | 4 |
| 21 | M3 | 35 - 45 | M | 5 | 3 | 4 | 3 |
| 22 | M3 | 35 - 45 | F | 5 | 5 | 4 | 3 |
| 23 | M3 | 25 - 35 | F | 5 | 5 | 5 | 3 |
| 24 | M3 | 25 - 35 | F | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 25 | M3 | 45-55 | F | 4 | 5 | 5 | 5 |
| 26 | M3 | 35 - 45 | F | 4 | 4 | 4 | 5 |
| 27 | M3 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 4 | 3 |
| 28 | M3 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 3 | 3 |
| 29 | M3 | 35 - 45 | F | 3 | 4 | 3 | 4 |
| 30 | M3 | 35 - 45 | F | 3 | 3 | 3 | 5 |

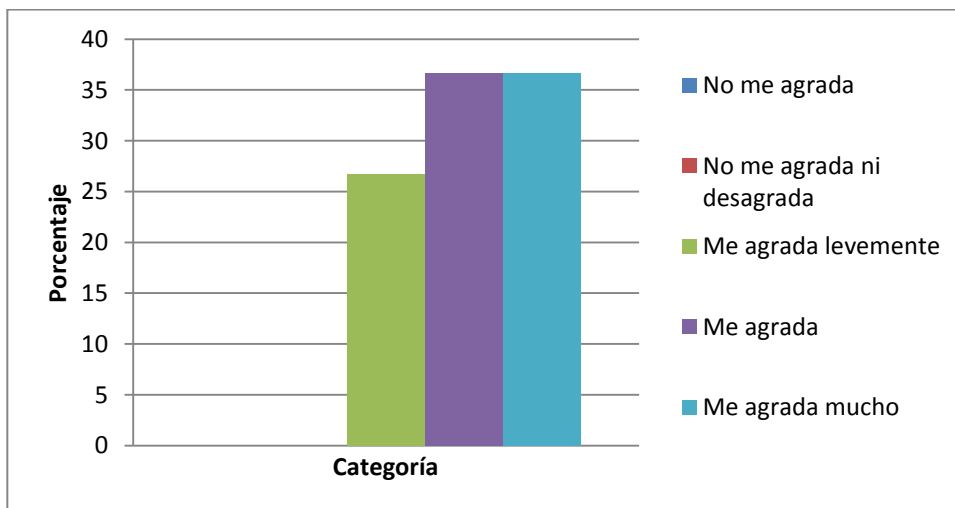
Fuente: elaboración propia.

Figura 16. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al color en la muestra de pan francés al 0,5 %**



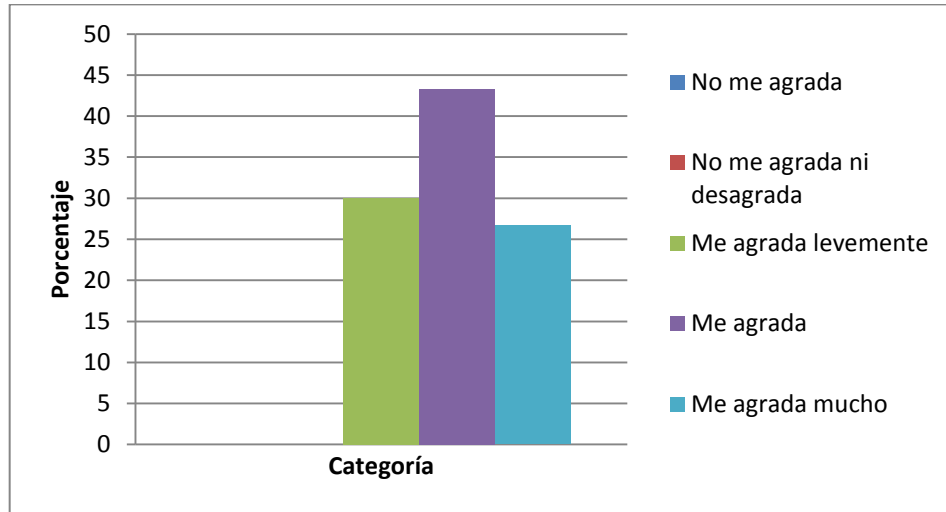
Fuente: elaboración propia.

Figura 17. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al color en la muestra de pan francés al 1 %**



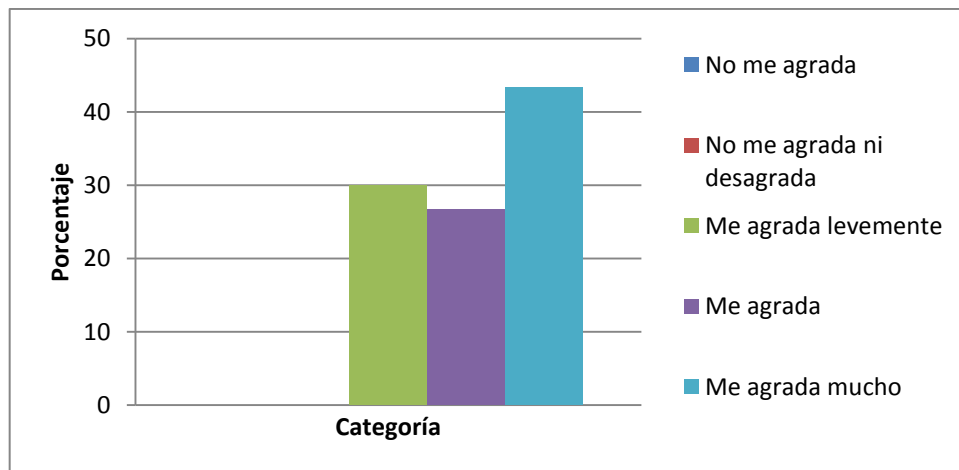
Fuente: elaboración propia.

Figura 18. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al color en la muestra de pan francés al 1,5 %**



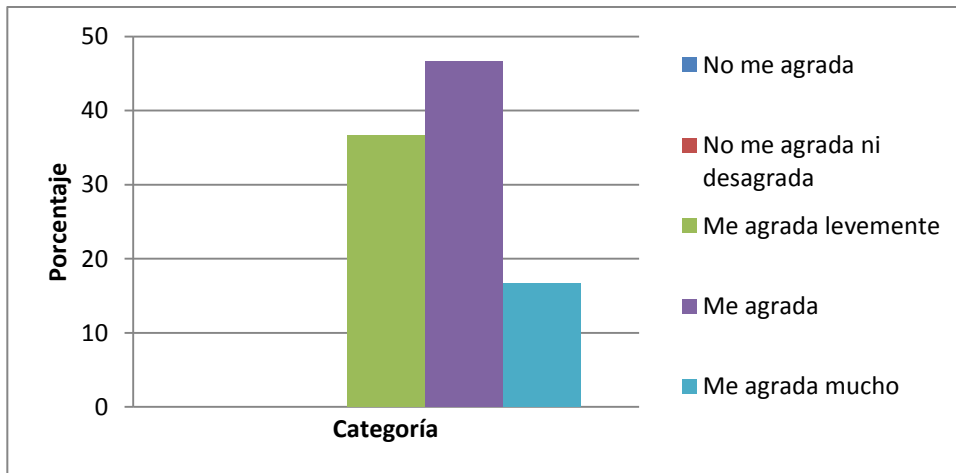
Fuente: elaboración propia.

Figura 19. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al color en la muestra de pan de manteca al 0,5 %**



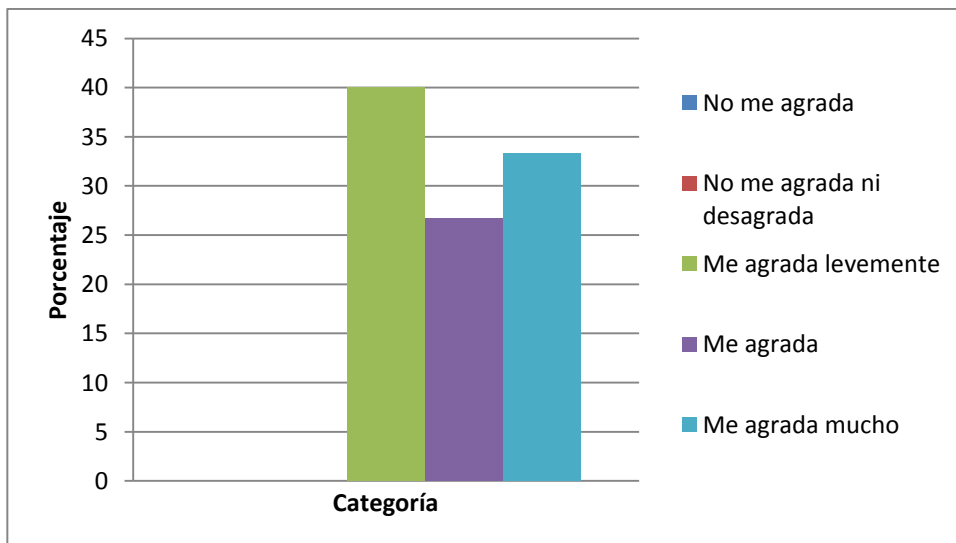
Fuente: elaboración propia.

Figura 20. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al color en la muestra de pan de manteca al 1 %**



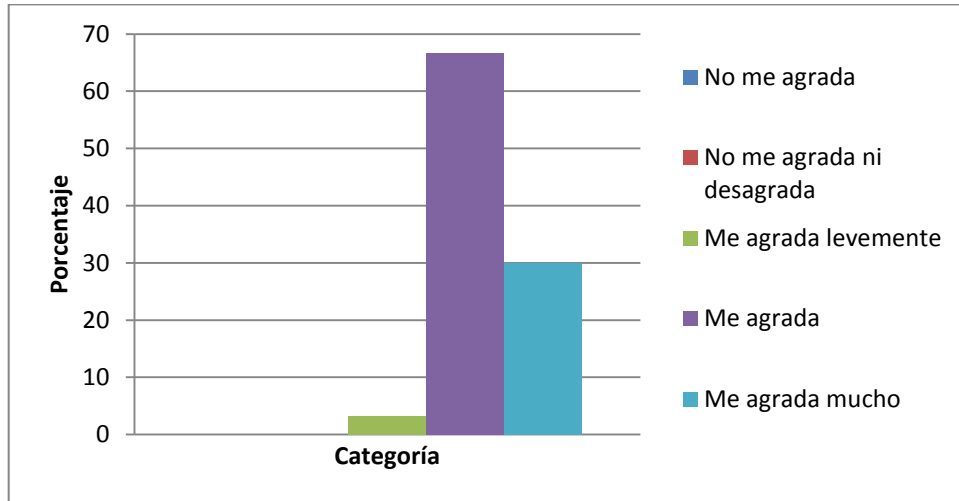
Fuente: elaboración propia.

Figura 21. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al color en la muestra de pan de manteca al 1,5 %**



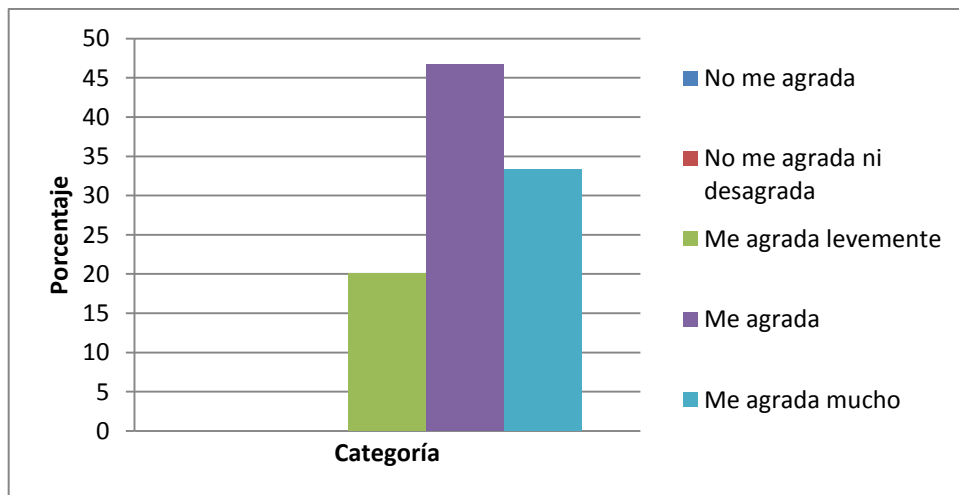
Fuente: elaboración propia.

Figura 22. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al olor en la muestra de pan de francés al 0,5 %**



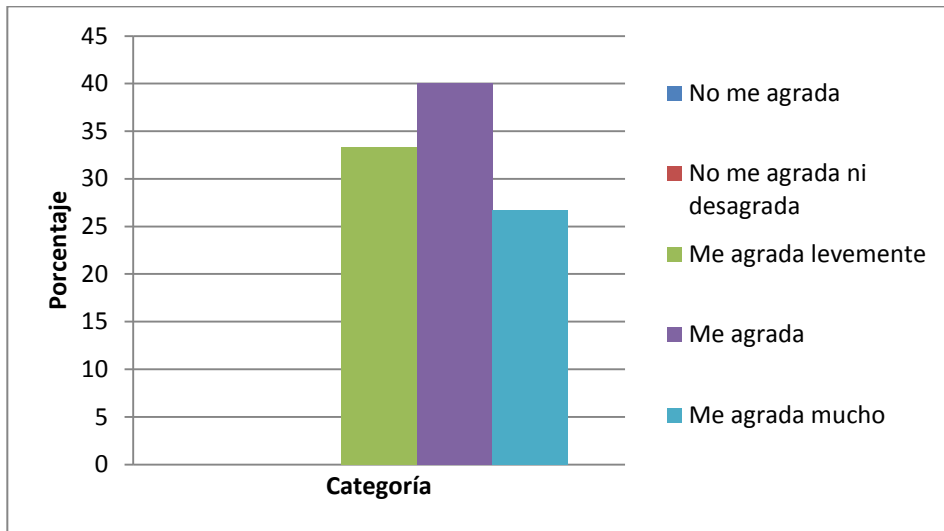
Fuente: elaboración propia.

Figura 23. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al olor en la muestra de pan de francés al 1 %**



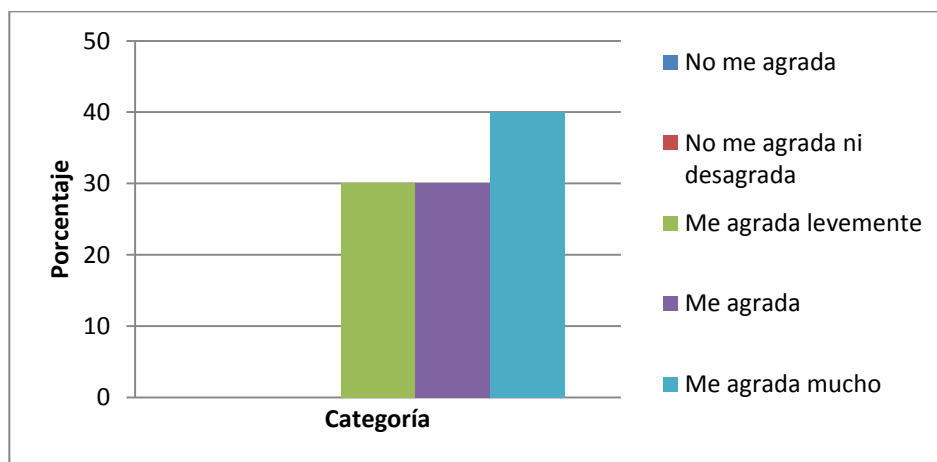
Fuente: elaboración propia.

Figura 24. Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al olor en la muestra de pan de francés al 1,5 %



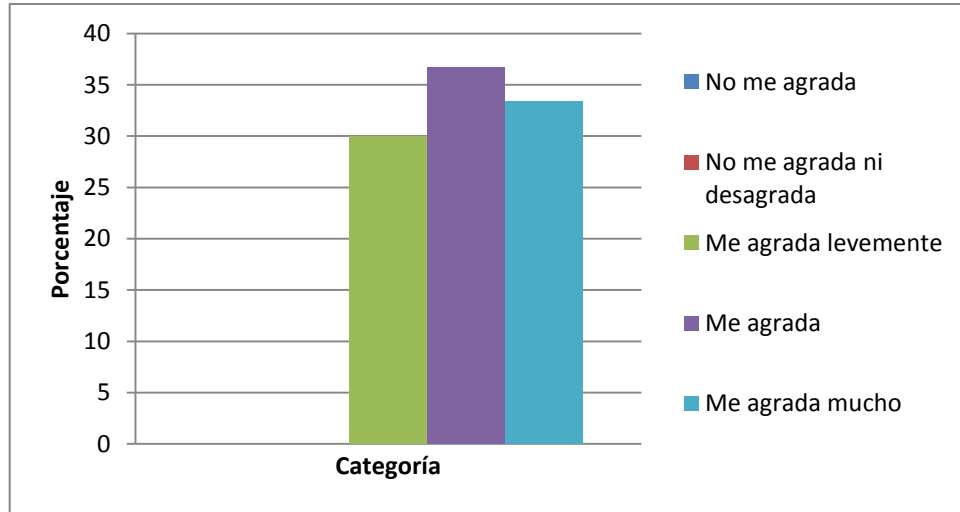
Fuente: elaboración propia.

Figura 25. Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al olor en la muestra de pan de manteca al 0,5 %



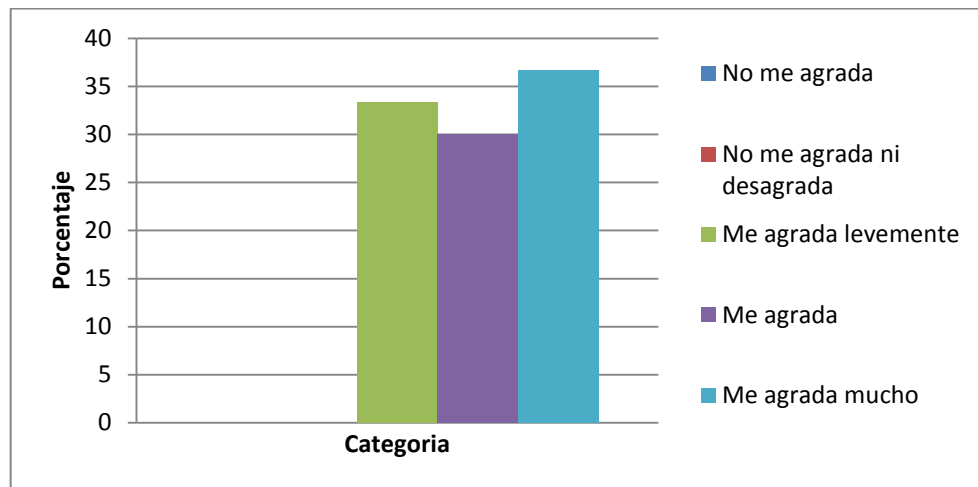
Fuente: elaboración propia.

Figura 26. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al olor en la muestra de pan de manteca al 1 %**



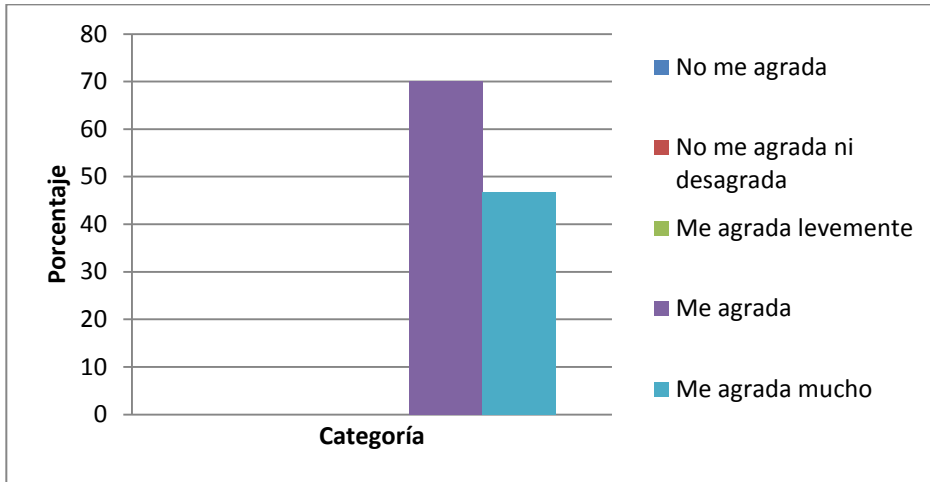
Fuente: elaboración propia.

Figura 27. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al olor en la muestra de pan de manteca al 1,5 %**



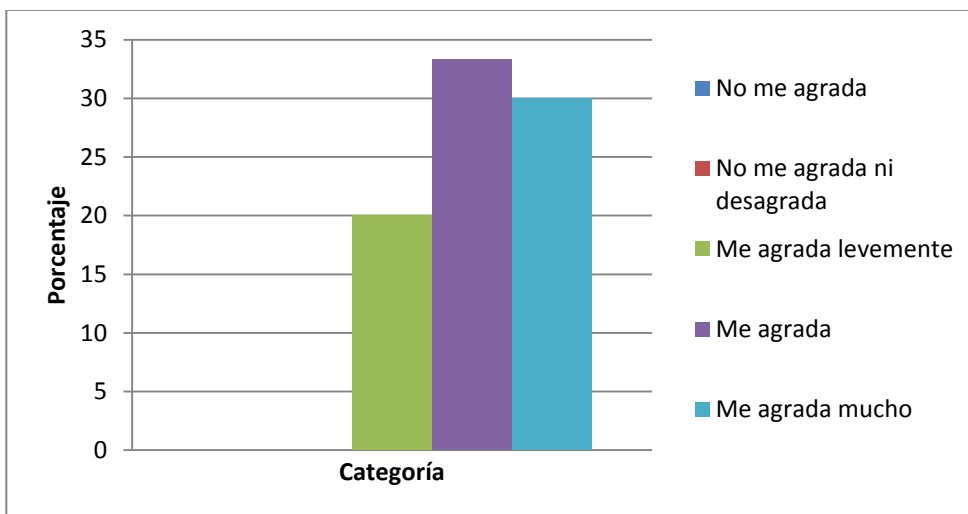
Fuente: elaboración propia.

Figura 28. Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al sabor en la muestra de pan de francés al 0,5 %



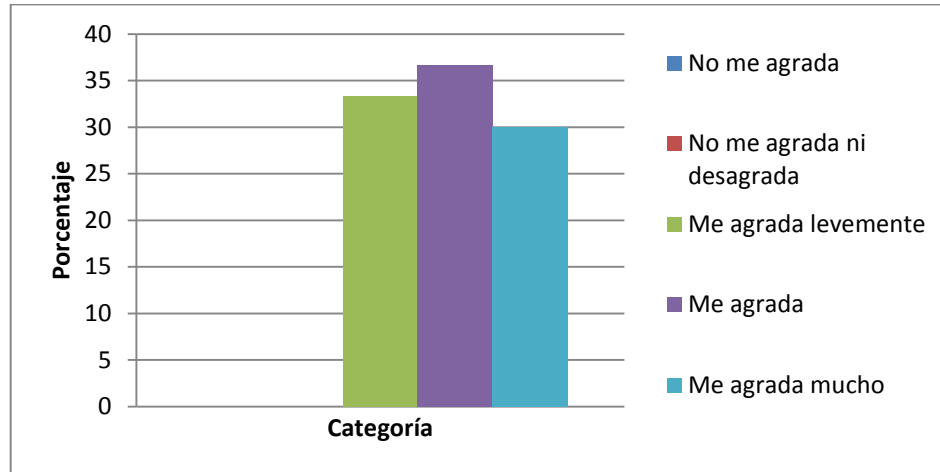
Fuente: elaboración propia.

Figura 29. Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al sabor en la muestra de pan de francés al 1 %



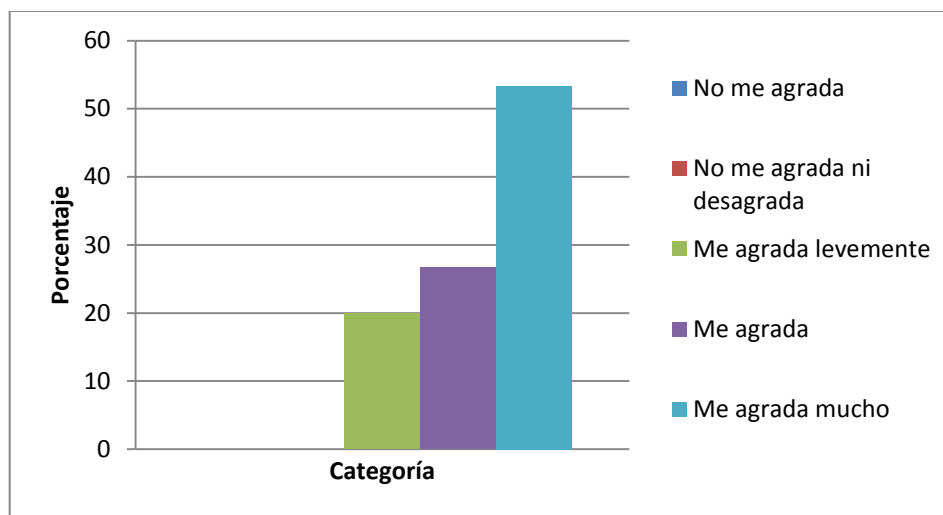
Fuente: elaboración propia.

Figura 30. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al sabor en la muestra de pan de francés al 1,5 %**



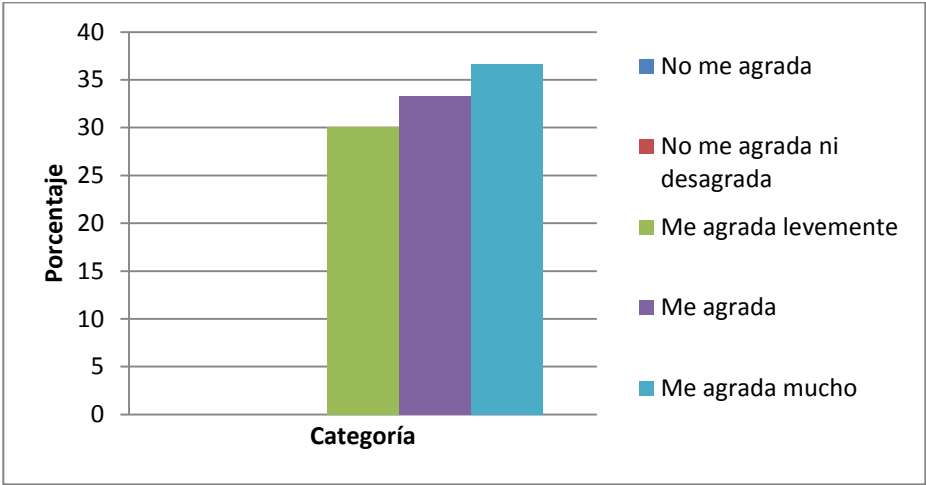
Fuente: elaboración propia.

Figura 31. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al sabor en la muestra de pan de manteca al 0,5 %**



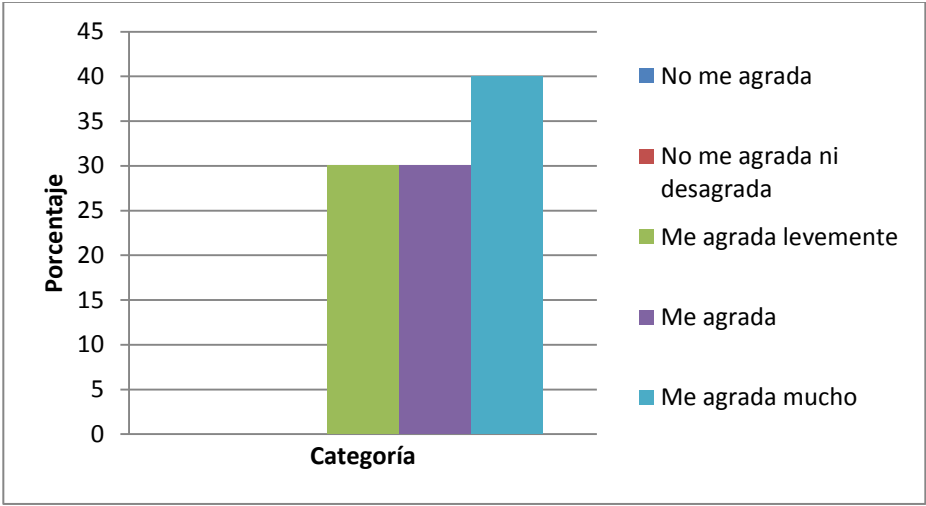
Fuente: elaboración propia.

Figura 32. Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al sabor en la muestra de pan de manteca al 1 %



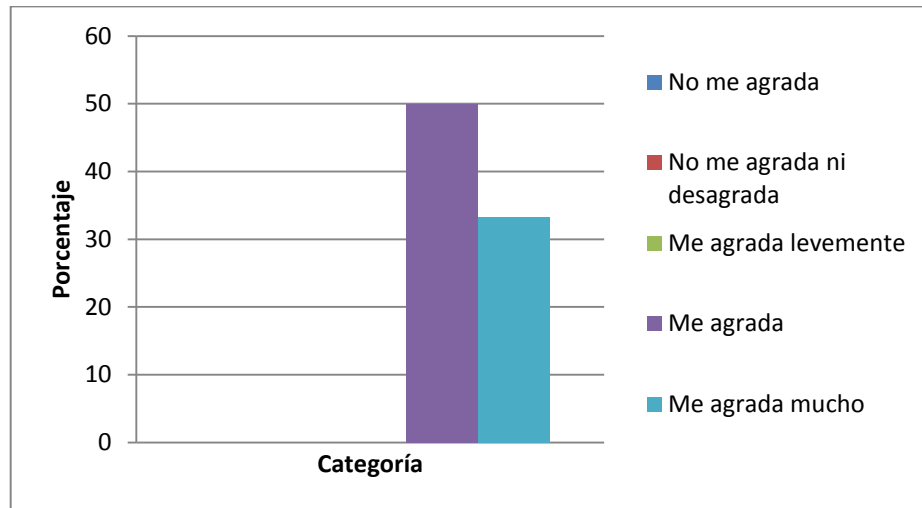
Fuente: elaboración propia.

Figura 33. Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto al sabor en la muestra de pan de francés al 1,5 %



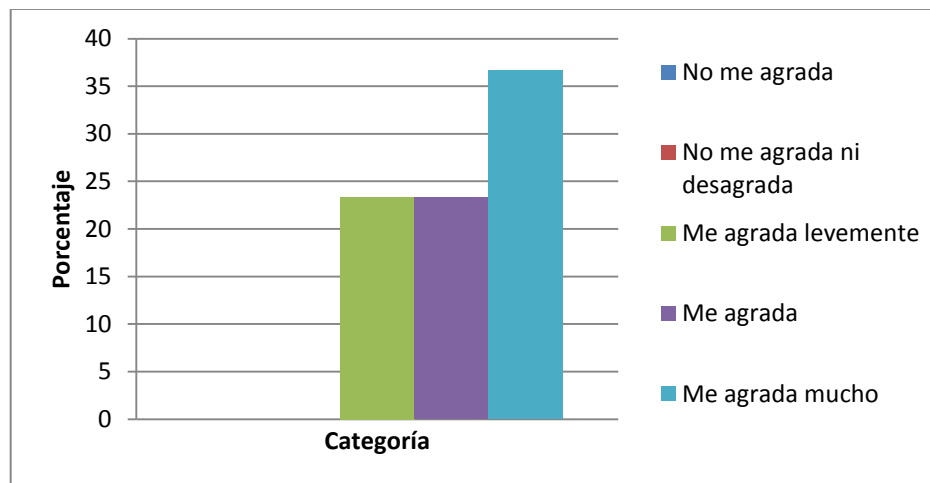
Fuente: elaboración propia.

Figura 34. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto a la textura en la muestra de pan de francés al 0,5 %**



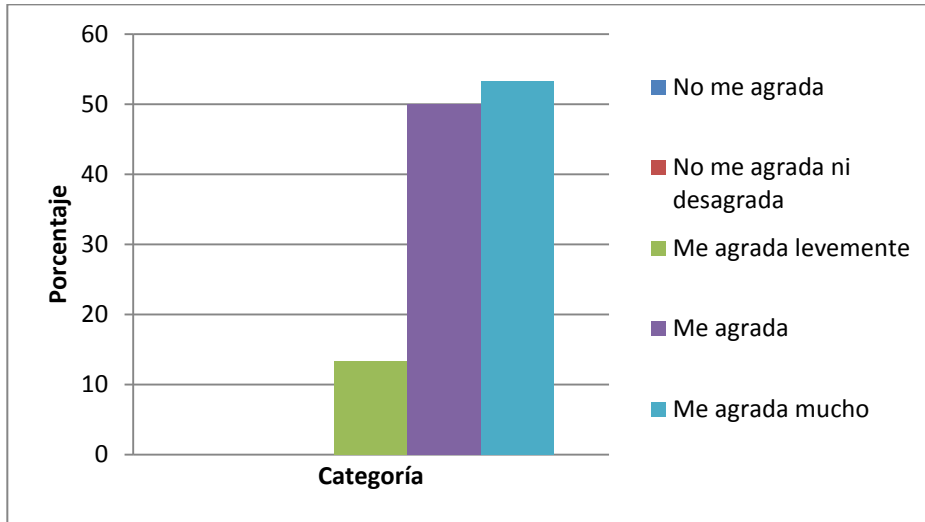
Fuente: elaboración propia.

Figura 35. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto a la textura en la muestra de pan de francés al 1 %**



Fuente: elaboración propia.

Figura 36. **Porcentajes obtenidos en la prueba organoléptica con respecto a la textura en la muestra de pan de francés al 1,5 %**



Fuente: elaboración propia.

3. Análisis estadístico

Se presentan todos los datos calculados para el análisis estadístico de cada uno de los procedimientos realizados.

Tabla XXXIX. **Análisis de varianza del rendimiento de extracción en el eje de inflorescencia**

| Fuentes de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Cuadrados medios | F _o |
|----------------------|--------------------|-------------------|------------------|----------------|
| Tratamientos | 2 | 0,0015 | 0,00073 | 3,059 |
| Error | 9 | 0,0022 | 0,00024 | |
| Total | 11 | 0,0036 | 0,00098 | |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XL. **Análisis de varianza del rendimiento de extracción en el exocarpo**

| Fuentes de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Cuadrados medios | F _o |
|----------------------|--------------------|-------------------|------------------|----------------|
| Tratamientos | 2 | 0,00051 | 0,00025 | 0,503 |
| Error | 9 | 0,0045 | 0,00051 | |
| Total | 11 | 0,0051 | 0,00076 | |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XLI. **Análisis de varianza de la actividad enzimática**

| Fuentes de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Cuadrados medios | F ₀ |
|----------------------|--------------------|-------------------|------------------|----------------|
| Tratamientos | 2 | 0,00042 | 0,00021 | 7,03 |
| Error | 3 | 0,00027 | 2,96E-05 | |
| Total | 5 | 0,00068 | 0,00024 | |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XLII. **Análisis de varianza de la actividad enzimática**

| Fuentes de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Cuadrados medios | F ₀ |
|----------------------|--------------------|-------------------|------------------|----------------|
| Tratamientos | 2 | 0,0043 | 0,0021 | 47,682 |
| Error | 3 | 0,00040 | 4,47E-05 | |
| Total | 5 | 0,0047 | 0,0022 | |

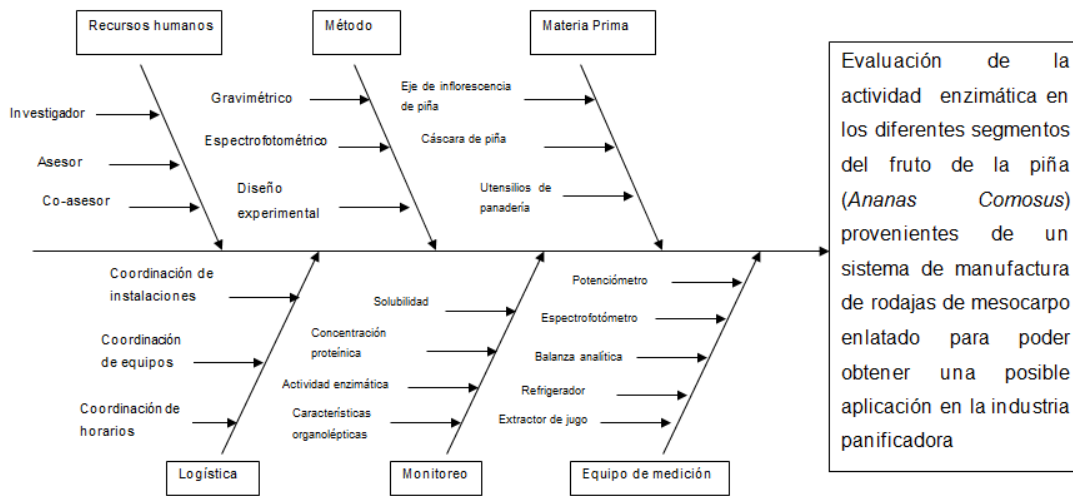
Fuente: elaboración propia.

4. Diagrama de requisitos académicos

| 1° Paso | 2° Paso | 3° Paso | 4° Paso | 5° Paso | 6 ° Paso | 7° Paso |
|------------------------------------|-----------------------|--|-------------------------------------|---------------------------------|---|--|
| Carrera | Área | Tema genérico | Tema específico | Especificación | Problema a resolver | Hipótesis |
| Licenciatura en Ingeniería Química | Química | Análisis instrumental | Espectrofotometría | absorbancia | Evaluar la actividad enzimática de la bromelina en el eje de inflorescencia y exocarpo del fruto de la piña (<i>ANANAS COMOSUS</i>) provenientes de un sistema de manufactura de rodajas de mesocarpio enlatado para posible aplicación en la industria panificadora. | Es posible extraer la enzima proteolítica existente en el eje de inflorescencia y en el exocarpo de la piña (<i>Ananas Comosus</i>) para lograr una ruptura en la estructura del gluten y así ser utilizada en la industria panificadora para mejorar la plasticidad de la masa. |
| | | Bioquímica | Enzimas | hidrólisis | | |
| | Operaciones unitarias | Transferencia de Calor (IQ-3) | Proceso de transferencia de calor | Convección forzada | | |
| | | Transferencia de Masa (IQ-4) | Principios de transferencia de masa | Difusividad | | |
| | | Transferencia de Masa en unidades continuas (IQ-5) | gas-sólido | Secado | | |
| | Especialización | Microbiología | Microbiología fundamental | Levaduras y Bacterias | | |
| | | Tecnología de los alimentos | Preservación de alimentos | Preservante | | |
| | | | Inocuidad de alimentos | Buenas prácticas de manufactura | | |
| | | Estadística 2 | Diseño experimental | Análisis de varianza | | |

Fuente: elaboración propia.

5. Diagrama de Ishikawa



Fuente: elaboración propia.