



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente

Carrera de Agroindustrias

Tema:

“ELABORACIÓN DE UN ADITIVO NATURAL MEDIANTE LA EXTRACCIÓN DE ENZIMAS DEL KIWI VERDE (*Actinidia deliciosa*) Y DE PIÑA HAWAIANA (*Ananas comosus*) POR EL MÉTODO DE PRECIPITACIÓN ALCOHÓLICA, PARA EL ABLANDAMIENTO DE CARNE DE RES”

Proyecto de investigación previo a la obtención de título de Ingeniero Agroindustrial, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente.

Autores:

Erika Patricia Callan Ochoa

Valeria Betzilen Carrera Guevara

Directora:

Ing. Alm. Sandra Patricia Iza Iza PhD

Guaranda - Ecuador

2022

TEMA:

“ELABORACIÓN DE UN ADITIVO NATURAL MEDIANTE LA EXTRACCIÓN DE ENZIMAS DEL KIWI VERDE (*Actinidia deliciosa*) Y DE PIÑA HAWAIANA (*Ananas comosus*) POR EL MÉTODO DE PRECIPITACIÓN ALCOHÓLICA, PARA EL ABLANDAMIENTO DE CARNE DE RES”

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL



Directora

Ing. Alm. Sandra Patricia Iza Iza PhD

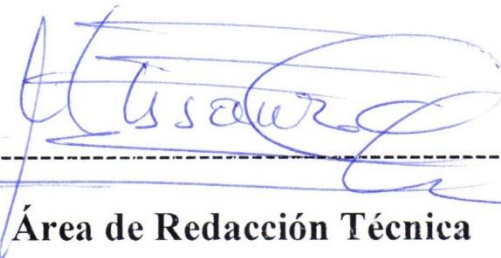
CI: 180226839-9



Área de Biometría

Ing. Deysi Margoth Guanga Chunata

CI: 060381683-6



Área de Redacción Técnica

Ing. Hugo Fabian Vásquez Coloma PhD

CI: 020085252-3

CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA

Nosotras, Erika Patricia Callan Ochoa con cédula de identidad No.025006860-8 y Valeria Betzilen Carrera Guevara con cédula de identidad No. 060589469-0, declaramos que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor (es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.



Erika Patricia Callan Ochoa

Autor

CI: 025006860-8



Valeria Betzilen Carrera Guevara

Autor

CI: 060589469-0



Directora

Ing. Alm. Sandra Patricia Iza Iza PhD

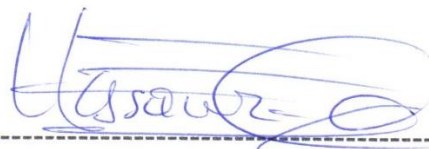
CI: 180226839-9



Área de Biometría

Ing. Deysi Margoth Guanga Chunata

CI: 060381683-6



Área de Redacción Técnica

Ing. Hugo Fabian Vásquez Coloma PhD

CI: 020085252-3





Factura: 001-002-000022566



20220203001D00532

DILIGENCIA DE RECONOCIMIENTO DE FIRMAS N° 20220203001D00532

Ante mí, NOTARIO(A) GUSTAVO ANTONIO CHAVEZ CHIMBO de la NOTARÍA PRIMERA , comparece(n) ERIKA PATRICIA CALLAN OCHOA portador(a) de CÉDULA 0250068608 de nacionalidad ECUATORIANA, mayor(es) de edad, estado civil SOLTERO(A), domiciliado(a) en GUARANDA, POR SUS PROPIOS DERECHOS en calidad de COMPARECIENTE; VALERIA BETZILEN CARRERA GUEVARA portador(a) de CÉDULA 0605894690 de nacionalidad ECUATORIANA, mayor(es) de edad, estado civil SOLTERO(A), domiciliado(a) en GUARANDA, POR SUS PROPIOS DERECHOS en calidad de COMPARECIENTE; quien(es) declara(n) que la(s) firma(s) constante(s) en el documento que antecede CERTIFICACION DE AUTORIA, es(son) suya(s), la(s) misma(s) que usa(n) en todos sus actos públicos y privados, siendo en consecuencia auténtica(s), para constancia firma(n) conmigo en unidad de acto, de todo lo cual doy fe. La presente diligencia se realiza en ejercicio de la atribución que me confiere el numeral noveno del artículo dieciocho de la Ley Notarial -. El presente reconocimiento no se refiere al contenido del documento que antecede, sobre cuyo texto esta Notaria, no asume responsabilidad alguna. – Se archiva un original. CHIMBO, a 9 DE DICIEMBRE DEL 2022, (10:31).

Callan Patricia

ERIKA PATRICIA CALLAN OCHOA
CÉDULA: 0250068608



Valeria Carrera

VALERIA BETZILEN CARRERA GUEVARA
CÉDULA: 0605894690



NOTARIO(A) GUSTAVO ANTONIO CHAVEZ CHIMBO
NOTARÍA PRIMERA DEL CANTÓN CHIMBO



DEDICATORIA

El resultado de este trabajo de investigación se lo dedico infinitamente a dios, por ser mi luz, guía en los momentos más difíciles y caminar siempre conmigo manteniéndome en pie, también se la dedico a mi ángel guardián que me cuida y me protege con su manto desde el cielo mi abuelita María, que hoy debe de estar orgullosa por este logro que he alcanzado.

Al tesoro más valioso que la vida me pudo dar que son mis padres María Ochoa y Vicente Callan, ellos son mi mayor fortaleza como debilidad, gracias por brindarme siempre ese amor tan puro e incondicional siendo mi refugio en los momentos de alegrías y tristezas, como no amarlos si han sido mis mentores en mi formación personal como académica, gracias por todo ese sacrificio y entrega que han hecho posible que una meta más en vida se cumpla. No me alcanzara la vida para contribuirles todo lo que han hecho por mi convirtiéndome en una mujer de principios y valores, mi mayor respeto y admiración hacia ustedes.

A mis cómplices de vida que son mis hermanos David, Byron, José Luis, Gaby, Bryan y Valentina, gracias por siempre brindarme su cariño y apoyo incondicional como económico, son mi ejemplo a seguir y también quiero ser para ustedes, los amo con mi vida y siempre estaré ahí para ustedes.

A mis abuelitos y mis sobrinos por todo el amor desinteresado que me brindan, son los seres más maravillosos con los que he compartido y espero poder disfrutarlos más.

A ustedes mis mejores amigos Lourdes, Julissa, Gaby, Roberto, Maga y Galo que se cruzaron en algún momento en mi vida y se convirtieron en mi segunda familia, gracias por todo el cariño, por el apoyo, por sus consejos, por hacer de esta vida más alegre y saber que siempre puedo contar con ustedes cuando más lo he necesitado.

A mi compañera de tesis Valeria que es una de mis mejores amigas, gracias por los consejos, por brindarme su amistad, por el tiempo, la paciencia y entrega, nos costó tanto llegar a donde estamos que todo el sacrificio que hemos hecho valió la pena.

Erika Callan

DEDICATORIA

Primeramente gracias a Dios por darme sabiduría y la fuerza para seguir avanzando en esta travesía, a mi madre, Gina Geoconda Guevara Coronel, a mis abuelos Víctor Arnulfo Guevara Garofalo y Mercedes Emérita Coronel Velasco son el pilar fundamental de mi vida, brindándome los valores más importantes como el amor, cariño, humildad, sabiduría y respeto, los consejos que han sido de gran ayuda en mi vida, gracias a ustedes que son mi fuerza para continuar con mis estudios enseñándome a no rendirme hasta lograr lo que me he propuesto, siendo mi soporte incondicional en mi vida.

A las personas que ya no están presentes físicamente pero siempre están en mi corazón Leticia, Yolita y Víctor gracias por darme su amor y cariño, las ganas de seguir adelante siendo mi fortaleza.

A mi familia que es lo más importante que tengo a Dorys, Diana, Silva y Henry gracias por demostrarme su apoyo moral y emocional que me impulsó a seguir adelante, a mis primas/o Lisbeth, Eva, Leandra y Luis por estar presentes siendo como hermanos, gracias por sus ocurrencias que me brindaron alegría en mi vida, gracias a ustedes que han contribuido en este logro de una u otra forma.

El apoyo que me has brindado ha sido importante en esta travesía Maga, llegaste cuando menos lo esperaba, gracias por estar en mi vida brindándome su cariño, amor y paciencia, te agradezco de corazón por todo lo que has sumado en mi vida.

Entre tantas personas coincidí con las mejores Erika y Galo que fueron de mucha ayuda estando lejos de casa, gracias por estar siempre a mi lado, compartiendo alegrías y tristezas, hemos seguido avanzando a pesar de cualquier dificultad, gracias por sus consejos que me han servido de mucha ayuda, nos hemos acompañado en esta travesía.

Valeria Carrera

AGRADECIMIENTO

Queremos agradecer a Dios por brindarnos salud, sabiduría y perseverancia para poder culminar una etapa más en nuestra vida universitaria, siendo nuestra fortaleza en los momentos más difíciles.

A nuestra prestigiosa Universidad Estatal de Bolívar a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente en especial a la Carrera de Agroindustrias, donde nos abrieron las puertas para iniciar nuestra etapa universitaria y nos permitió formarnos como profesionales.

Nuestro más profundo agradecimiento a la Ing. Patricia Iza PhD (Directora), por depositar su confianza en nosotras, por siempre estar a nuestra disposición brindándonos las herramientas necesarias y siendo nuestra guía en este último paso de nuestra carrera, así como también a la Ing. Deysi Guanga (Área de Biometría) e Ing. Hugo Vásquez (Área de Redacción Técnica), por habernos brindado sus conocimientos y el tiempo requerido para llegar a culminar este proyecto.

A cada uno de los docentes, que hicieron parte de nuestra formación académica, aportándonos sus conocimientos, brindándonos sus consejos para poder vencer los obstáculos que se nos travesen y nos encaminaron a lo largo de esta bonita etapa, gracias, por tanto.

Erika Callan y Valeria Carrera

ÍNDICE DE CONTENIDO

No.	Contenido	Pag
	ÍNDICE DE CONTENIDO.....	IX
	ÍNDICE DE TABLAS	XIII
	ÍNDICE DE FIGURAS	XV
	ÍNDICE DE ECUACIONES.....	XVI
	ÍNDICE DE ANEXOS.....	XVII
	RESUMEN.....	XVIII
	SUMARY.....	XIX
	CAPÍTULO I.....	1
1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	PROBLEMA	3
1.1.1.	Planteamiento del problema de investigación.....	3
1.1.2.	Formulación del problema	3
1.1.3.	Sistematización del problema.....	4
1.2.	HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN.....	5
	CAPÍTULO II	6
2.	MARCO TEÓRICO.....	6
2.1.	Aditivo alimentario.....	6
2.1.1.	Tipos de aditivos	6
2.2.	Enzimas	8
2.3.	Actividad enzimática	9
2.4.	Enzimas proteolíticas.....	10
2.4.1.	Actinidina	10
2.4.2.	Bromelina	11

2.5.	Kiwi verde	11
2.5.1.	Beneficios del kiwi verde.....	12
2.5.2.	Producción de kiwi verde a nivel mundial.....	13
2.6.	Piña hawaiana.....	14
2.6.1.	Beneficios de la piña hawaiana.....	15
2.6.2.	Producción de piña hawaiana a nivel nacional.....	16
2.7.	Precipitación alcohólica.....	16
2.8.	Ablandadores.....	17
2.8.1.	Tipos de ablandadores de carne	17
2.9.	Proteínas modificadas para la industria alimenticia	18
2.10.	Método de cuantificación proteica.....	18
2.10.1.	Absorbancia ultravioleta (UV) a 280 nm (rango: 0.1-100 ug ml).....	18
2.10.2.	Ácido bicinconínico (BCA) o ensayo basado en cobre.....	18
2.10.3.	Reactivo Biuret.....	19
2.10.4.	Método Bradford.....	19
2.10.5.	Método de Lowry	19
2.10.6.	Método Dumas	20
2.11.	Carne.....	20
2.11.1.	Calidad de la carne de res.....	20
CAPÍTULO III.....		22
3.	MARCO METODOLÓGICO.....	22
3.1.	Localización de la investigación.....	22
3.1.1.	Ubicación de la investigación	22
3.1.2.	Situación geográfica y climática	22
3.1.3.	Zona de vida (zonificación ecológica)	23
3.2.	Materiales, equipos y reactivos	23
3.2.1.	Materia prima	23
3.2.2.	Materiales de Campo.....	23
3.2.3.	Equipos.....	24
3.2.4.	Equipos de bioseguridad	24

3.2.5. Reactivos	24
3.3. Métodos	25
3.3.1. Factores en estudio	25
3.3.2. Tratamientos	25
3.3.3. Características del experimento	26
3.3.4. Variables de respuesta	27
3.4. Diseño experimental	30
3.4.1. Modelo de ANOVA	31
3.4.2. Modelo de Pruebas de rangos múltiples	32
3.5. Hipótesis Estadísticas	32
3.6. Metodología Experimental	33
3.6.1. Caracterización física de las frutas	33
3.6.2. Proceso de extracción de actinidina y bromelina mediante precipitación alcohólica	33
3.6.3. Proceso del ablandamiento de la carne de res con diferentes tratamientos....	37
CAPÍTULO IV	39
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1. Caracterización física de las frutas antes del proceso de extracción de las enzimas actinidina y bromelina	39
4.1.1. Extracción enzimática de kiwi verde y piña hawaiana mediante precipitación alcohólica	39
4.2. Cuantificación proteica de las enzimas actinidina y bromelina	41
4.3. Actividad enzimática de las enzimas actinidina y bromelina	50
4.4. Concentraciones de enzimas actinidina y bromelina	59
4.5. El efecto de la adicción de las enzimas mediante la determinación de pH, capacidad de retención de agua y análisis instrumental de textura en la carne de res	59
4.5.1. pH de la carne de res	59
4.5.2. CRA de la carne de res	61
4.5.3. Análisis instrumental de dureza de la carne de res	62

4.6. Comparaciones de un aditivo común con el aditivo natural extraído.....	63
4.7. Comprobación de hipótesis	64
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	65
5.1. Conclusiones.....	65
5.2. Recomendaciones	66
6. REFERENCIAS.....	67
7. ANEXOS	72

ÍNDICE DE TABLAS

No.	Contenido	Pag
Tabla 1.	Enzimas en alimentos	8
Tabla 2.	Taxonomía de el Kiwi verde.....	12
Tabla 3.	Composición nutricional del kiwi verde.....	13
Tabla 4.	Variación de la producción de kiwis verdes de los principales países productores. .	14
Tabla 5.	Clasificación taxonómica de la piña hawaiana	15
Tabla 6.	Composición nutricional de la piña hawaiana	16
Tabla 7.	Factor de Estudio	25
Tabla 8.	Tratamientos	25
Tabla 9.	Características del experimento desarrollado	26
Tabla 10.	Variables de respuesta	27
Tabla 11.	Contenido del modelo de ANOVA.....	31
Tabla 12.	Medición de la materia prima	39
Tabla 13.	Valores obtenidos de los pesos de la enzima actinidina liofilizada.....	40
Tabla 14.	Valores obtenidos de los pesos de la enzima bromelina liofilizada	40
Tabla 15.	Valores de la curva de calibración.....	41
Tabla 16.	Valores obtenidos de la cuantificación proteica de actinidina.....	43
Tabla 17.	Análisis de Varianza de cuantificación proteica mg proteína/g muestra de actinidina	44
Tabla 18.	Pruebas de Múltiple Rangos Tukey HSD para cuantificación proteica mg proteína/g muestra de actinidina por soluciones extractoras y temperaturas de enfriamiento	45
Tabla 19.	Valores del contenido de proteína obtenidos de bromelina.....	47
Tabla 20.	Análisis de Varianza para cuantificación proteica mg proteína/g muestra de bromelina.....	48
Tabla 21.	Pruebas de Múltiple Rangos Tukey HSD para cuantificación proteica mg proteína/g muestra de bromelina por soluciones extractoras y temperaturas de enfriamiento	49
Tabla 22.	Valores obtenidos de la actividad enzimática de actinidina	51
Tabla 23.	Análisis de Varianza para actinidina en actividad enzimática.....	52
Tabla 24.	Pruebas de Múltiple Rangos para actinidina por soluciones extractoras y temperaturas de enfriamiento	53
Tabla 25.	Valores obtenidos de la actividad enzimática de bromelina.....	55
Tabla 26.	Análisis de Varianza para bromelina en actividad enzimática	56

Tabla 27. Pruebas de Múltiple Rangos para bromelina por soluciones extractoras y temperaturas de enfriamiento	56
Tabla 28. Valores de las diferentes concentraciones de enzimas	59
Tabla 29. Valores de pH en la carne de res con adición de enzimas en los diferentes tratamientos	60
Tabla 30. Valores de capacidad de retención de agua (CRA) en la carne de res con adición de enzimas en los diferentes tratamientos	61
Tabla 31. Valores obtenidos de los resultados del análisis instrumental de textura.	63

ÍNDICE DE FIGURAS

No.	Contenido	Pag
Figura 1.	Curva de calibración de acuerdo a la absorbancia y concentraciones de proteína estándar.....	41
Figura 2.	Interacciones del factor A y el factor B por cuantificación proteica mg proteína/g muestra de actinidina.....	45
Figura 3.	Interacciones de los niveles del factor B y el factor A por cuantificación proteica mg proteína/g muestra de actinidina.....	46
Figura 4.	Interacciones del factor A y del factor B por cuantificación proteica mg proteína/g muestra de bromelina.....	49
Figura 5.	Interacciones del factor B y el factor A por cuantificación proteica mg proteína/g muestra de bromelina.....	50
Figura 6.	Gráfico de interacciones de Tukey HSD por soluciones extractoras	53
Figura 7.	Gráfico de interacciones de Tukey HSD por temperaturas de enfriamiento.....	54
Figura 8.	Gráfico de interacciones de Tukey HSD por soluciones extractoras	57
Figura 9.	Gráfico de interacciones de Tukey HSD por temperaturas de enfriamiento.....	58
Figura 10.	Gráfica de los valores del pH de la carne de res con adición de enzimas en los diferentes tratamientos.....	60
Figura 11.	Gráfica de los resultados del análisis de la capacidad de retención de agua en la carne de res con adición de enzimas en los diferentes tratamientos.....	62

ÍNDICE DE ECUACIONES

No.	Contenido	Pag
Ecuación 1.	Digestión de gelatina digerida.....	28
Ecuación 2.	Capacidad de retención de agua.....	29
Ecuación 3.	Modelo matemático para un DCA	30
Ecuación 4.	Modelo matemático para un diseño factorial AXB	32

ÍNDICE DE ANEXOS

No.	Contenido	Pag
Anexo 1.	Mapa de ubicación de la investigación	72
Anexo 2.	Mapa de ubicación del Complejo Agroindustrial	72
Anexo 3.	Plano de Ubicación donde se realizó la investigación	73
Anexo 4.	Tabla de resultados de la cuantificación proteica de actinidina y bromelina.....	74
Anexo 5.	Base general de la cuantificación proteica de las enzimas actinidina (kiwi) y bromelina (piña)	75
Anexo 6.	Método de la Actividad enzimática por digestión de gelatina GDU.....	77
Anexo 7.	Tabla de resultados de actividad enzimática de actinidina y bromelina	79
Anexo 8.	Base general de la actividad enzimática de las enzimas actinidina (kiwi) y bromelina (piña)	80
Anexo 9.	Tabla de rendimiento de los mejores tratamientos en la extracción de actinidina y bromelina.....	82
Anexo 10.	En base general del análisis de dureza de la carne con la adición de enzimas actinidina y bromelina	83
Anexo 11.	Fase experimental.....	97

RESUMEN

En la presente investigación se desarrolló la extracción de enzimas actinidina del kiwi verde y bromelina de la piña hawaiana por el método de precipitación alcohólica, este tipo de método no se utiliza comúnmente para extraer enzimas de frutas. Para ello se realizó análisis fisicoquímicos a la materia prima como el pH con un valor de 3,93 para el kiwi verde y un pH = 3,45 para la piña hawaiana, mientras que el valor de sólidos solubles totales es de 12 °Brix para las dos frutas, siendo estos valores óptimos para el estado de madurez. Además, se empleó el análisis de cuantificación proteica por el método Bradford obteniendo la mejor concentración para actinidina 15,67 mg de proteína/gr de muestra y un valor de 22,15 mg de proteína/gr de muestra en bromelina. Para la actividad enzimática por el método de GDU (Unidad de Digestión de Gelatina) la mejor concentración en actinidina es de 3407 GDU/g y en bromelina con 5460 GDU/g, en base a estos valores se determinó las concentraciones enzimáticas de actinidina y bromelina (0% - 0%; 0% - 100%; 100% - 0%, 50% -50 %) las mismas que fueron empleadas en la carne de res, luego se realizó el análisis instrumental de textura para su efectividad como ablandador, dando como resultado los mejores tratamientos 100% de bromelina; 50% de bromelina y 50% de actinidina, con estos valores se comprobó la adición enzimática en la carne disminuyendo su dureza.

Palabras clave: Enzima, actinidina, bromelina, ablandador, proteína, actividad enzimática

SUMMARY

In the present investigation, the extraction of actinidin enzymes from green kiwifruit and bromelain from Hawaiian pineapple was developed by the alcoholic precipitation method; this type of method is not commonly used to extract enzymes from fruits. For this purpose, physicochemical analyses were performed on the raw material such as pH with a value of 3.93 for green kiwifruit and pH = 3.45 for Hawaiian pineapple, while the value of total soluble solids is 12 °Brix for both fruits, these values being optimal for the state of maturity. In addition, the analysis of protein quantification by the Bradford method was used, obtaining the best concentration for actinidin 15.67 mg of protein/g of sample and a value of 22.15 mg of protein/g of sample in bromelain. For the enzymatic activity by the GDU (Gelatin Digestion Unit) method, the best concentration for actinidin is 3407 GDU/g and for bromelain 5460 GDU/g. Based on these values, the enzymatic concentrations of actinidin and bromelain were determined (0% - 0%; 0% - 100%; 0% - 100%; 50% -50 %); 100% - 0%, 50% -50%) which were used in the beef, then the instrumental analysis of texture was carried out for its effectiveness as a tenderizer, resulting in the best treatments 100% bromelain; 50% bromelain and 50% actinidin, with these values the enzymatic addition in the meat was proved, decreasing its hardness.

Key words: Enzyme, actinidin, bromelain, tenderizer, protein, enzymatic activity

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

Existen distintos aditivos que son extraídos de enzimas naturales y son empleados para mejorar las características sensoriales de los productos, algunos de ellos son utilizados para disminuir la dureza de la carne, la misma que se produce posterior al sacrificio del animal, porque no se ha dejado el tiempo necesario para que actúe las enzimas que siguen activas y de esta manera rompan las proteínas disminuyendo la dureza, “esto explica que la carne madurada de 10 o 15 días sigue siendo mucho más tierna, también influye si la carne es procedente de animales mayores, ya que estos poseen menor colágeno, por ende los cortes cárnicos son fibrosos haciendo que el tiempo de cocción sea más largo” (Sánchez, 2017). La palatabilidad de la carne se puede subdividir en diversos componentes como; el sabor, la jugosidad y la ternura; siendo el componente que sobresale en la palatabilidad de la carne de res es la ternura.

En la antigüedad se utilizaba diferentes técnicas para disminuir la dureza de la carne como envolver en hoja de plantas, el golpe de la carne y marinado, con el pasar del tiempo se han creado aditivos químicos que ayudan a la ternura de la carne como también a su conservación, en su mayoría contiene ingredientes que afectan el valor nutritivo de la carne como la disminución de las proteínas, es por ello, que existen estudios donde se evidencia métodos naturales para ablandar la carne, que son saludables obteniendo así una carne con características de textura adecuada (Gutiérrez Medina, 2015).

En la actualidad se utiliza este tipo de enzimas proteolíticas que pueden ser extraídas de frutas y vegetales, como por ejemplo la bromelina, ficina y actinidina, las cuales son utilizadas principalmente como ablandadores naturales, siendo más eficientes para degradar el colágeno y mejorar la ternura de la carne (Montoya Terrones & Miano Pastor , 2017).

Objetivo general:

- Elaborar un aditivo natural mediante la extracción de enzimas del kiwi verde (*Actinidia deliciosa*) y de piña hawaiana (*Ananas comosus*) por el método de precipitación alcohólica, para el ablandamiento de carne de res.

Objetivos específicos:

- Extraer el contenido enzimático de kiwi verde (*Actinidia deliciosa*) y de piña hawaiana (*Ananas comosus*) mediante precipitación alcohólica.

- Obtener la cuantificación proteica de la extracción de enzimas de kiwi verde (*Actinidia deliciosa*) y de piña hawaiana (*Ananas comosus*), mediante el método Bradford.
- Evaluar la actividad enzimática de las enzimas de kiwi verde (*Actinidia deliciosa*) y de piña hawaiana (*Ananas comosus*), mediante el método de digestión de gelatina.
- Emplear diferentes concentraciones de enzimas actinidina y bromelina en el ablandamiento de carne de res.
- Analizar el efecto de la adición de las enzimas mediante determinación del pH, capacidad de retención de agua (CRA) y análisis instrumental de textura (Texturómetro Brookfield) en la carne de res.
- Determinar la mejor concentración del ablandador natural en la carne de res.

1.1. PROBLEMA

1.1.1. Planteamiento del problema de investigación

En la actualidad la producción de enzimas a nivel industrial es del 40% siendo este porcentaje muy bajo, por lo que, deberían ser más industrializados ya que son considerados como aditivos naturales, algunas de estas enzimas se encuentra en las frutas como actinidina en el kiwi, bromelina en la piña y ficina en el higo, presentando mayor concentración de enzimas proteolíticas en las frutas que no han alcanzado el estado de maduración y actividad biológica (Clavijo, Portilla , & Quijano Alfonso, 2017). El uso de aditivos químicos que se encuentran en el mercado puede provocar alteraciones en la salud de los consumidores (Montoya Terrones & Miano Pastor , 2017).

En el Ecuador existe una gran variedad de frutas con diferentes principios activos como la actinidina que se encuentra en el kiwi verde, esta enzima es una proteasa que provoca la ruptura de múltiples enlaces en las proteínas animales, mientras que la bromelina es una proteasa de cisteína que se encuentra en la piña con mayor concentración en el tallo, estas enzimas también poseen una actividad hidrolítica sobre el tejido conectivo con una eficacia del 60%, lo que hace que tengan la capacidad de proporcionar un rápido ablandamiento de la carne de res adulto (Bermeo, Salgado, Flores, & Sánchez, 2020). Estas enzimas han sido explotadas comercialmente por poseer muchas aplicaciones dentro de la biotecnología, haciendo uso en la industria alimentaria principalmente en formulaciones como ablandadores naturales de carne, fabricación de cervezas y quesos, también se ha utilizado en otros tipos de industrias como cosméticos, farmacéutica y textil (Hernández, Carvajal, Márquez, & Chávez, 2016).

Se evidencia poca información sobre la extracción de enzimas mediante el método por precipitación alcohólica, en procesos agroindustriales de cierta fruta como el kiwi verde y la piña hawaiana, por sus propiedades proteolíticas que pueden ayudar a disminuir la dureza de la carne sin el uso de aditivos químicos.

1.1.2. Formulación del problema

En base a lo expuesto el presente estudio está enfocado en la extracción de las enzimas actinidina y bromelina mediante el método de precipitación alcohólica, para ser utilizado como un aditivo natural para el ablandamiento de carne de res, la cual se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Qué aditivo natural obtenido mediante extracción de enzimas de kiwi verde y de piña hawaiana, por el método de precipitación alcohólica es el mejor para el ablandamiento de carne de res?

1.1.3. Sistematización del problema

¿Cómo se va a extraer el contenido enzimático de kiwi verde (*Actinidia deliciosa*) y de piña hawaiana (*Ananas comosus*)?

¿Qué método se empleará para obtener la cuantificación proteica de la extracción de enzimas del kiwi verde (*Actinidia deliciosa*) y de piña hawaiana (*Ananas comosus*)?

¿Cómo se evaluará la actividad enzimática de las enzimas del kiwi verde (*Actinidia deliciosa*) y de piña hawaiana (*Ananas comosus*)?

¿Para qué se emplearán las concentraciones de enzimas de actinidina y bromelina en la carne de res?

¿Cuáles son los análisis que se considerarán en el efecto de la adición de la concentración de enzimas de bromelina y actinidina en la carne de res?

¿Cómo se determinará las concentraciones del ablandador natural en la carne de res?

1.2. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

Hipótesis nula

Ho: No existe diferencia significativa en las concentraciones de enzimas para el ablandamiento de carne de res.

Hipótesis alternativa

Hi: Existe diferencia significativa en las concentraciones de enzimas para el ablandamiento de carne de res.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Aditivo alimentario

Son sustancias que no forman parte de los alimentos de forma natural ni tampoco se consumen por sí mismas, suelen ser añadidas al alimento para mejorar así su inocuidad como la frescura, el sabor y la textura en los procesos de su elaboración, permitiendo la estabilidad de la mezcla o de alguna modificación en su estructura como las características físicas del alimento, esta es una forma de mantener sus propiedades nutritivas, ayudando así en su conservación del producto en condiciones óptimas por más tiempo para el consumidor, pero también tiene un sentido sanitario, ya que el alimento en mal estado puede sufrir alteraciones proliferando hongos y bacterias (OMS, 2018).

2.1.1. Tipos de aditivos

a. Aditivo natural

Son aquellos aditivos que se obtienen de productos presentes en la naturaleza mediante extracciones de carácter físico que no impliquen la adición de otras sustancias no naturales, alguno de ellos son la pectina de origen vegetal y el agar obtenido de algas para ser utilizados como espesantes, algunos de estos aditivos ayudan a mantener el valor nutricional del alimento (Collado, Velázquez, Cruz, Velasco, & Rosales, 2019).

b. Aditivo sintético

Estos aditivos son lo contrario a los aditivos naturales, por lo que son obtenidos de productos no presentes en la naturaleza mediante operaciones que suponen generar o incorporar sustancias como es el ácido benzoico, también poseen nitritos y nitratos que pueden ser tóxicos cuando se unen con la hemoglobina, debido a que existe riesgo de que se formen compuestos cancerígenos, es por ello que su utilización debe ser moderadamente (Gracia Goez, 2019).

c. Edulcorantes

Proporcionan sabor en los productos alimenticios ayudando a sustituir algunos azúcares como endulzantes, son los más comunes en la industria alimentaria su sabor es muy parecido al de azúcar común y resiste a las condiciones del alimento que se va añadir, los edulcorantes naturales son de origen vegetal que han sufrido alguna extracción o modificación química (De Ariño, 2017).

d. Espesantes, estabilizantes y gelificantes

Son aditivos que ayudan a dar textura, viscosidad al alimento manteniendo una dispersión uniforme entre dos o más sustancias, en productos como pulpas de frutas, bebidas, postres o congelados mantiene su estabilidad evitando la pérdida de líquido al descongelarse, en bebidas ayuda a fijar la espuma de la nata o cerveza (Bosman, 2015).

e. Antioxidantes

Es importante utilizar antioxidantes porque ayuda a detener la oxidación de las grasas o existen sustancias que refuerzan la acción de los antioxidantes eliminando las trazas de ciertos metales que facilitan la oxidación, en algunos productos grasos tienen sus propios antioxidantes naturales, aunque muchas veces estos se pierden durante el procesamiento, en las grasas vegetales son en general más ricas en sustancias antioxidantes que la grasa de los animales (Suarez, González, Reséndiz, & Sánchez, 2018).

f. Conservantes

Son sustancias que retardan, previenen o detienen alguna alteración causada por microorganismos, es la principal causa del deterioro de los alimentos causando problemas de alteraciones microbianas en los alimentos, el deterioro de la materia prima o productos elaborados afecta a los distribuidores y consumidores, es por ello que se utilizan métodos físicos como el calentamiento, irradiación, deshidratación, congelación y los métodos químicos que ayudan a combatir los microorganismos evitando su crecimiento (Aparicio Cediel, 2017).

g. Colorantes naturales

El color del alimento que tiene por sí mismo siendo una sensación percibida por que mantiene de forma natural, su color también es preparado por métodos físicos por lo que son considerados en general como inocuos y las limitaciones específicas en su utilización son menores que las que afectan a los colorantes de síntesis, así mismo existen colorantes que no son adecuados en los alimentos, sobre todo porque causa problemas en la salud para los consumidores (Escudero Gilete & Vicario Romero, 2017).

2.2. Enzimas

Las enzimas son sustancias que actúan como un catalizador en organismos vivos, regulando la velocidad a la que se desarrollan las reacciones químicas sin que ellas mismas se vean alteradas en el proceso, además tienen alta especificidad porque cada una induce la transformación de un tipo de sustancia, más que la transformación de otras sustancias que se pueden encontrar en el medio de reacción (Ramírez Ramírez & Ayala Aceves, 2014).

Según (Pérez Leal, 2017) describe que las enzimas se consideran como aditivos en la industria de los alimentos, motivo por el cual ayuda a modificar la apariencia, textura, valor nutricional, aromas y sabores por medio de la disminución del tiempo de proceso, otras aplicaciones que están relacionadas en la industria alimentaria son el desarrollo de envases activos y biosensores.

Tabla 1.

Enzimas en alimentos

Enzima	Acción enzimática	Obtención
α -Acetolactato descarboxilasa	Conversión de acetolactato a acetoína. Reducción del tiempo de maduración del vino	<i>B. subtilis</i>
Amiloglucosias	Hidrólisis de dextrina a glucosa. Producción de jarabes fructosados y de cerveza tipo “lite”	<i>A. niger, Rhizopus spp.</i>
Bromelina y ficina	Hidrólisis de proteínas del tejido conectivo y muscular.	Piña, látex de higo y de papaya inmadura.
Celulasa	Hidrólisis de celulosa. Ablandamiento de la fruta en la producción de jugos.	<i>A. niger, Trichoderma spp.</i>
Glucosa oxidase	Oxidación de glucosa a ácido glucónico. Evita el pardeamiento de la clara del huevo.	<i>A. niger, P.chrysogenum</i>

Enzima	Acción enzimática	Obtención
Hemicelulasa y Xilanasa	Mejora la textura del pan	<i>Aspergillus spp.</i> , <i>B.subtilis</i> , <i>T.</i>
Lipoxigenasa	Oxidación de ácidos grasos insaturados.	Soya
Pululanasa	Hidrólisis de enlaces α (1-6) del almidón. Mejora la eficiencia de la sacarificación del almidón	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i>

Nota: Tipos de enzimas con sus acciones enzimáticas y donde están localizadas. Fuente: (Del Moral, Ramírez, & García, 2015)

2.3. Actividad enzimática

En la reacción catalítica el sustrato debe combinarse primero con la enzima para formar un complejo enzima-sustrato, por lo tanto, el aumento en la concentración de enzima acelerará la reacción catalítica, es decir a concentraciones de enzimas más altas, las moléculas reaccionan con el sustrato y catalizan la reacción. Según (Dalgo Flores, 2012) la actividad enzimática activa presenta el nivel de la misma actividad, dependiendo de las condiciones que deben ser especificadas cuando se dan los valores, la velocidad de la reacción enzimática depende de varios factores, entre los que destacan los siguientes:

a) Temperatura

Las enzimas son muy sensibles a temperaturas altas debido a que la mayoría muestran poca actividad, esto se debe porque no hay suficiente energía para catalizar la reacción, del mismo modo inicia la desnaturalización de la misma, en cambio a temperaturas bajas, la actividad de la enzima aumenta a medida que las moléculas de reactivo se mueven más rápido, por lo que resulta ser más colisiones con la enzima (Yañiquez Vedia, Huanca Lopez, Tejeda, & Aliaga Rossel, 2019).

b) pH

Las enzimas son más activas en su pH óptimo, por ende, mantiene la estructura terciaria adecuada de la proteína, si el pH es mayor o menor que el pH óptimo la interacción de los grupos R cambiará, destruyendo la estructura terciaria y el sitio activo, es por ello que la enzima no se puede unir a un sustrato de manera adecuada porque no ocurre reacción (Timberlake, 2020).

c) Concentración de la enzima

Siempre que exista un sustrato que pueda unirse a él aumentara la concentración de la enzima acelerando la reacción, mientras tanto una vez que todos los sustratos estén unidos, la reacción dejara de acelerarse porque no hay otra enzima que pueda unirse a él, en concentraciones enzimáticas mayor las moléculas se unen al sustrato para catalizar la reacción, donde existe una relación directa entre la concentración de la enzima y de la actividad enzimática.

d) Concentración del sustrato

El aumento en la concentración de sustrato también aumenta la velocidad de reacción hasta cierto punto, cuando todas las enzimas están unidas, cualquier aumento en el sustrato no afectara la velocidad de reacción porque las enzimas disponibles se saturarán y funcionan a su máxima capacidad, esto se debe al aumento de la concentración (Valente, 2022).

e) Salinidad

La concentración salina también afecta el potencial iónico del cual interfiere de ciertos enlaces de la enzima, que pueden ser parte del sitio activo de la enzima, así como también el valor del pH afecta la actividad de la enzima.

2.4. Enzimas proteolíticas

Son conocidas como proteasas o peptidasas que son las responsables de catalizar la hidrólisis de los enlaces peptídicos de otras proteínas, dando como resultado la producción de péptidos o aminoácidos libres, algunas de ellas son importantes en la modificación y procesamiento postraduccional, debido a su alta especificidad por su sustrato, en donde da lugar a la escisión selectiva de proteínas, estas se clasifican por exoproteasas que tiene la función de eliminar aminoácidos terminales de las proteína o péptidos, las endoproteasas ayudan a hidrolizar los enlaces peptídicos dentro de la cadena de proteínas y las proteasas acidas son mayormente utilizadas en la industria alimenticia (Vigueras Morales, 2019).

2.4.1. Actinidina

El kiwi tiene la propiedad de contener actinidina, que es una enzima proteolítica que puede actuar como catalizador para descomponer la proteína en el estómago de una manera que promueve la digestión, otra de las ventajas que tiene el kiwi es un ablandador de carne natural, para lograr este efecto se recomienda frotar la carne con kiwi durante 30 minutos, ya

que la proteasa es un tipo de enzima que puede hidrolizar la proteína y convertirla en aminoácidos o péptidos simples.

2.4.2. Bromelina

La piña es una fruta tropical de la familia de las bromeliáceas, posee la enzima llamada bromelina que cataliza la hidrólisis a través de enlaces peptídicos en las proteínas, su clasificación se especifica según su centro activo y mecanismo de acción, la bromelina es una proteasa ácida con fuerte actividad proteolítica (Coello & Hidalgo, 2016).

La bromelina es una glicoproteína de la cisteína proteasas, cuyo objetivo principal es ablandar la carne, aunque también se utiliza para hidrolizar proteínas solubles en las industrias cervecera, panadera y vinícola (Clavijo, Portilla, & Quijano, 2015). Posee múltiples beneficios la bromelina entre las cuales sobresalen como complemento alimenticio, en la farmacología se utiliza para la absorción de otros medicamentos al momento de procesar, se utiliza como tratamientos de ciertas enfermedades virales como: antiedematosas, antiinflamatorias y fibrinolíticas (Bermeo, Salgado, Flores, & Sánchez, 2020).

2.5. Kiwi verde

Es la especie más ampliamente cultivada en el mundo, pertenece a la familia Actiniaceae al género botánico actinidia, es una especie leñosa tipo trepadora que requiere tutoreo para su cultivo, se siembra en suelos profundos ricos de materia orgánica que estén drenados, es de climas templados debido que es un cultivo de naturaleza subtropical, puede vivir por más de 50 años, su forma es ovalada, la piel es de color marrón con fondo más o menos verde recubierta de vellosidad fina, la pulpa es muy jugosa de color verde brillante con un sabor acidulado, el contenido de azúcar es de 12 a 14 °B (Cedeño & Quiñonez, 2021). Es una fruta con interesantes cualidades nutritivas como su contenido nutricional en minerales, fibra y un alto contenido de vitamina C (Pinto & Vilela, 2018).

Tabla 2.

Taxonomía del kiwi verde

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Actinidiaceae
Género	Actinidia Lindl
Nombre Científico	<i>Actinidia deliciosa</i>

Nota: Clasificación taxonómica del kiwi verde. Fuente: (Mariscal Santi , 2016)

2.5.1. Beneficios del kiwi verde

De acuerdo a (Pérez García , 2019) manifiesta que “el kiwi verde posee muchos beneficios y gracias a esto ayuda a prevenir diversas enfermedades entre ellas están”:

- Combate el estreñimiento, el kiwi verde es una fruta rica en fibra soluble, por lo que ayuda a la digestión y mejora el tránsito intestinal por ser un excelente aliado.
- Ayuda a la digestión por su alta capacidad de digerir, que puede descomponer las proteínas de los alimentos, evitando así la indigestión, la gastritis y gases.
- Ricos en antioxidantes y vitamina C, por consiguiente, ayuda absorber el hierro.
- Ayuda al sistema inmunitario, esto se debe a que el kiwi verde contiene mucha vitamina C, ácido fólico, que puede ayudar a prevenir los resfriados, así como también mejorar las defensas, ambos nutrientes pueden producir más anticuerpos y glóbulos rojos como blancos.
- Mejora la circulación sanguínea por su contenido de vitamina E y ácidos grasos, de este modo pueden diluir la sangre, ayudando a mejorar el estado general de las arterias, esto evita que se formen coágulos de sangre en los vasos sanguíneos, por lo que el kiwi puede proteger de trombosis, angina, ictus e infarto.

Tabla 3.*Composición nutricional del kiwi verde*

Nutriente/100g PC	Unidad	Actinidina Deliciosa Contenido
Agua	gr	83
Energía	Kcal	61
Proteína	gr	1,14
Grasa Total	gr	0,44
Glúcidos	gr	12,10
Hierro	mg	0,31
Calcio	mg	34
Fósforo	mg	34
Vitamina A	mg	4
Vitamina C	mg	92,7
Vitamina K	Ug	40,3
Vitamina B6	Ug	0,063
Vitamina E	Mg	1,46
Folato	Ug	29,30

Nota: Composición nutricional del kiwi verde por 100g de parte comestible. Fuente: (López Sobaler, 2016).

2.5.2. Producción de kiwi verde a nivel mundial

Al ser originario de otro continente esta fruta es poco común su cultivo en el Ecuador.

Tabla 4.*Variación de la producción de kiwis verdes de los principales países productores*

País	Año		% Var.
	2015	2020	
Nueva Zelanda	325	260	-20%
Chile	179	143	-20%
Italia	550	247	-55%
Grecia	160	260	63%
Francia	59	47	-21%
Brasil	18	20	11%

Nota: Producción nacional del kiwi verde en los distintos países desde el año 2015 hasta el año 2020. Fuente: (Mariscal Santi , 2016)

2.6. Piña hawaiana

Es una planta herbácea perenne, pertenece al género Ananas de la familia bromeliáceas, esta planta posee 60 a 80 hojas sin espinas a excepción de la parte terminal de la hoja, esta fruta es de forma cilíndrica con una corteza de color verde oscuro con manchas rojizas, las flores se auto fecundan de manera asexual, su pulpa es de color amarillo y su sabor es dulce, posee un peso de 2 a 4 kg (Chica Santillán, 2018). La piña se desarrolla en regiones que poseen clima cálido y suelos francos arcillosos, también se debe considerar los factores climáticos porque influye en la precipitación, no necesita de mucha ayuda porque almacena en las hojas para desarrollarse la floración, por lo cual el exceso de agua en la planta no logra cumplir con sus características de sabor, textura y color, la luminosidad favorece al crecimiento de la planta, la temperatura ayuda a determinar el desarrollo de las partes de la planta en temperaturas bajas o muy elevadas (Rodríguez, y otros, 2016).

Tabla 5.

Clasificación taxonómica de la piña hawaiana

Reino	Vegetal
Clase	Angiosperma
Subclase	Monocotiledónea
Orden	Farinosae (Xyridae)
Familia	Bromeliácea
Género	Ananas
Especie	Comosus Merr
Nombre Científico	<i>Ananas comosus Mer</i>

Nota: Clasificación taxonómica de la variedad piña hawaiana. Fuente: (Magaña Rueda , 2015).

2.6.1. Beneficios de la piña hawaiana

Según (Magaña Rueda , 2015) la piña tiene muchos beneficios entre los cuales tenemos los siguientes:

- Propiedades antiinflamatorias y antitrombóticas.
- Ayuda a eliminar ardor, acidez y gases.
- Elimina el estreñimiento por su alto contenido de fibra, siendo un balance perfecto para la digestión.
- Reduce la presión arterial por su contenido de potasio y sodio.
- Ayuda al funcionamiento del hígado.
- Favorece los procesos de cicatrización de la piel.
- Contiene minerales como potasio, hierro y zinc, el cual actúa como antioxidante retrasando el envejecimiento.

Tabla 6.*Composición nutricional de la piña hawaiana*

Nutrientes/100g PC	Cantidad
Calorías	46 Kcal
Proteína	0,5 gr
Hidratos de carbono	11,5 gr
Fibra	1,2 gr
Calcio	12 mg
Hierro	0,5 mg
Sodio	3 mg
Potasio	250 mg
Magnesio	14 mg
Fósforo	11 mg
Vitamina E	0,1 mg
Yodo	30 mg
Vitamina C	20 mg
Vitamina A	13 mg
Ácido fólico	11 gr

Nota: Componentes nutricionales de la piña hawaiana por 100gr de parte comestible. Fuente: (Agudelo Betancourt, 2016).

2.6.2. Producción de piña hawaiana a nivel nacional

Ecuador en el 2017 ha exportado un promedio de 80 000 toneladas métricas anuales de piña hawaiana, proveniente principalmente de Santo Domingo de los Tsáchilas y Los Ríos (La Hora, 2022). Las piñas producidas en estas provincias se caracterizan por la dulzura y el color amarillo intenso de la pulpa, también son cultivadas en los cantones de Chone, Quinindé y Quevedo, según el ministerio de la Producción, en el año 2021 se exportaron 45,6 millones de dólares a Chile, Estados Unidos, Alemania, Argentina y los Países bajos (El Telégrafo, 2022).

2.7. Precipitación alcohólica

Es usualmente utilizada como un método para purificar y/o concentrar proteínas, ADN, ARN y los polisacáridos como la pectina y el xiloglucano a partir de soluciones acuosas

añadiendo etanol, este tipo de proceso de precipitación pueden ser aplicado de manera fácil (Bertoluzzo, 2015).

2.8. Ablandadores

Como su nombre indica el suavizante de carne es una herramienta de cocción que se utiliza para ablandar la carne, ya sea de res, cerdo, aves, entre otros, las hace más tiernas y jugosas, dando suavidad a los nudos, fibras y nervios que pueden producir ciertos tipos de cortes (Yacub, 2021). Los ablandadores cárnicos comúnmente contienen mezclas como: 88 % de cloruro de sodio (como sustancia portadora), 4,5 % de almidón (para hacerle más espolvoreable), 4,5 % de enzima, 2 % de citrato de sodio cristalizado y 1 % de glutamato de sodio. La aplicación puede efectuarse por inmersión o dispersión con soluciones acuosas o hidroalcohólico de 2 a 5 % (Aldana, 2016). Según (Espinosa Carrillo , 2022) nos menciona las diferentes funciones de enzimas en el procesamiento de carne.

- Las proteasas (papaína, bromelina y ficina) desempeñan un papel importante en el ablandamiento como la utilización para la limpieza de huesos y la formación de sabores.
- Las lipasas se pueden utilizar para la formación de sabor en salchichas.
- La transglutaminasa se puede utilizar en la construcción para adaptar las propiedades estructurales de varios productos cárnicos procesados y calentados.
- Se ha informado que las oxidorreductasas, incluidas la tirosinasa y las lacasas, se entrecruzan con las proteínas de la carne.

2.8.1. Tipos de ablandadores de carne

- **Ablandador artificial:** Son utilizados en la industria con el propósito de ablandar la carne entre los cuales podemos destacar hexametáfosfato de sodio, ácidos orgánicos (acético, cítrico y láctico) y cloruro de calcio. El hexametáfosfato de sodio se inyecta en jamones de cerdos a través de la arteria femoral, a los 15 minutos después del sacrificio, los ácidos orgánicos (acético, cítrico y láctico) aumentan la solubilidad y la cantidad total de colágeno, así como la fuerza de corte de la carne además el ácido acético mejora la terneza de la carne disminuyendo la fuerza de corte del tejido conjuntivo del epimisio en filetes de ternera reestructurados.
- **Ablandador mecánico:** Consiste en la manipulación de la carne a través de procesos por cuchillas, el uso de un ablandador de carne Jaccard, que es un ablandamiento

mecánico, el cual no incluye el proceso de inyectar la solución en la carne, sino a través de la ternura de la hoja o aguja que se atribuye a la destrucción parcial del tejido conectivo y la fuerza de las fibras musculares, todo esto conduce a una reducción del corte y resistencia a la masticación para que la carne esté tierna (Ruddy Raquel, 2016).

2.9. Proteínas modificadas para la industria alimenticia

El uso importante de las enzimas proteolíticas es la obtención de hidrolizados de proteínas para la producción de aditivos alimentarios, un problema común es la formación de péptidos amargos debido a la presencia de aminoácidos aromáticos, que puede enmascarar con ácido glutámico o polifosfato, eligiendo cuidadosamente las peptidasas y las condiciones de reacción para evitar su formación, la hidrólisis parcial de determinadas proteínas puede modificar algunas de sus propiedades físicas como químicas y aumentar su solubilidad o capacidad emulsionante (Llorente, 2015) .

2.10. Método de cuantificación proteica

2.10.1. Absorbancia ultravioleta (UV) a 280 nm (rango: 0.1-100 ug/ml)

Los aminoácidos aromáticos tirosina y triptófano les dan a las proteínas su característico espectro de absorción ultravioleta (UV) a 280 nm. Fenilalanina y puentes disulfuro también pueden contribuir a la absorbancia en esa misma longitud de onda. Este método es simple y requiere de un volumen de muestra extremadamente pequeño, es por ello que los nuevos espectrofotómetros emplean un sistema de retención de muestra durante la medición, seguidamente la muestra proteica debe encontrarse pura y no contener componentes no proteicos con el mismo espectro de absorción, tales como ácidos nucleicos contaminantes. Se debe conocer la secuencia exacta de aminoácidos de la proteína analizada y se debe calcular el coeficiente de absorción específico de esa proteína previo a la determinación de la concentración de solución. Aunque este método es el más rápido pero propenso a errores (Mejía Bermudes , 2018).

2.10.2. Ácido bicinonínico (BCA) o ensayo basado en cobre

BCA es un reactivo cromogénico específico para Cu^{1+} y en el segundo paso de la reacción dos moléculas de BCA reaccionan con una de ión Cu^{1+} . La cantidad de Cu^{2+} reducido es una función de la concentración de proteína y ser determinada espectrofotométricamente por un cambio en el color de la solución a púrpura, el cual absorbe a 562 nm. La absorbancia es directamente proporcional a la cantidad de proteína presente en

la solución y puede ser estimada por comparación con un estándar de proteína conocido, tal como la albumina sérica bovina (ASB) (Mejía Bermudes , 2018).

2.10.3. Reactivo Biuret

En la cuantificación de proteína se usa también la técnica del reactivo de Biuret, esta técnica de laboratorio es hallar en una mezcla la presencia de proteína. Los péptidos y proteínas producen una reacción coloreada muy usada para la valoración de los mismos, llamada reacción del Biuret, las proteínas por sus uniones peptídicas reaccionan con los iones cúpricos del reactivo en medio alcalino formando un complejo de color violeta, es por eso que se necesitan 2 o más uniones peptídicas para que se formen el complejo coloreado, esta prueba sirve para la identificación de tripéptidos en adelante (Mejía Bermudes , 2018).

2.10.4. Método Bradford

La determinación de proteínas por el método de Bradford consiste en la cuantificación de la unión de un colorante, el Azul de Coomassie G-250, a la proteína, comparando esta unión con la de diferentes cantidades de una proteína estándar (Albumina de Suero Bovino (BSA)). La cuantificación se hace midiendo la absorbancia en un espectrofotómetro a 595 nm y graficando la absorbancia vs concentración de proteínas, obteniendo una curva de calibración de la proteína estándar, con esta curva de calibración se puede interpolar la concentración en una muestra al medir su absorbancia a 595 nm (Bradford, 1976).

2.10.5. Método de Lowry

Este método procede a la determinación de la concentración total de proteína, el principio del método donde se basa en la utilización de una mezcla que contiene molibdato, tungstato y ácido fosfórico (reagente Folin – Ciocalteu), que sufre una reducción cuando reacciona con proteína, en la presencia del catalizador cobre. El método de Lowry envuelve 2 reacciones químicas, la primera reacción es la reducción del ión cobre en condiciones alcalinas, formando un complejo con enlaces peptídicos, denominado reacción de Biuret. La segunda reacción envuelve la reducción del reagente Folin-Ciocalteu por el complejo cobre-enlace peptídico, causando un cambio en la coloración de la solución para azul. Por espectrofotometría pueden leerse las muestras tratadas con este método entre 650 a 750 nm, la cantidad de proteína puede ser estimada utilizando una curva estándar con otra proteína, es decir, cuya concentración sea conocida como la albumina bovina sérica (Marques, 2018).

La principal ventaja del método de Lowry es su alta sensibilidad a comparación del método de Biuret y la determinación UV.

2.10.6. Método Dumas

Es un proceso de análisis químico para determinar el contenido en nitrógeno de una sustancia química, los resultados obtenidos se indican en forma de porcentaje o en mg de nitrógeno, que se puede convertir en proteínas mediante el uso de factores de conversión.

El método consiste en la combustión de una muestra de masa conocida en una cámara de alta temperatura en presencia de oxígeno. Esto conduce a la liberación de dióxido de carbono, agua y nitrógeno, los gases se pasan sobre columnas especiales que absorben el dióxido de carbono y agua. La columna que contiene un detector de conductividad térmica a la final se utiliza para separar el nitrógeno a partir de cualquier dióxido de carbono residual, el restante que viene a ser el agua y el contenido de nitrógeno es el que se va a medir (Mera Ramirez , 2015)

2.11. Carne

Es la parte muscular comestible de los animales sacrificados y faenados en condiciones higiénicas, donde incluye grasa, huesos, cartílagos, piel, tendones, aponeurosis, nervios, linfa y vasos sanguíneos, otras partes que suelen acompañar al tejido muscular, pero que no se separan de él durante procesamiento, preparación y conversión.

En la producción de carne interesa que la desaparición natural de la fase de rigor mortis sea lo más temprana posible dando paso a la siguiente fase denominada maduración, debido a que se desarrollan las características organolépticas, ocurriendo determinados procesos físico-químicos que hacen que la estructura muscular contraída se relaje y adquiera la textura propia de la carne (Ordoñez & Aroca , 2016). Además, se constituyen los elementos moleculares básicos que determinan los aromas y sabores específicos, a la vez que se mejora la capacidad de las proteínas musculares.

2.11.1. Calidad de la carne de res

La calidad de la carne está relacionada con la palatabilidad siendo un atributo que va a influir con el aroma, jugosidad y ternura, estos factores incluyen la madurez de la canal, firmeza, textura como el color de la carne, así como también a la cantidad y distribución de marmoleados dentro de la carne, además existen varios métodos para el ablandamiento que influye en la calidad de la carne que se lo realiza por medio del envejecimiento en seco, mecánicos, térmicos, químicos y enzimáticos (León Banda & Carrasco García, 2012).

Según (Peregrino, Pérez, Mayett, & Arvizu, 2018) menciona que en el sector cárnico sigue mejorando la calidad de la carne, siendo un aspecto más importante que va a influir en la

satisfacción del consumidor, así como en la palatabilidad donde va a influir en la aceptabilidad de la carne, entre los factores de palatabilidad tenemos:

- La firmeza, tiene una textura firme donde ablanda la carne, si se maneja en un envase su distribución debe ser al por menor con una consistencia suave.
- El olor es un indicador de calidad en la carne, un olor normal puede variar ligeramente de otro olor, se debe evitar que desprenda cualquier tipo de olor rancio o extraño en la carne cruda, ya que cuando se calienta los atributos se desarrollan, puede influir la edad del animal si es más viejo el olor es más fuerte que los jóvenes (Giuffrida Mendoza , Arenas de Moreno, & Huerta Leidenz, 2014).
- La jugosidad es la percepción de la humedad al momento del consumo, puede depender de la cantidad de agua retenida por un producto cárnico porque aporta el sabor contribuyendo a la ternura.
- Es la dificultad o la facilidad que la carne se puede cortar o masticar, la ternura está relacionada con diversos factores de ambiente, factores de manejo y los factores genéticos, estos inciden positivamente en la ternura de la carne (Jiménez Edeza, Chaidez Quiroz, & León Félix, 2012).
- El valor de pH de la carne afectará las propiedades organolépticas, ya que tiene una relación directa o indirecta con el color, ternura, capacidad de retención de agua, vida útil y sabor, por lo que no se recomienda que el valor de pH de la carne sea inferior a 4 porque no hay cohesión.
- Es un parámetro que se utiliza para medir la capacidad de un músculo para retener agua libre a través de la acción capilar y la tensión. Este parámetro está directamente relacionado con la jugosidad, por lo que cuando el CRA de un alimento es más alto tiene una puntuación más alta en el análisis sensorial, el CRA en la carne está en su mínimo cuando se alcanza el punto isoeléctrico de las proteínas (pH entre 5,0-5,5), que es el pH último de la carne tras sufrir el rigor mortis (Lema Hurtado & Lema Hidalgo, 2019).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Localización de la investigación

Para el desarrollo de la presente investigación se realizó en el Laboratorio de Investigación de la Universidad Estatal de Bolívar en la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente.

3.1.1. Ubicación de la investigación

Ubicación	Localidad
Provincia	Bolívar
Cantón	Guaranda
Sector	Laguacoto II
Parroquia	Veintimilla
Dirección	Laguacoto II km ½ vía Guaranda y San Simón
Establecimiento	Universidad Estatal de Bolívar
Unidad de Producción	Laboratorio de investigación

Nota: Ubicación en donde se realizó la investigación. Fuente: Estación Meteorológica, Universidad Estatal de Bolívar, Laguacoto II, (2022)

3.1.2. Situación geográfica y climática

Altitud	Valor
Altitud	2800 m.s.n.m.
Latitud	01°34'15"S
Longitud	79°0'02"O
Temperatura máxima	21°C
Temperatura mínima	8°C
Temperatura media anual	14.4°C
Heliofania media anual	900/h/año
Humedad Relativa media anual	70%
Velocidad promedio anual del viento	6m/s

Nota: Situación geográfica y climática donde se realizó la investigación. Fuente: *Estación Meteorológica, UEB Laguacoto II Guaranda-Ecuador* (2022)

3.1.3. Zona de vida (zonificación ecológica)

La ubicación da lugar a desarrollar la investigación en el departamento de investigación, que corresponde a la zona de vida, bosque húmedo montañoso bajo (BHMB). Según el botánico climatológico Leslie Holdridge.

3.2. Materiales, equipos y reactivos

3.2.1. Materia prima

- Kiwi verde (*Actinidia deliciosa*)
- Piña hawaiana (*Ananas comosus*)
- Carne de res (Falda)
- Gelatina sin sabor

3.2.2. Materiales de Campo

- Cuchillo
- Tubos de microcentrífuga
- Tubos falcón
- Parafilm
- Ligas
- Barita de agitación
- Magneto
- Espátula
- Frascos plásticos
- Gradilla
- Pipeta
- Probeta
- Colador
- Aluminio
- Vasos de precipitación
- Frascos Boeco
- Papel Filtro
- Cinta Adhesiva
- Desecador
- Termómetro
- Pipeta de 1000 ul TRANSFERPETTE

- Pipeta de 300 ul EPPENDORF

3.2.3. Equipos

- Balanza analítica METTLER TOLEDO
- Licuadora Oster
- Balanza gramera SHIMADZU
- Centrifugadora SIGMA
- Centrifugadora EPPENDORF
- pH-metro Hanna INSTRUMENTS
- Refractómetro
- Refrigeradora
- Espectrofotómetro THERMO SCIENTIFIC (NANO DROP ONE)
- Baño maría
- Texturómetro Brookfield
- Plancha de calentamiento IKA C-MAG HS7
- Plancha de agitación MULTISTIRRER
- Liofilizador CHRIST

3.2.4. Equipos de bioseguridad

- Mascarillas KN95
- Guantes de nitrilo
- Gafas
- Mandil
- Cofias desechables
- Alcohol antiséptico
- Toallas de papel
- Jabón líquido de manos

3.2.5. Reactivos

- Etanol (96%, 86%, 76%)
- Agua destilada
- Formaldehído 37% CH₂O
- Cloruro de sodio NaCl
- Ácido acético CH₃COOH

- Peróxido de hidrógeno H₂O₂
- Hidróxido de sodio NaOH
- Kit Bradford

3.3. Métodos

3.3.1. Factores en estudio

En la presente investigación se consideró 2 factores; factor A (Solución extractora: Porcentaje de etanol), factor B (Temperatura de enfriamiento: °C), el caso estudio es determinar con que porcentajes de soluciones extractoras y temperaturas de enfriamiento será el mejor tratamiento de obtención de la enzima actinidina y bromelina.

Tabla 7.

Factor de Estudio

Factor	Código	Niveles
Solución extractora (Porcentaje de etanol)	A	a1 = Solución de etanol al 96%
		a2 = Solución de etanol al 86%
		a3 = Solución de etanol al 76%
Temperatura de enfriamiento	B	b1= -5°C
		b2 = -10°C

3.3.2. Tratamientos

Tabla 8.

Tratamientos

Tratamientos	Código	Descripción del nivel (Concentraciones de enzimas)
T1	a1b1	Solución de etanol: 96% ; -5°C
T2	a1b2	Solución de etanol: 96% ; -10°C
T3	a2b1	Solución de etanol: 86% ; -5°C
T4	a2b2	Solución de etanol: 86% ; -10°C
T5	a3b1	Solución de etanol: 76% ; -5°C
T6	a3b2	Solución de etanol: 76% ; -10°C
T7	a1b1	Solución de etanol: 96% ; -5°C

Tratamientos	Código	Descripción del nivel	
		(Concentraciones de enzimas)	
T8	a1b2	Solución de etanol: 96%	; -10°C
T9	a2b1	Solución de etanol: 86%	; -5°C
T10	a2b2	Solución de etanol: 86%	; -10°C
T11	a3b1	Solución de etanol: 76%	; -5°C
T12	a3b2	Solución de etanol: 76%	; -10°C
T13	a1b1	Solución de etanol: 96%	; -5°C
T14	a1b2	Solución de etanol: 96%	; -10°C
T15	a2b1	Solución de etanol: 86%	; -5°C
T16	a2b2	Solución de etanol: 86%	; -10°C
T17	a3b1	Solución de etanol: 76%	; -5°C
T18	a3b2	Solución de etanol: 76%	; -10°C

3.3.3. Características del experimento

Tabla 9.

Características del experimento desarrollado

Características del experimento	Detalle
Factor de estudio	2
Factor A	Solución extractora
Factor B	Temperatura de enfriamiento
Nivel A	3
Nivel B	2
Réplicas	3
Unidades experimentales	18
Factor en estudio	Concentraciones
Tamaño unidad experimental	10 gr
VARIABLES DE RESPUESTA	5

3.3.4. Variables de respuesta

Tabla 10.

Variables de respuesta

N°	Mediciones	Equipo/Norma Analizada/Método
1	Cuantificación proteica	Bradford
2	Actividad enzimática	Digestión de gelatina
3	Ph	pH-metro / INEN-ISO 2917
4	Capacidad de Retención de agua (CRA)	Técnica de la centrifugación a baja o alta velocidad
5	Análisis instrumental de textura	Texturómetro Brookfield

3.3.4.1. Cuantificación proteica Bradford

La cuantificación proteica se realizó mediante el método Bradford, midiendo la absorbancia con una longitud de onda de 595 nm en espectrofotómetro de luz ultravioleta (Bradford, 1976).

Procedimiento de la Cuantificación proteica Bradford

- Se preparó diluciones estándar de proteína de 25, 50, 75 y 100 ug/ml, usando la solución de dilución:
En 4 tubos tipos Eppendorf, se añadió 5, 10, 15 y 20 ul del estándar de proteína (0.5 mg/ml) y se completó el volumen de 100 ul con la solución de dilución, en otro tubo se añadió 100 ul de la solución de dilución, este hace referencia al Blanco.
- Para cada tratamiento se preparó por separado 10 mg de cada enzima con 1000 ul de agua destilada y se agitó en el agitador vórtex hasta que se homogenice las muestras.
- De las muestras homogenizadas se tomó 50 ul y se añadió a cada tubo 100 ul del reactivo de Bradford y se mezcló con agitadores vórtex, luego se incubaron la reacción a temperatura ambiente por 2 minutos.
- Se tomó 0,25 ul de cada tratamiento por separado y se midió la absorbancia a 595 nm (A595) en un espectrofotómetro, en un plazo no mayor de 1 hora.
- Se realizó la curva de calibración estándar graficando la absorbancia de 595 nm vs la concentración de proteína estándar.

- Se determinó la concentración de proteína en las muestras a partir de la curva de calibración estándar y los valores de absorbancia de 595 nm, si la concentración es muy alta queda fuera del rango del estándar.

3.3.4.2. Actividad enzimática

La actividad enzimática se determinó mediante el método de digestión de gelatina. Para el procedimiento se tomó 0.05 gr de extracto de enzima (bromelina o actinidina), se añadió una solución de 25 ml de gelatina (5%) y se incubó por 20 minutos a 45°C, al finalizar el tiempo se agregó 0.1 ml de peróxido de hidrógeno (Na₂O₂) a la mezcla se incubó por 5 minutos, luego se midió el pH para ajustarlo a 6.0 con Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N, seguidamente se agregó 10 ml de formaldehído se esperó por un minuto. Finalmente se tituló hasta alcanzar un pH 9.0 con una solución de NaOH 0.1 N y se registró el volumen gastado (Ortigoza Rodríguez & Henández Tapia, 2020). La unidad de gelatina digerida (GDU) se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$GDU = \frac{(T - B) * 14 * N * 50}{\text{proteína en gramos}}$$

Ecuación 1. Digestión de gelatina digerida

Donde

GDU = Digestión de gelatina digerida

T = Volumen para la extracción

B = Volumen del Blanco

N = La normalidad del NaOH usado

3.3.4.3. pH

Se estableció el método mediante la norma INEN-ISO 2917, que hace referencia a la medición de pH – método de preferencia (IDT) de todo tipo de carnes y productos cárnicos incluyendo aves de corral, el producto puede ser homogenizado, también puede ser aplicado para las mediciones no destructivas de la carne en canal, cuartos y músculos (INEN, 2013).

Procedimiento de la medición de pH

- Se pesó 10 g de carne res la parte de la falda, se maceró durante 5 minutos, los tratamientos (0% - 0%; 0% - 100%; 100% - 0%; 50% - 50%).

- Se añadió 100 ml de agua destilada y luego se procedió a moler en una licuadora por 2 minutos.
- Se estandarizó el pH del potenciómetro con solución buffer hasta que alcance un pH de 6.
- Se filtró las muestras con papel filtro para eliminar el tejido conectivo o se dejó en reposo hasta que precipite el tejido conectivo.
- Se procedió a determinar el pH del filtrado, luego se enjuagó el electrodo con agua destilada para medir el pH de cada muestra.

3.3.4.4. Capacidad de Retención de agua (CRA)

La (CRA) es un parámetro físico-químico que determina la calidad de la carne, está relacionada con la textura, terneza, color de la carne cruda, jugosidad y firmeza de la carne cocinada, los músculos post-rigor contienen sobre un 70% de agua dependiendo del contenido lipídico y madurez del músculo (Álvarez & Adema, 2018).

Procedimiento de la capacidad de retención de agua (CRA)

- Se pesó 10 gr de carne, se picó y luego se pesó 5 gr de carne molida para dejar en reposo durante 5 minutos a cada uno de los tratamientos (0% - 0%; 0% - 100%; 100% - 0%; 50% - 50%), luego cada muestra se colocó en dos tubos de centrifuga.
- En cada uno de los tubos se añadió 8 ml de solución de 0,6 M del cloruro de sodio, después se agitó con una varilla por un lapso de 1 minuto.
- Se dejó en reposo en un baño de hielo por 30 minutos.
- Se agitó las muestras en el agitador vórtex por 1 minuto, pasado este tiempo se colocó en la centrifugadora a 3000 rpm por 15 minutos.
- Se decantó el sobrenadante en una probeta para medir el volumen no retirado de los 8 ml de solución de cloruro de sodio.
- Se anotó la cantidad de ml de solución retenida por 100 gr de muestra.

$$CRA \left(\frac{g H_2O \text{ retenida}}{100 g H_2O} \right) = \frac{(m1 \times H) - (m2 - m3)}{(m1 \times H)} \times 100$$

Ecuación 2. *Capacidad de retención de agua*

Donde:

CRA: Capacidad de retención de agua

g H₂O: Gramos de agua.

m_1 : Masa de la muestra.

m_2 : Masa del papel del filtro húmedo.

m_3 : Masa del papel del filtro seco.

H : Contenido de humedad de la muestra.

3.3.4.5. Análisis instrumental de textura (Texturómetro Brookfield)

El análisis de textura hace referencia a la medición de las propiedades de un producto alimenticio las cuales están relacionadas a las propiedades sensoriales detectadas por los seres humanos, el método de Texturómetro Brookfield tiene una celda de carga de 0.044 Kn que detecta cada 0.5 N, por medio de este equipo se realiza mediciones mediante la aplicación de fuerzas controladas que hace una simulación de las acciones de masticabilidad, ocasionando una fuerza cortante en la muestra (Acosta Granda, 2013).

Procedimiento del análisis instrumental de textura a través del equipo Texturómetro Brookfield

Se tomó 150 gr de muestra de carne con sus respectivas concentraciones (0% - 0%; 0% - 100%; 100% - 0%; 50% - 50%) de las enzimas ablandadoras (bromelina y actinidina) posteriormente se refrigeró a una temperatura de 6°C por 24 horas, luego las muestras fueron retiradas de la refrigeración hasta que alcance la temperatura ambiente de 20°C, previamente el equipo debe estar calibrado y programado con los parámetros a analizar, luego se colocó las muestras en la placa del equipo y se introdujo la celda de cizalla Kramer (TA-KSC) también conocida como sonda, dando inicio en la computadora, se esperó hasta que arroje los resultados en forma de curvas.

3.4. Diseño experimental

Se aplicó un Diseño completamente aleatorizado (DCA), en arreglo factorial A x B (3x2) con 3 repeticiones.

Modelo matemático del diseño

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Ecuación 3. Modelo matemático para un DCA

Dónde:

Y_{ij} = Variable sujeta de medición

μ = Media General

A_i = Efecto del Factor A

B_j = Efecto del Factor B

AB_{ij} = Efecto de la Interacción (A x B)

ε_{ij} = Efecto del Error Experimental

3.4.1. Modelo de ANOVA

Para la determinación de las diferencias entre los tratamientos se realizó un análisis de varianza.

Tabla 11.

Contenido del modelo de ANOVA

Fuente de Variabilidad	Suma de Cuadrados	G.L	Cuadrado Medio	F_0	Valor-P
Efecto A	SC_A	$a - 1$	CM_A	CM_A / CM_E	$P(F > F_0^A)$
Efecto B	SC_B	$b - 1$	CM_B	CM_B / CM_E	$P(F > F_0^B)$
Efecto AB	SC_{AB}	$(a - 1)(b - 1)$	CM_{AB}	CM_{AB} / CM_E	$P(F > F_0^{AB})$
Error	SC_B	$ab(n - 1)$	CM_E		
Total	SC_T	$abn - 1$			

Donde:

SC_A = Suma de cuadrados del Factor A

SC_B = Suma de cuadrados del Factor B

SC_{AB} = Suma de cuadrados del Factor A - B

CM_A = Cuadrados Medios de A

CM_B = Cuadrados Medios de B

CM_{AB} = Cuadrados Medios de A – B

CM_E = Cuadrados Medios del Error

3.4.2. Modelo de Pruebas de rangos múltiples

Método Tukey HSD (diferencia mínima significativa)

$$H_0: \mu_i = \mu_j$$

$$H_A: \mu_i \neq \mu_j$$

$$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_j| > q_{t,N-t}(\alpha) \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)} = HSD$$

Si el diseño es balanceado, la diferencia mínima significativa se reduce a:

$$HSD = q_{t,N-t}(\alpha) \sqrt{2CM_E/n}$$

Ecuación 4. Modelo matemático para un diseño factorial AXB

Dónde:

N = Número de total de observaciones.

t = Número de niveles del Factor.

$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_j|$ = Valor absoluto entre las medias muestrales.

$q_{t,N-t}(\alpha)$ = Tablas de la distribución T de Student con $N - t$ grados de libertad y con el nivel de significancia (α).

CM_E = Cuadrado medio del error que se obtiene de la tabla de ANOVA.

n_i y n_j = Tamaño de muestra de cada nivel del factor

3.5. Hipótesis Estadísticas

Hipótesis Nula

- H_0 : Al menos una de las concentraciones obtenidas de bromelina y actinidina aplicadas como aditivo en la carne no disminuyo su dureza.

Hipótesis Alternativa

- Hi: Las concentraciones obtenidas de bromelina y actinidina aplicadas como aditivo en la carne disminuyeron su dureza.

3.6. Metodología Experimental

3.6.1. Caracterización física de las frutas

- **Peso y dimensiones**

Para la piña hawaiana y el kiwi verde se pesó en una balanza Camry, determinando así el peso inicial, también se realizó la medición de largo y ancho de cada fruta.

- **pH**

Se calibró el pH-metro con la solución buffer hasta alcanzar un pH de 7, luego se procedió a colocar el jugo de cada fruta en un vaso de precipitación y se introdujo el pH-metro, después de ello se esperó 1 minuto hasta que se estabilice la lectura para registrar el resultado.

- **Grados brix (°B)**

Se procedió a exprimir la fruta para colocar una gota de jugo en el refractómetro, se esperó un minuto para obtener el resultado, este proceso se realizó por separado para cada fruta.

3.6.2. Proceso de extracción de actinidina y bromelina mediante precipitación alcohólica

a. Recepción de la materia prima

Las frutas fueron adquiridas del mercado 10 de noviembre del cantón Guaranda, el kiwi verde es proveniente de Mindo que pertenece a la Provincia de Pichincha y la piña hawaiana es proveniente de Milagro que pertenece a la Provincia del Guayas.

b. Selección de la materia prima

Se seleccionó las piñas hawaianas y kiwis verdes con un estado de madurez de 3 (semimadura), siendo un estado óptimo de madurez para este tipo de análisis.

c. Lavado de la materia prima

Una vez seleccionadas las frutas (kiwi verde y piña hawaiana) se procedió a lavarlas con agua potable para eliminar cualquier tipo de impurezas que puedan estar adheridas a la cáscara.

d. Pelado

Las frutas (kiwi verde y piña hawaiana) se pelaron a mano con cuchillos domésticos para separar la corteza, el tallo y la pulpa.

e. Troceado y pesado

Se realizó el troceado de la materia prima por separado, para obtener un peso de 2 kg de kiwi verde y 2 kg de piña hawaiana.

f. Licuado

Se colocó en una licuadora los trozos de la fruta de forma individual para triturar la fruta, luego se procedió a medir el volumen de pulpa en una probeta.

g. Adición de etanol

Una vez obtenida la pulpa de kiwi verde y de piña hawaiana se añadió etanol con un grado de pureza de 96%; 86%; 76% en relación a 1:1.5 (pulpa: etanol) y se homogenizó la suspensión.

h. Enfriamiento y reposo

Las muestras fueron llevadas a enfriamiento a una temperatura de (-5°C; -10°C) y se dejó en reposo por un período de 4 días, después de este período se retiró las muestras hasta que alcance la temperatura ambiente (20 °C).

i. Centrifugado

Las muestras se centrifugaron a 6000 rpm durante 25 minutos, una vez concluido el proceso de centrifugación se colocó en los tubos de ensayo para ser llevados a refrigeración, después se las dejó en reposo durante 48 horas a una temperatura de 10° C, una vez concluido el tiempo de reposo se retiró los tubos de la nevera para que alcance la temperatura ambiente (20 °C).

j. Congelado

Una vez centrifugada las muestras se llevó a congelación a una temperatura de -20°C por un lapso de 4 días.

k. Liofilizado

Una vez concluido el tiempo de congelación se retiró las muestras para colocarlas el papel filtro en forma de tapa en la parte superior del tubo falcón sujetándola con una liga, seguidamente se colocó las muestras en la cámara con bandejas calefactables para estabilizar las muestras por 20 minutos, seguidamente se dio inicio a la fase principal o inicial del proceso dejando por 4 días, una vez transcurrido este tiempo pasa a la fase final por 2 días a una temperatura de -42°C .

l. Pulverizado

Una vez liofilizadas las muestras se procedió a triturarlas con un mortero para obtener partículas sueltas y así lograr una mezcla más homogénea.

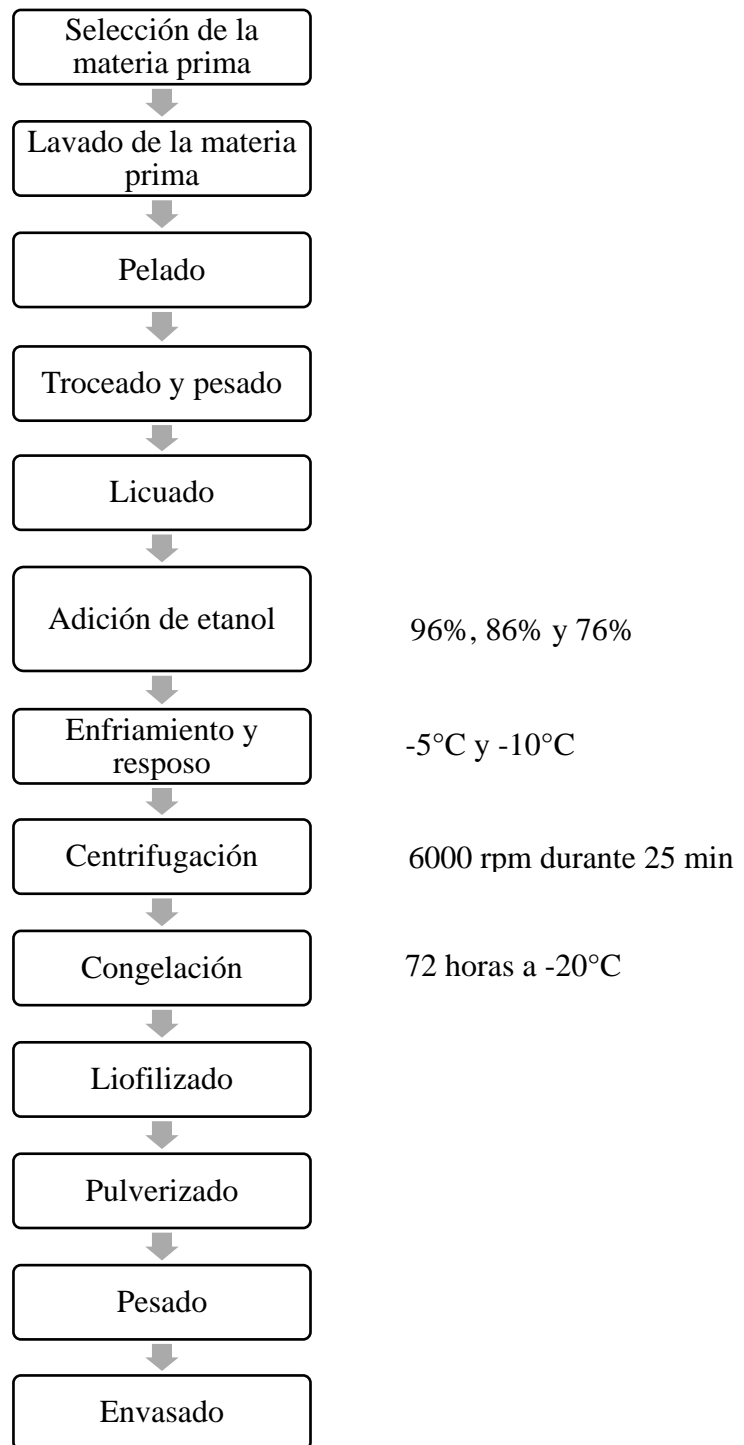
m. Pesado

Se pesó las muestras en una balanza para obtener un peso más preciso y poder sacar los rendimientos de cada tratamiento.

n. Envasado

Se colocaron las muestras obtenidas en un recipiente de vidrio previamente esterilizado para conservarlas en óptimas condiciones.

3.6.2.1. Diagrama de flujo del proceso de obtención de actinidina y bromelina



3.6.3. Proceso del ablandamiento de la carne de res con diferentes tratamientos

a) Recepción de materia prima

La carne de res es obtenida del mercado 10 de noviembre de la ciudad de Guaranda, Provincia de Bolívar-Ecuador.

b) Selección de la materia prima

El tipo de carne que se utilizó es falda de res con un tiempo de 24 horas de postmortem, este tipo de corte seleccionado es relativamente duro.

c) Corte y peso

Al corte falda de res se le realizó un corte moderado que contenga un peso de 150 gr aproximadamente para cada tratamiento y se le añadió el aditivo natural en diferentes concentraciones.

d) Preparación de los tratamientos

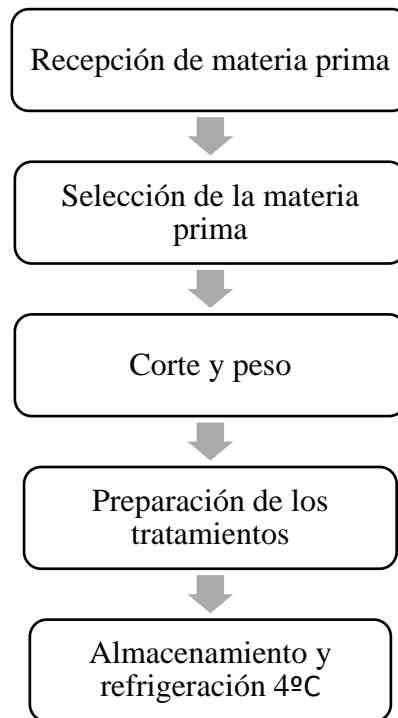
Se adicionó el 3% del aditivo natural conteniendo las enzimas actinidina y bromelina con diferentes concentraciones (0% - 0%; 0% - 100%; 100% - 0%, 50% - 50%) a la carne, luego de ello se mezclaron en diferentes recipientes con las porciones indicadas de cada tratamiento, los cuales fueron rotulados de acuerdo a las concentraciones.

e) Almacenamiento y refrigeración

Las muestras de carne con las diferentes concentraciones de enzimas proteolíticas se llevaron a refrigeración a una temperatura de 4°C por un lapso de 24 horas.

A cada una de las muestras se les realizó el análisis de textura (Texturómetro Brookfield), en el laboratorio de control y análisis de alimentos (LACONAL) de la Universidad Técnica de Ambato.

3.6.3.1. Diagrama de flujo del ablandamiento de la carne de res con diferentes tratamientos



CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización física de las frutas antes del proceso de extracción de las enzimas actinidina y bromelina

La caracterización física de las frutas se las realizó antes de ser procesada, donde debe cumplir con sus características organolépticas óptimas como la madurez fisiológica, el contenido de azúcar y su acidez, esto permite estandarizar la calidad que posee la materia prima y su influencia en el producto.

Tabla 12.

Valores de medición de la materia prima

Materia prima	Estado de madurez	Peso (Lb)	Largo (cm)	Ancho (cm)	°Brix	pH
Kiwi verde	3	4	6	3	12	3,45
Piña hawaiana	3	7,50	25	12,50	12	3,93

Para la determinación del estado de madurez se recolectó 50 unidades de kiwi verde con un peso total de 4 libras, el estado de madurez es de 3, que corresponde a semimadura, con 12 °Brix datos que se asemejan a lo reportador por (Sharma & Vaidya, 2018) y un pH de 3,45; cuyos valores se encuentran dentro del rango establecido según el Codex alimentarius 338-2020 para frutas semimaduras.

Para la piña hawaiana se escogió 4 unidades con un peso total de 7,50 libras, dándonos un valor de 12 grados Brix y un pH de 3,93; valores que se encuentran dentro del rango establecido según el Codex alimentarius 182-1993 y normativa INEN 1836, asemejándose a los valores reportados por (Salgado Tello & Flores Mancheno, 2020).

4.1.1. Extracción enzimática de kiwi verde y piña hawaiana mediante precipitación alcohólica

En la extracción enzimática mediante la precipitación alcohólica, se empleó este método para extraer concentraciones puras añadiendo etanol, considerado como solvente alternativo o natural.

En las siguientes tablas se muestra los valores obtenidos de los pesos de enzimas liofilizadas de los diferentes tratamientos aplicados.

Tabla 13.

Valores obtenidos de los pesos de la enzima actinidina liofilizada

Tratamientos	Código	Réplicas			Peso promedio (gr)
		R1	R2	R3	
T1	a1b1	2,15	2,30	2,35	2,27
T2	a1b2	2,36	2,33	2,41	2,37
T3	a2b1	2,34	2,45	2,62	2,47
T4	a2b2	2,39	2,57	2,55	2,50
T5	a3b1	2,26	2,20	2,36	2,27
T6	a3b2	2,18	2,22	2,23	2,21

Tabla 14.

Valores obtenidos de los pesos de la enzima bromelina liofilizada

Tratamientos	Código	Réplicas			Peso promedio (gr)
		R1	R2	R3	
T1	a1b1	2,05	2,13	2,11	2,10
T2	a1b2	2,15	2,19	2,18	2,17
T3	a2b1	2,14	2,11	2,17	2,14
T4	a2b2	2,25	2,22	2,26	2,24
T5	a3b1	2,26	2,20	2,24	2,23
T6	a3b2	2,19	2,16	2,15	2,17

Como se puede observar en la tabla 13 el mayor rendimiento de enzima actinidina liofilizada se obtuvo en el tratamiento 4 con un promedio de 2,50 gramos y en la tabla 14 la mayor concentración de enzima bromelina liofilizada está en el tratamiento 4 con un promedio de 2,24 gramos.

4.2. Cuantificación proteica de las enzimas actinidina y bromelina

La determinación de proteínas por el método Bradford, consiste en la concentración de enzimas que es un método óptimo para saber el contenido de proteína en frutas, este método calorímetro se basa en el cambio de la absorbancia usando un espectrofotómetro que digiere la luz de una longitud de onda a través de la muestra midiendo la cantidad de luz que absorbe.

En la tabla 15 se muestran los valores de absorbancia (595nm) a diferentes concentraciones de enzimas de actinidina y bromelina

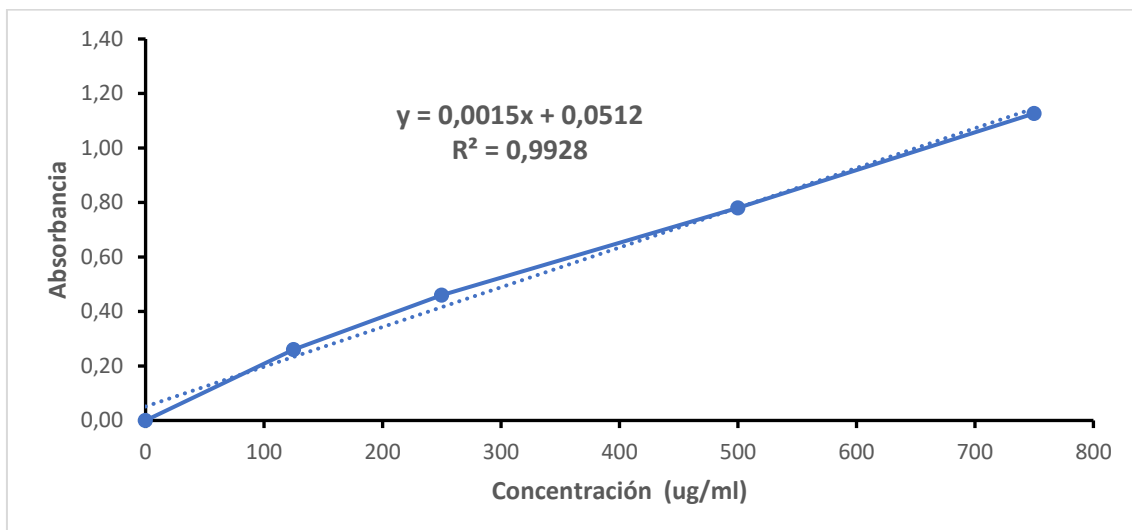
Tabla 15.

Valores de la curva de calibración

Concentración (ug/ml)	Absorbancia (595nm)
0	0,00
125	0,26
250	0,46
500	0,78
750	1,13

Figura 1.

Curva de calibración de acuerdo a la absorbancia y concentraciones de proteína estándar



En la figura 1 se muestra el R cuadrado o coeficiente de determinación donde nos indica que tan cerca están las coordenadas a la línea de la pendiente, entre más cerca quiere decir que existe una correlación más exacta y precisa de los valores de absorbancia con los valores de concentraciones de la proteína, obteniendo así una curva de calibración de la proteína estándar.

Tabla 16.*Valores obtenidos de la cuantificación proteica de actinidina*

Código	Réplicas	Absorbancia $\lambda=595$ nm	ug/mL	Peso muestra (g)	Volumen Diluido (mL)	ug proteína/gr muestra	mg proteína/gr muestra	Promedio
a1b1	R1	0,30	167,46	0,01	1,00	16745,59	16,75	14,98
	R2	0,28	153,75	0,01	1,00	14235,78	14,24	
	R3	0,26	145,18	0,01	1,00	13959,43	13,96	
a1b2	R1	0,27	149,29	0,01	1,00	14354,89	14,35	14,70
	R2	0,27	151,69	0,01	1,00	14585,58	14,59	
	R3	0,28	157,52	0,01	1,00	15145,82	15,15	
a2b1	R1	0,27	150,32	0,01	1,00	14453,76	14,45	13,59
	R2	0,24	128,04	0,01	1,00	12311,66	12,31	
	R3	0,26	145,52	0,01	1,00	13992,38	13,99	
a2b2	R1	0,28	156,83	0,01	1,00	15079,91	15,08	15,67
	R2	0,31	173,97	0,01	1,00	16727,68	16,73	
	R3	0,28	158,20	0,01	1,00	15211,73	15,21	
a3b1	R1	0,20	99,94	0,01	1,00	9609,32	9,61	10,78
	R2	0,21	108,16	0,01	1,00	10400,25	10,40	
	R3	0,24	128,38	0,01	1,00	12344,62	12,34	
a3b2	R1	0,24	125,98	0,01	1,00	12113,93	12,11	11,60
	R2	0,25	135,24	0,01	1,00	13003,72	13,00	
	R3	0,20	100,62	0,01	1,00	9675,23	9,68	

Tabla 17.*Análisis de Varianza de cuantificación proteica mg proteína/g muestra de actinidina*

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS					
PRINCIPALES					
A: Soluciones Extractoras	50,37	2	25,18	15,80	0,0004*
B: Temperaturas de enfriamiento	3,42	1	3,42	2,15	0,1685
INTERACCIONES					
AB	4,24	2	2,12	1,33	0,3006
RESIDUOS	19,13	12	1,59		
TOTAL (CORREGIDO)	77,17	17			

*Significancia

** Altamente significativo

En la tabla 17 se muestra el análisis de varianza (ANOVA), el cual descompone la variabilidad de actinidina en contribuciones a varios factores A y B, así como también la interacción AxB, los valores de probabilidad prueban la significancia estadística de cada uno de los factores, para el análisis de efecto que tiene sobre la variable de cuantificación proteica de la enzima actinidina, se toma en consideración el factor A, cuyo resultado es significativo demostrando el efecto que tiene este factor sobre la variable de cuantificación proteica de enzima actinidina.

Tabla 18.

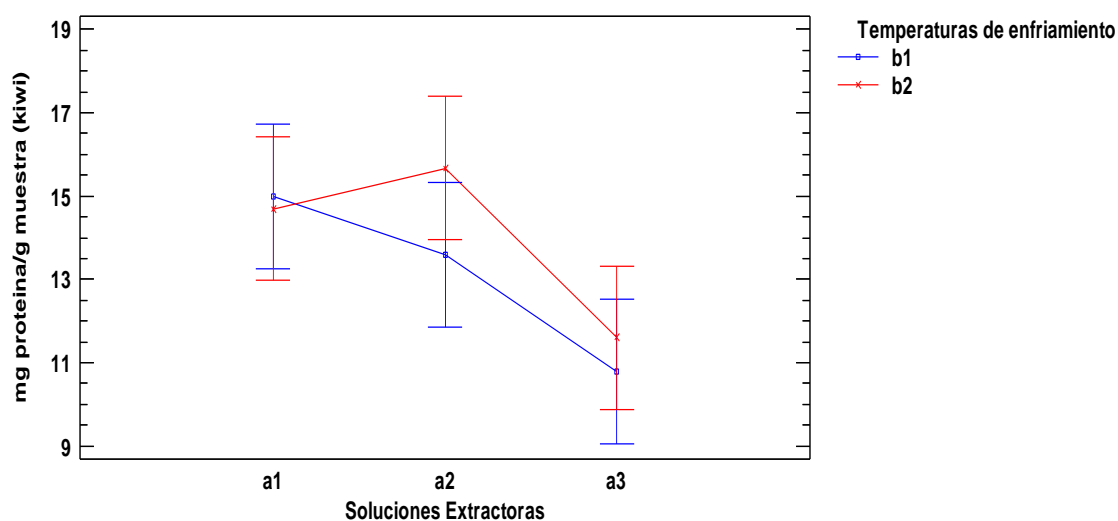
Pruebas de Múltiple Rangos Tukey HSD para cuantificación proteica mg proteína/gr muestra de actinidina por soluciones extractoras y temperaturas de enfriamiento

Código	Media LS	Grupos Homogéneos
a2b2	15,6733	X
a1b1	14,9833	X
a1b2	14,6967	X
a2b1	13,5833	XX
a3b2	11,5967	XX
a3b1	10,7833	X

En la tabla 18 se presenta la significancia estadística, es por ello que se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey, de acuerdo a los datos obtenidos, donde se puede evidenciar que el tratamiento sea eficaz para obtener el promedio más alto de proteína con la solución de etanol al 86% y la temperatura de enfriamiento de -10°C obteniendo un valor de 15,67 mg de proteína/gr de muestra.

Figura 2.

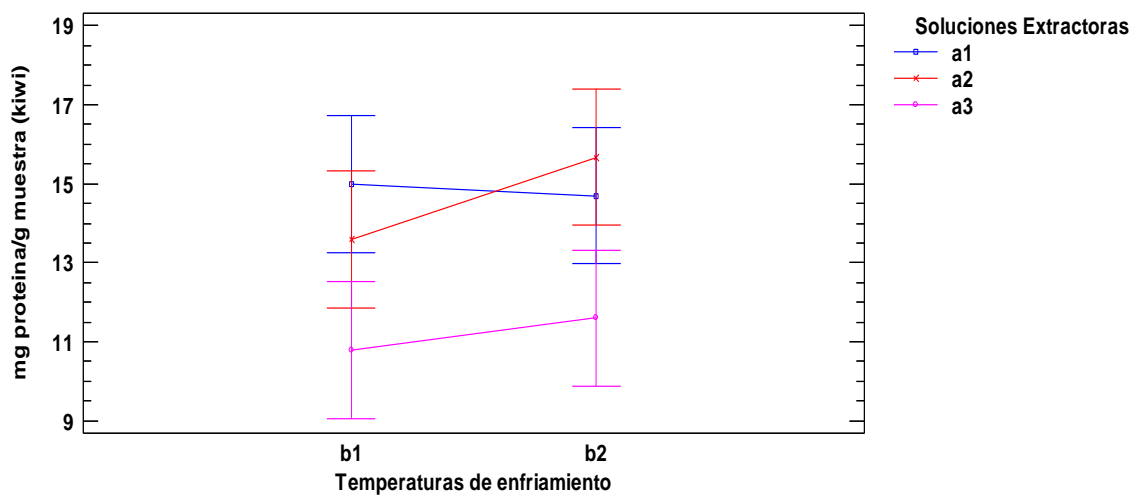
Interacciones del factor A y el factor B por cuantificación proteica mg proteína/gr muestra de actinidina



En la figura 2 se puede observar que existe una interacción entre el factor A y el factor B, por lo tanto, son factores dependientes, donde se puede evidenciar que existe 2 grupos homogéneos según la alineación de las columnas B, no existe diferencia estadística significativa entre aquellos niveles que compartan una misma columna de A.

Figura 3.

Interacciones de los niveles del factor B y el factor A por cuantificación proteica mg proteína/gr muestra de actinidina



En la figura 3 se observa la interacción de los niveles del factor A, que es significativamente diferentes de otras, donde se puede evidenciar que existe 1 grupo homogéneo según la alineación de las columnas A.

Los valores promedios de la cuantificación de proteína por el método Bradford obtenidos de la actinidina fueron comparados con (Wang, Wang, Kranthi Vanga, & Ragh, 2021) el valor de proteína es de 14,98 mg de proteína/gr de muestra, esto se debe a cambios dependiendo su estado de madurez del kiwi, si se encuentra en su estado más verde el contenido de proteínas es alto, así como también su fácil manipulación.

Tabla 19.*Valores del contenido de proteína obtenidos de bromelina*

Código	Réplicas	Absorbancia $\lambda=595$ nm	ug/ml	Peso muestra (g)	Volumen Diluido (ml)	ug proteína/gr muestra	mg proteína/ g muestra	Promedio
a1b1	R1	0,32	184,25	0,01	1,00	18424,99	18,42	19,66
	R2	0,38	225,38	0,01	1,00	20868,35	20,87	
	R3	0,35	204,81	0,01	1,00	19693,66	19,69	
a1b2	R1	0,26	143,12	0,01	1,00	13761,70	13,76	15,34
	R2	0,29	166,43	0,01	1,00	16002,66	16,00	
	R3	0,30	169,17	0,01	1,00	16266,30	16,27	
a2b1	R1	0,39	232,23	0,01	1,00	22330,09	22,33	22,15
	R2	0,39	229,49	0,01	1,00	22066,44	22,07	
	R3	0,39	229,49	0,01	1,00	22066,44	22,07	
a2b2	R1	0,30	171,91	0,01	1,00	16529,95	16,53	16,57
	R2	0,29	162,31	0,01	1,00	15607,20	15,61	
	R3	0,32	182,88	0,01	1,00	17584,52	17,58	
a3b1	R1	0,36	214,41	0,01	1,00	20616,41	20,62	20,62
	R2	0,36	213,04	0,01	1,00	20484,59	20,48	
	R3	0,37	215,78	0,01	1,00	20748,23	20,75	
a3b2	R1	0,25	133,53	0,01	1,00	12838,95	12,84	11,52
	R2	0,22	115,70	0,01	1,00	11125,27	11,13	
	R3	0,21	110,22	0,01	1,00	10597,98	10,60	

Tabla 20.*Análisis de Varianza para cuantificación proteica mg proteína/gr muestra de bromelina*

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS					
PRINCIPALES					
A: Soluciones Extractoras	32,75	2	16,37	16,99	0,0003**
B: Temperaturas de enfriamiento	180,37	1	180,37	187,16	0,0000**
INTERACCIONES					
AB	18,37	2	9,18	9,53	0,0033*
RESIDUOS	11,56	12	0,96		
TOTAL (CORREGIDO)	243,06	17			

*Significancia

** Altamente significativo

En la tabla 20 se muestra el análisis de varianza (ANOVA), el cual descompone la variabilidad de bromelina en contribuciones a varios factores A y B, como también la interacción AxB, los valores de probabilidad prueban la significancia estadística de cada uno de los factores, para el análisis de efecto que tiene sobre la variable de cuantificación proteica de la enzima bromelina, se toma en consideración el factor A y B, cuyo resultado es altamente significativo, es decir existe significancia entre la interacción AxB demostrando el efecto que tiene sobre la variable de cuantificación proteica de enzima bromelina.

Tabla 21.

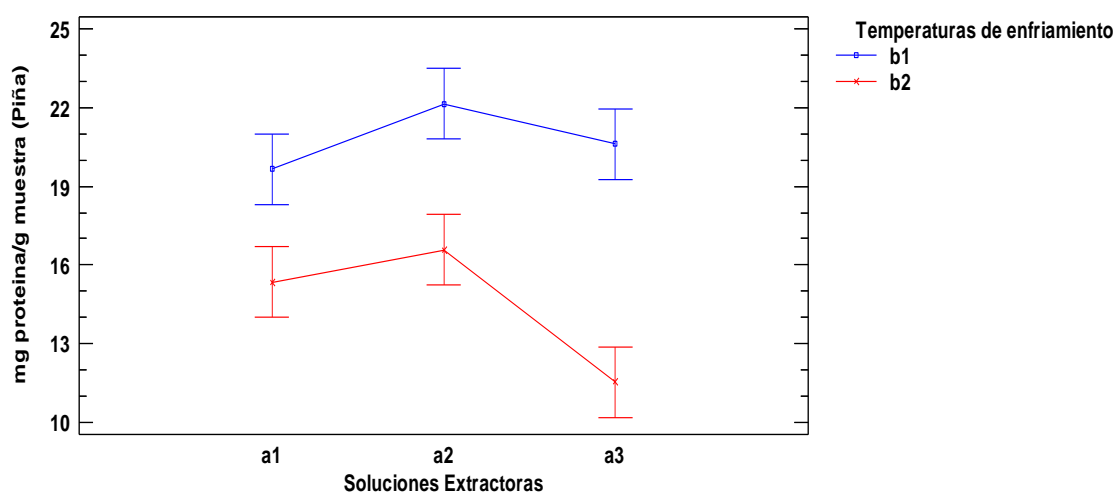
Pruebas de Múltiple Rangos Tukey HSD para cuantificación proteica mg proteína/g muestra de bromelina por soluciones extractoras y temperaturas de enfriamiento

Código	Media LS	Grupos Homogéneos
a2b1	22,1567	X
a3b1	20,6167	XX
a1b1	19,66	X
a2b2	16,5733	X
a1b2	15,3433	X
a3b2	11,5233	X

En la tabla 21 se presenta la significancia estadística, es por ello que se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey, de acuerdo a los datos obtenidos se puede evidenciar que el tratamiento sea eficaz para obtener el promedio más alto de proteína con la solución de etanol al 86% y la temperatura de enfriamiento de -5 obteniendo un valor de 22,15 mg de proteína/gr de muestra.

Figura 4.

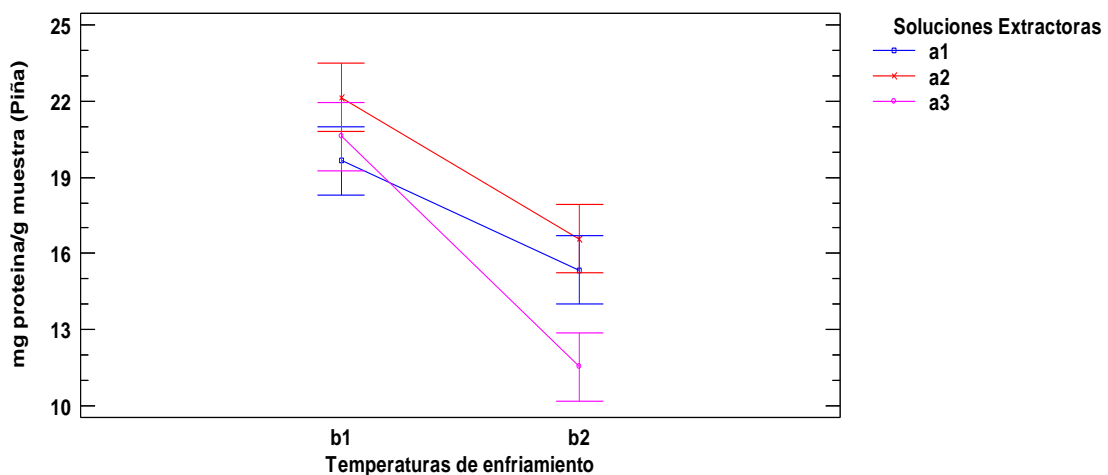
Interacciones del factor A y del factor B por cuantificación proteica mg proteína/gr muestra de bromelina



En la figura 4 se puede observar que existe una interacción de los niveles del factor B que son significativamente diferentes de otras, donde se evidencia que existe 2 grupos homogéneos según la alineación de las columnas B.

Figura 5.

Interacciones del factor B y el factor A por cuantificación proteica mg proteína/gr muestra de bromelina



En la figura 5 se puede observar que existe una interacción de los niveles del factor A, que son significativamente diferentes de otras, donde se evidencia que existe 2 grupos homogéneos según la alineación de las columnas A, si existe diferencia estadística significativa entre aquellos niveles que compartan una misma columna.

Los valores promedio de la cuantificación proteica por el método Bradford obtenidos de la enzima bromelina fueron comprados por (Ramos Benítez, 2021) con un valor de 19 mg de proteína/gr de muestra. Así mismo (Coello Montoya & Hidalgo Torre, 2013) se muestran con un valor de 32 mg de proteína/gr de muestra, además menciona que las concentraciones proteicas dependen del estado de madurez, para la piña entre más madura se encuentre posee mayor concentración en su composición.

4.3. Actividad enzimática de las enzimas actinidina y bromelina

La actividad enzimática es la determinación de sustrato formado por unidad de tiempo que ayuda a descomponer la cantidad de extracto ingerido o la capacidad que tiene la enzima en hidrolizar la gelatina, es por eso que se toma en cuenta las condiciones de pH y temperatura que deben estar estandarizadas para poder titular.

Tabla 22.*Valores obtenidos de la actividad enzimática de actinidina*

Código	Réplicas	pH Inicial	Volumen titulado (ml)	Volumen blanco (ml)	Registro del volumen total (ml)	DGU calculada	Promedio ml/g
a1b1	R1	5,78	6,5	6	40	1400	2427
	R2	5,85	7,3	6	45	3640	
	R3	6,02	6,8	6	40	2240	
a1b2	R1	5,86	7,3	6	45	3640	2427
	R2	6	7,5	7	38,5	1400	
	R3	5,75	7	6,2	45	2240	
a2b1	R1	6,01	7,6	6,3	43	3640	3360
	R2	6,06	7,4	6,6	40,5	2240	
	R3	6,04	8,5	7	41	4200	
a2b2	R1	5,88	7,2	6,15	42	2940	3267
	R2	5,77	7	5,9	42	3080	
	R3	5,69	7,5	6,15	44	3780	
a3b1	R1	6,05	7,55	5,8	41	4900	3407
	R2	5,99	6,5	6,1	42	1120	
	R3	6,03	8	6,5	45	4200	
a3b2	R1	5,82	6,5	6,4	41	280	3313
	R2	6,03	7,5	7	44,5	1400	
	R3	6	9,5	6,55	45	8260	

Tabla 23.*Análisis de Varianza para actinidina en actividad enzimática*

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS					
PRINCIPALES					
A: Soluciones Extractoras	3,31	2	1,65	0,38	0,6945
B: Temp. Enfriamiento	17422,20	1	17422,20	0,00	0,9509
INTERACCIONES					
AB	8711,11	2	4355,56	0,00	0,9990
RESIDUOS	5,29	12	4,41		
TOTAL (CORREGIDO)	5,63	17			

En la tabla 23 se muestra el análisis de varianza (ANOVA), el cual descompone la variabilidad de actinidina en contribuciones a varios factores A y B, como también la interacción AxB, los valores de probabilidad prueban la significancia estadística de cada uno de los factores, para el análisis de efecto que tiene sobre la variable de actividad enzimática de la enzima actinidina, no se toma en consideración ninguno de los factores debido a que no existe evidencia significativa entre los factores sobre la variable de actividad enzimática de enzima actinidina.

Tabla 24.

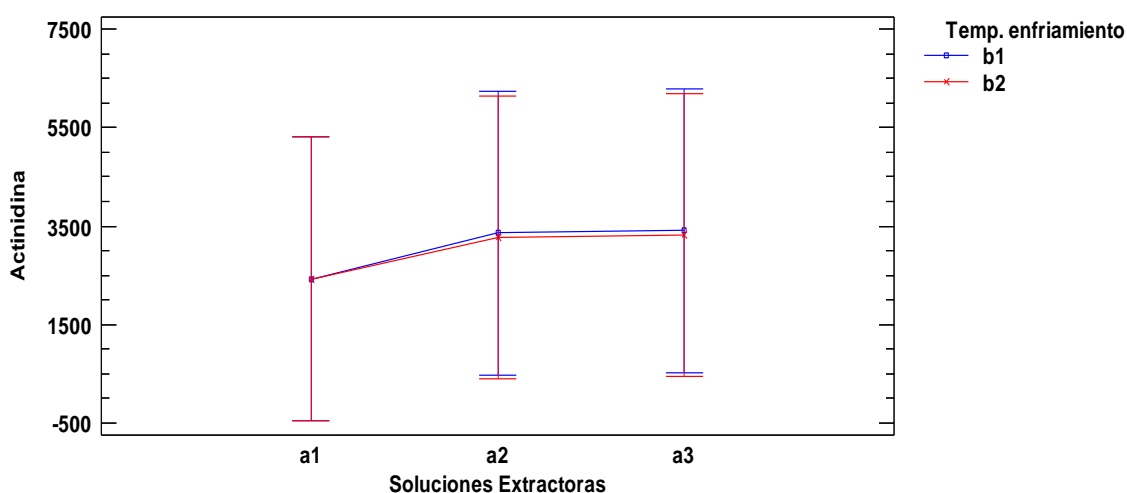
Pruebas de Múltiple Rangos para actinidina por soluciones extractoras y temperaturas de enfriamiento

Código	Media LS	Grupos Homogéneos
a3b1	3406,67	X
a2b1	3360,00	X
a3b2	3313,33	X
a2b2	3266,67	X
a1b1	2426,67	X
a1b2	2426,67	X

En la tabla 24 se ha identificado un grupo homogéneo según la alineación X` en columnas. No hay diferencia estadística significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 96% de confianza, pero existe diferencia numérica entre la media LS siendo el mejor tratamiento para obtener el promedio más alto de actividad enzimática, con la solución de etanol al 76% y la temperatura de enfriamiento de -5°C con un valor de 3407 ml/g.

Figura 6.

Gráfico de interacciones de Tukey HSD por soluciones extractoras

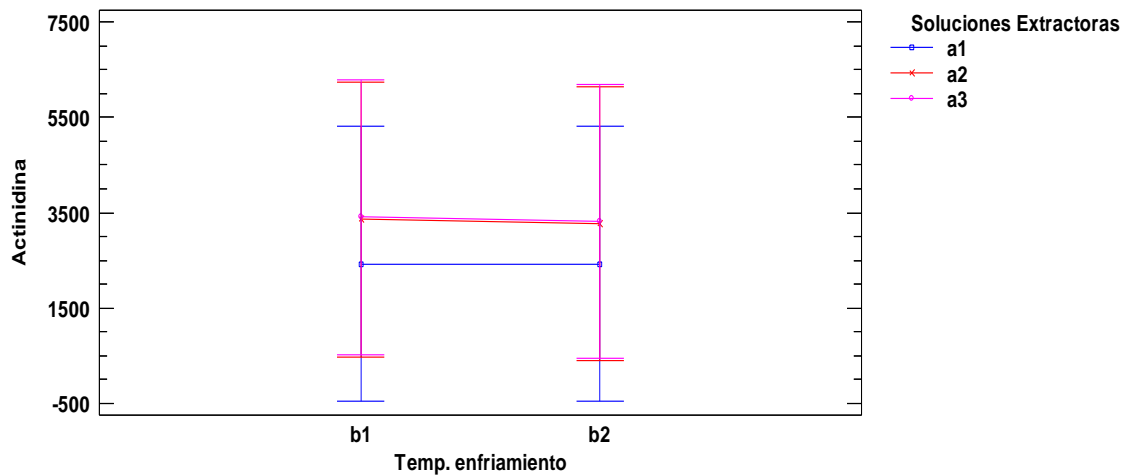


En la figura 6 se muestran la interacción de los datos obtenidos donde se puede evidenciar que las líneas de tendencia de temperaturas de enfriamiento a -5°C y -10°C se mantienen muy

unidas entre las soluciones extractoras del 96%, 86% y 76%, siendo directamente proporcional la actividad enzimática de la actinidina con las soluciones extractoras.

Figura 7.

Gráfico de interacciones de Tukey HSD por temperaturas de enfriamiento



En la figura 7 se muestran los datos obtenidos de interacción donde se puede evidenciar que las líneas de tendencia de las soluciones extractoras del 96%, 86% y 76%, se mantienen muy unidas entre las temperaturas de enfriamiento a -5°C y -10°C siendo directamente proporcional la actividad enzimática de la actinidina con las temperaturas de enfriamiento.

Los valores obtenidos de la actividad enzimática de la actinidina, como se puede observar en el tratamiento a3b1 correspondiente al precipitado de etanol del 76% a -5°C que contiene mayor concentración con 3407 DGU (Unidad de digestión de gelatina digerida) indicando así como el mejor tratamiento, difiriendo con los reportados por (Sharma & Vaidya, 2018) los cuales obtuvieron 190 BTU (Unidad de tirosina) siendo un valor menor, esto se debe que en su investigación lo realizaron la extracción por precipitado de sulfato de amonio de 40% – 60%.

Tabla 25.*Valores obtenidos de la actividad enzimática de bromelina*

Código	Réplicas	pH Inicial	Volumen titulado (ml)	Volumen blanco (ml)	Registro del volumen total (ml)	DGU calculada	Promedio
a1b1	R1	5,67	12	10	46	5600	5460
	R2	5,63	11	9	50	5600	
	R3	5,54	9	7,15	40	5180	
a1b2	R1	5,71	10	8	45	5600	4013
	R2	5,62	8,2	7,5	42	1960	
	R3	5,51	9	7,4	43	4480	
a2b1	R1	6,02	8,5	6	41	7000	4947
	R2	5,97	7,9	6,2	39	4760	
	R3	5,98	7,5	6,4	41	3080	
a2b2	R1	5,89	7,9	6,5	43	3920	4387
	R2	5,98	8,7	6,5	42	6160	
	R3	5,94	8	6,9	44	3080	
a3b1	R1	6,05	9,6	8	40	4480	3640
	R2	5,97	9,8	8,4	41	3920	
	R3	5,83	9,2	8,3	42	2520	
a3b2	R1	5,75	9,4	8	44	3920	4853
	R2	5,66	7,5	5,7	40	5040	
	R3	5,71	8	6	41	5600	

Tabla 26.*Análisis de Varianza para bromelina en actividad enzimática*

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS					
PRINCIPALES					
A: Soluciones Extractoras	842800,	2	421400,	0,22	0,8085
B: Temp. Enfriamiento	314689,	1	314689,	0,16	0,6948
INTERACCIONES					
AB	5,50	2	2,75	1,41	0,2813
RESIDUOS	2,33	12	1,94		
TOTAL (CORREGIDO)	3,00	17			

En la tabla 26 se muestra el análisis de varianza (ANOVA), el cual descompone la variabilidad de bromelina en contribuciones a varios factores A, B y la interacción AxB, los valores de probabilidad prueban la significancia estadística de cada uno de los factores, para el análisis de efecto que tiene sobre la variable de actividad enzimática de la enzima bromelina, no se toma en consideración ninguno de los factores debido a que no existe evidencia significancia entre los factores sobre la variable de actividad enzimática de enzima bromelina.

Tabla 27.*Pruebas de Múltiple Rangos para bromelina por soluciones extractoras y temperaturas de enfriamiento*

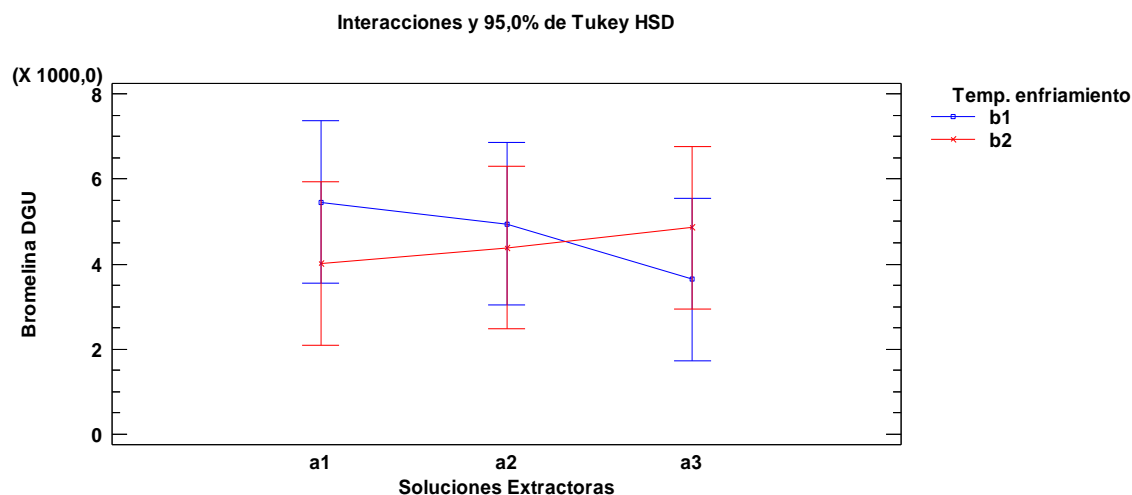
Código	Media LS	Grupos Homogéneos
a1b1	5460,0	X
a2b1	4946,67	X
a3b2	4853,33	X
a2b2	4386,67	X

Código	Media LS	Grupos Homogéneos
a1b2	4013,33	X
a3b1	3640,0	X

En la tabla 27 se ha identificado 3 grupos homogéneos, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's, pero numéricamente si existe diferencia entre media LS y como se puede observar el valor 5460 ml/g resalta como el mejor tratamiento para solución extractora al 96% y temperatura de enfriamiento -5°C.

Figura 8.

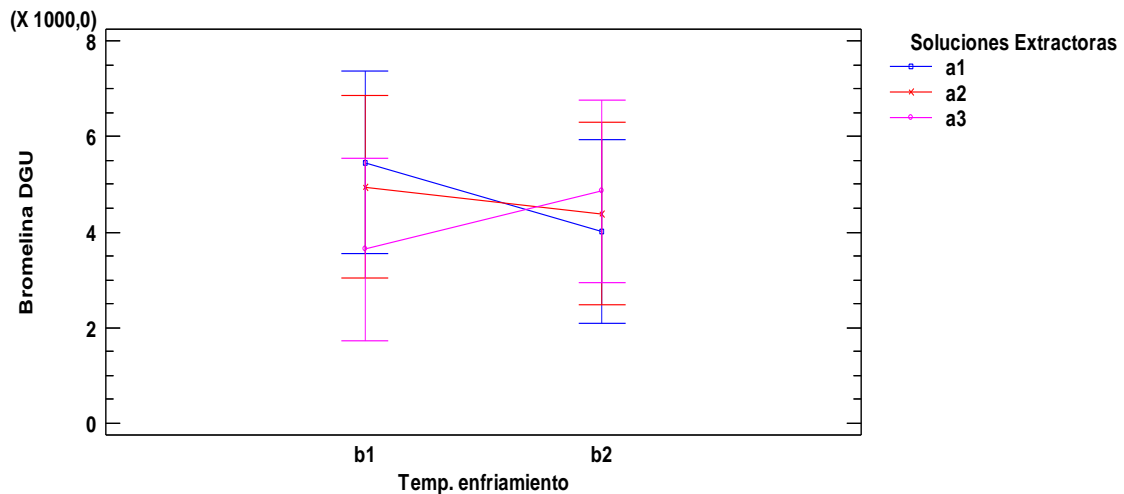
Gráfico de interacciones de Tukey HSD por soluciones extractoras



En la figura 8 se muestran los datos obtenidos de la interacción donde se puede evidenciar que las líneas de tendencia de temperaturas de enfriamiento a -5°C y -10°C se mantienen muy unidas entre las soluciones extractoras del 96%, 86% y 76%, siendo directamente proporcional la actividad enzimática de la bromelina con las soluciones extractoras.

Figura 9.

Gráfico de interacciones de Tukey HSD por temperaturas de enfriamiento



En la figura 9 se observa los datos obtenidos de la interacción donde se puede evidenciar que las líneas de tendencia de las soluciones extractoras del 96%, 86% y 76%, se mantienen muy unidas entre las temperaturas de enfriamiento a -5°C y -10°C siendo directamente proporcional la actividad enzimática de la bromelina con las temperaturas de enfriamiento.

En la tabla 25 se observa los valores obtenidos mediante la ecuación aplicada por DGU (Unidad de digestión de gelatina digerida) en bromelina para la actividad enzimática, como se puede mencionar el tratamiento a1b1 correspondiente al precipitado de etanol del 96% a -5°C que contiene mayor concentración con 5460 DGU (Unidad de digestión de gelatina digerida) indicando así como el mejor tratamiento, difiriendo con los reportados por (Ortigoza Rodríguez & Henández Tapia, 2020) los cuales obtuvieron valores de 40827 ± 5207 DGU (Unidad de digestión de gelatina digerida), esto se debe que en su investigación utilizaron cascaras de piña y la enzima cruda obtenida de bromelina fue purificada con acetona de alta pureza.

4.4. Concentraciones de enzimas actinidina y bromelina

Tabla 28.

Valores de las concentraciones de enzimas

Réplicas	Tratamientos	Descripción
R1	M1	0 – 0
	M2	0 – 100
	M3	100 – 0
	M4	50 – 50
R2	M5	0 – 0
	M6	0 – 100
	M7	100 – 0
	M8	50 – 50

La tabla 28 nos indica las concentraciones de enzimas acorde a los mejores tratamientos de actividad enzimática, los cuales fueron para la enzima actinidina 76%; -5 (a3b1) y para la enzima bromelina 96%; -5 (a1b1), dichos tratamientos serán empleados para el ablandamiento de carne de res.

4.5. El efecto de la adición de las enzimas mediante la determinación de pH, capacidad de retención de agua y análisis instrumental de textura en la carne de res

4.5.1. pH de la carne de res

El pH de la carne, tienen gran influencia en su textura, capacidad de retención de agua y el color, por lo que un nivel adecuado de pH es una importante característica en la calidad, así como también en la proliferación de los microorganismos.

Tabla 29.

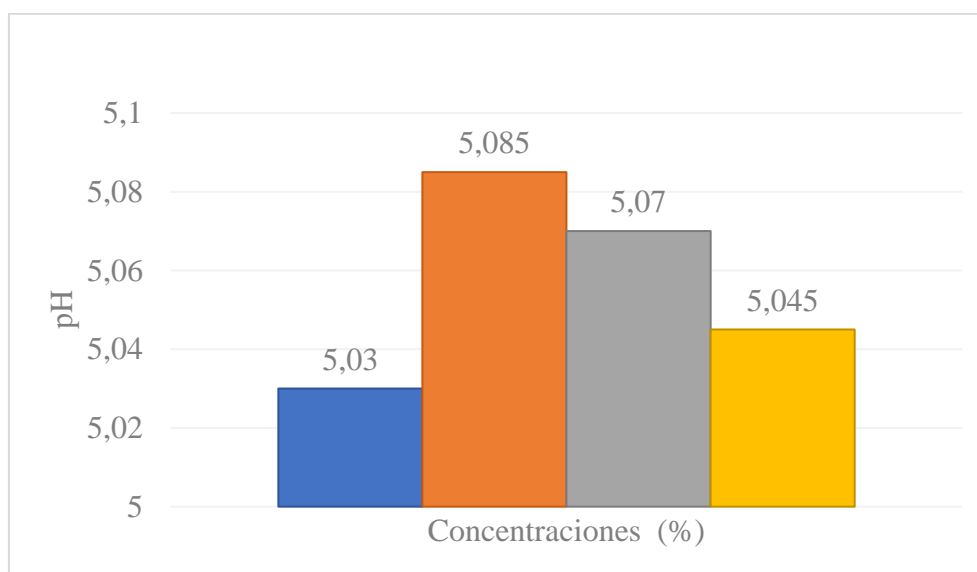
Valores de pH en la carne de res con adición de enzimas en los diferentes tratamientos

Réplicas	Tratamientos	Descripción (%)	pH
R1	M1	0 – 0	5,10
	M2	0 – 100	5,09
	M3	100 – 0	5,08
	M4	50 – 50	5,04
	M5	0 – 0	5,15
R2	M6	0 – 100	5,08
	M7	100 – 0	5,06
	M8	50 – 50	5,05

En la tabla 29 se muestra los valores de pH de acuerdo a los tratamientos empleados en la carne de res, dando como resultados la concentración 50% - 50% que se encuentra con un nivel de pH de 5,04 los cuales se encuentra dentro del rango establecido según la norma NTE INEN 1217:2013 se debe mantener por debajo de 5,5, esto hace referencia a la aplicación de las enzimas que ayudan a disminuir la dureza de la carne y aumenta el tiempo de vida útil.

Figura 10.

Gráfica de los valores del pH de la carne de res con adición de enzimas en los diferentes tratamientos



En el trabajo realizado por (Marrasquin Briones, 2016) reporta que los tratamientos difieren con respecto al testigo con un valor de pH que se encuentra entre 3.5 y 5, valor que disminuye por efecto de la adición de la enzima, observándose que si el pH es menor ayuda a mejorar el tiempo de vida útil de la carne de res.

4.5.2. CRA de la carne de res

Es un parámetro de calidad importante debido que la carne al tener una capacidad apropiada de retención de agua dentro de su estructura, ayudará a mejorar sus características organolépticas como textura, ternura, color, firmeza y al ser sometida a un tratamiento o fuerza externa poseerá mayor jugosidad al momento de su consumo.

Tabla 30.

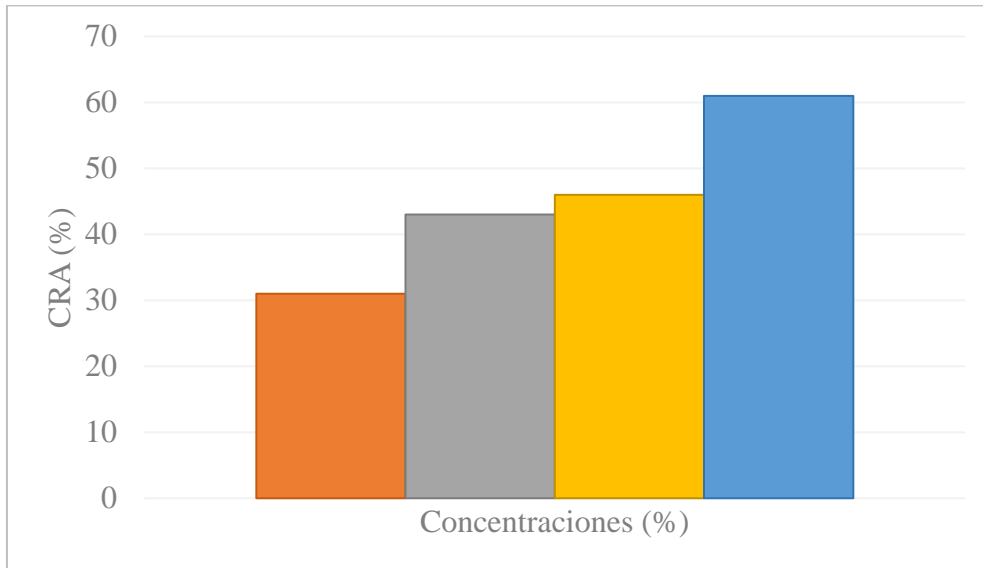
Capacidad de retención de agua (CRA) en la carne de res con adición de enzimas en los diferentes tratamientos

Réplicas	Tratamientos	Descripción (%)	Vol. de decantado	Peso de la muestra	CRA
R1	M1	0 – 0	6,4 ml	5g	32 %
	M2	0 – 100	5,7 ml		46 %
	M3	100 – 0	5,8 ml		44 %
	M4	50 – 50	5 ml		60 %
	M5	0 – 0	6,5 ml		30 %
R2	M6	0 – 100	6 ml	5g	40 %
	M7	100 – 0	5,6 ml		48 %
	M8	50 – 50	4,9 ml		62 %

En la tabla 30 se muestra los porcentajes obtenidos de la capacidad de retención de agua de la carne, en la concentración 50% de actinidina y 50% de bromelina contiene el 60% de CRA (Capacidad de retención de agua) siendo más alto, es decir la aplicación de las enzimas ayuda a romper las fibras musculares y tejidos conjuntivos que se encuentran en la carne de res.

Figura 11.

Gráfica de los resultados del análisis de la capacidad de retención de agua en la carne de res con adición de enzimas en los diferentes tratamientos



Estos datos obtenidos fueron comparados por (Marrasquin Briones, 2016), los cuales obtuvieron un valor de 56% siendo un porcentaje menor, esto se debe a que en su investigación la carne de res contenía cloruro de sodio y esto impedía que la enzima actuara sobre la carne de res.

4.5.3. Análisis instrumental de dureza de la carne de res

Es una técnica de medición instrumental de la textura, siendo importante debido al atributo que se está midiendo, esta técnica se puede emplear a todo tipo de producto que puede afectar en el proceso, manejo y determinación de vida útil, así como la aceptación por parte de los consumidores.

Tabla 31.*Resultados del análisis instrumental de textura*

Muestras	Código	Resultados (g)
	Muestra patrón	13
		13
Carne de res con diferentes concentraciones	0 – 100	12
		11
	100 – 0	10
		10
	50 – 50	10
		10

En la tabla 31 se muestra los tratamientos realizados a la carne según el análisis de textura, debido a que, la dureza de la carne disminuye cuando se mantiene en reposos con las diferentes concentraciones de enzimas bromelina y actinidina, debido a que las enzimas atacan a las fibras musculares y tejidos llamado proteólisis, logrando así un relajamiento con los enlaces peptídicos de las proteínas, los valores de dureza más bajos se pueden observar que se encuentran en las concentraciones de 100% - 0% y 50% - 50%.

De acuerdo a (Marrasquin Briones, 2016), que reporta un valor de 2,58 de dureza en los tratamientos que contienen la enzima bromelina en donde posee mayor fuerza de acción sobre la dureza de la carne, debido al efecto de la enzima.

4.6.Comparaciones de un aditivo común con el aditivo natural extraído

- **Aditivo común**

Algunos aditivos se emplean para el consumo habitualmente en la dieta de casi todas las personas que podría ser beneficioso para la salud en algunos aspectos, muchos de estos aditivos poseen conservantes de carácter microbiano que protegen contra el ataque de microorganismos nocivos que pueden alterar los alimentos. En las cantidades normales utilizadas, no eliminan los microorganismos, sino que impide su proliferación, por lo que su uso racional es útil y en otras ocasiones pueden emplearse para enmascarar deficiencias en el

proceso de producción de los alimentos, así como también se incorporan colorantes artificiales y suplementos que algunos alimentos en los procesos pueden llegar a perder.

- **Aditivo natural extraído de actinidina y bromelina**

Como su nombre lo indica es extraído de forma natural con ningún químico y es por ello que no posee ni conservantes, perseverantes o algún tipo de colorante artificial entre otros. Para su fácil manipulación se obtuvo en polvo por el método de liofilización ayudando así en su conservación, gracias a este tipo de secado las enzimas no han perdido sus propiedades proteolíticas de ablandar la carne. Otros aditivos naturales también se han extraído de la misma manera ayudando a mejorar la inocuidad de los alimentos al incorporarlos.

4.7. Comprobación de hipótesis

Para el desarrollo de la investigación se plantearon las siguientes hipótesis:

Hipótesis Nula

- Ho: Al menos una de las concentraciones obtenidas de bromelina y actinidina aplicadas como aditivo en la carne no disminuyo su dureza.

Hipótesis Alterna

- Hi: Las concentraciones obtenidas de bromelina y actinidina aplicadas como aditivo en la carne disminuyo su dureza.

En función a la investigación realizada y a los resultados obtenidos en cuanto a la actividad enzimática, existe evidencia en el estudio y en la bibliografía antes citada para aceptar la hipótesis alterna, es decir que la combinación de las diferentes concentraciones de enzimas como la actinidina y bromelina adicionada a la carne de res disminuyo su dureza actuando como un ablandador natural.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Antes de ser procesadas las materias primas se realizó los análisis de pH y Brix dando como resultados valores favorables y dentro del rango establecido según el Codex alimentarius 338-2020; 182-1993 y normativa INEN 1836, es por ello que fue posible extraer un aditivo natural de las enzimas actinidina y bromelina en polvo, utilizando el método de secado por liofilización.
- Para la cuantificación proteica por el método Bradford, los mejores tratamientos en precipitación alcohólica para actinidina es al 86% de etanol a una temperatura de -10°C con un valor de 15,74 mg de proteína/gr de muestra y para la bromelina es al 86% con una temperatura de -5°C dándonos un valor de 22,15 mg de proteína/gr de muestra.
- Para la actividad enzimática por el método de unidad de digestión de gelatina, los tratamientos más óptimos fueron para la actinidina al 76% de etanol con una temperatura de -5°C dándonos un valor de 3407 DGU (Unidad de digestión de gelatina digerida) y para la bromelina es al 96% con una temperatura de -5°C dándonos un valor de 5460 DGU (Unidad de digestión de gelatina digerida).
- Tomando en cuenta los valores mencionados anteriormente de actividad enzimática, se empleó las concentraciones de enzimas como la actinidina y bromelina (0% - 0%; 0% - 100%; 100% - 0%, 50% - 50%) en la carne de res.
- Los valores de pH (5,04 – 5,06) en la carne de res se encuentran dentro del rango según la norma NTE INEN 1217:2013, para la capacidad de retención de agua depende mucho de la textura, jugosidad, color y terneza del tipo de corte de carne que se utiliza. En el análisis de dureza se realizó con un tratamiento patrón para diferenciar de las demás mezclas de tratamientos de enzimas arrojándonos datos más precisos, comparando así la disminución de dureza entre tratamientos.
- La mejor muestra de ablandamiento en la carne de res fue las concentraciones de 50% de actinidina y 50% de bromelina, el mismo que obtuvo valores dentro del rango establecido de pH: 5,04; capacidad de retención de agua: 60% y análisis de dureza: 10 gr según el Texturómetro Brookfield.

5.2.Recomendaciones

- Se requiere utilizar todas las partes de las frutas como corteza y bagazo en su totalidad, siempre y cuando los análisis de pH y Brix estén dentro del rango establecido para proceder a extraer las enzimas actinidina y bromelina basándose en las normas, así como también la extracción de la enzima actinidina sugiere que en su estado más verde facilita su manipulación.
- Emplear otras metodologías en el estudio de cuantificación proteica de las enzimas actinidina y bromelina, para poder comprobar los resultados con mayor efectividad de los métodos empleados.
- Modificar el método de actividad enzimática de modo que puede influir al momento de agregar los insumos al recipiente con el que se está analizando, así como también verificar las temperaturas adecuadas en la medición del pH y limpiar constantemente el electrodo después de ser introducido en los tratamientos.
- El proceso más adecuado para la aplicación de mezclas de las enzimas en polvo según sus concentraciones, debe ser duplicado en base al peso de la carne de res que se va a requerir, favoreciendo al ablandamiento.
- Realizar diferentes análisis de textura y si es posible en la carne de res cocida, para diferenciar si existe cambios en sus características organolépticas.
- Mantener una buena manipulación con el corte de carne, así como, la cadena de frio al momento de ser aplicada y mezclada con la enzima, ya que esto puede influir con los resultados.

6. REFERENCIAS

- León Banda, G., & Carrasco García, A. (2012). **La carne de calidad: cuestión de bienestar.** *Revista de divulgación científica y tecnológica de la universidad veracruzana.*
- Montoya Terrones, T., & Miano Pastor, A. (2011). **Influencia de la concentración de cloruro de sodio y de extracto de corazón de piña (Ananas comosus – var roja trujillana) inyectados como solución en la textura (resistencia a la penetración) y capacidad de retención de agua (CRA) en carne de vacuno.** *Agroindustrial Science.*
- Ordoñez, P., & Aroca, O. (Julio de 2016). **Conceptos básicos sobre la carne.** Obtenido de Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola
- Peregrino Peña, I., Pérez Villarrea, H., Mayett Moreno, Y., & Arvizu Barrón, E. (2018). **Factores que influyen en la calidad y decisión de compra de carne res en Chiapas, México.** *Nacameh.*
- Vigueras Morales, Y. (Febrero de 2019). **Enzimas proteolíticas.**
- Yañiquez Vedia, J., Huanca Lopez, S., Tejeda, L., & Aliaga Rossel, E. (2019). **Determinación de los parámetros temperatura, pH y concentración.** *Revista Boliviana de Química.*
- Acosta Granda, V. d. (2013). **Evaluación de la textura del pan elaborado a partir de harina de trigo nacional (Triticum Vulgare), con adición de gluten vital.** *Universidad Técnica de Ambato.*
- Agudelo Betancourt, M. D. (2016). **Evaluación de la obtención de bromelina por los métodos de extracción.**
- Álvarez, M., & Adema, E. (2018). **Capacidad de retención de agua por el dosel de los arbustos en la región árida-semiárida central de Argentina.** *Semiárida Revista de la Facultad de Agronomía.*
- Aparicio Cediel, I. (2017). **Aditivos alimentarios.** *Dextra.*
- Bermeo, J., Salgado, I., Flores, C., & Sánchez, T. (2020). **Obtenido de Evaluación de la actividad de tres enzimas proteolíticas como biocatalizadores lácteos**

- Bermeo, J., Salgado, I., Flores, C., & Sánchez, T. (2020). **Evaluación da la actividad de tres enzimas proteolíticas como biocatalizadores lácteos.** *Conciencia Digital.*
- Bertoluzzo, S. (2015). **Estudio cinetico de la actividad proteolítica de la enzima ficina.** *Universidad de Cuenca.*
- Bosman, L. (2015). **Aditivos alimentarios.** *EUFIC .*
- Bradford, M. (1976). **Kit para determinación de proteínas.**
- Cedeño , I., & Quiñonez , K. (2021). **Estudio comparativo de la capacidad antioxidante del Actinidia chinensis (kiwi amarillo) y Actinidia deliciosa (kiwi verde).** *Universidad De Guayaquil.*
- Chica Santillán, D. F. (2018). **Manejo agronómico del cultivo de piña (Ananas comosus), variedad MD2 en el Ecuador.**
- Clavijo, D., Portilla, M., & Quijano, A. (2015). **Cinética y extracción de la bromelina obtenida a partir de la piña (ananas comosus) proveniente de Lebrija-Santander.** *Alimentech ciencia y tecnología alimentaria.*
- Clavijo, D., Portilla , M., & Quijano Alfonso, A. (2017). **Cinética de la bromelina obtenida a partir de la piña perolera (Ananas Comosus) de Lebrija-Santande.** *Bistua; Revista de la Facultad de Ciencias Básicas.*
- Coello Montoya, D., & Hidalgo Torre, J. (2013). **“Comparación de la Concentración y Actividad Enzimática de la Bromelina Obtenida a Partir de la Pulpa de la Piña (Ananas Comosus) Variedad Perolera de Dos Grados de Madurez”.** *Escuela Superior Politecnica Del Litoral.*
- Coello, D., & Hidalgo, J. (2016). **Comparación de la concentración y actividad enzimática de la Bromelina obtenida a partir de la pulpa de la piña (Ananas Comosus) variedad perolera de dos grados de madurez (tesis de pregrado).** *Univesidad de Cuenca.*
- Collado, R., Velázquez, G., Cruz, R., Velasco, A., & Rosales, J. (2019). **Reacciones de hipersensibilidad a aditivos alimentarios.** *Revista Alergia Mexico.*

- Dalgo Flores, V. (2012). **“Obtención de un concentrado con bromelina a partir de piña (ananas comosus), y determinación de su actividad enzimática en sustratos proteínicos”**. *Universidad Tecnica de Ambato*.
- De Ariño, A. (2017). **Aditivos alimentarios**. *Fundacion vasca para la seguridad agroalimentaria*.
- Del Moral, S., Ramírez, L., & García, M. (2015). **Aspectos relevantes del uso de enzimas en la industria de los alimentos**. *Revista Iberoamericana de Ciencias*.
- El Telégrafo. (26 de enero de 2022). **Ecuador es el primer país exportador de piña en Sudamérica**. *El Ministerio de Producción, Comercio Exterior, Inversiones y Pesca informó que Ecuador es el primer país exportador de piña en América del Sur y el octavo proveedor de este producto a escala mundial.*, pág. 1.
- Escudero Gilete, M., & Vicario Romero, I. (2017). **Colorantes alimentarios**. *Dialnet*.
- Francisco, I., Paloma, T., & Irigoyen, A. (2003). **Aditivos alimentarios**. *Universidad Pública de Navarra*.
- Fuentes López, A., García Martínez, E., & Fernández Segovia, I. (2013). **Determinación de la capacidad de retención de agua (CRA)**. *Universidad Politécnica de Valencia*.
- Giuffrida Mendoza, M., Arenas de Moreno, L., & Huerta Leidenz, N. (2014). **Composición nutritiva de la carne de ganado tropical venezolano**. *Anales venezolanos de nutrición*.
- Gracia Goez, C. (2019). **Clasificación funcional de los aditivos alimentarios naturales y sintéticos**. *Pilarica*.
- Gutiérrez Medina, M. (2015). **Comparación de la genotoxicidad in vitro de Euphorbia peplus L. "leche leche", Ficus carica L. "higo", Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze "tara" y Eucaliptus globulus Labill "eucalipto"**. *Ayacucho, 2014. Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga*.
- Hernández, M., Carvajal, C., Márquez, M., & Chávez, M. (2016). **Aislamiento de las enzimas de la piña**.
- INEN. (2013). **Carne y productos carnicos - medicion de pH - metodo de referencia (IDT)**.

- Jiménez Edeza, M., Chaidez Quiroz, C., & León Félix, J. (2012). **Calidad microbiológica de carne de res comercializada en el mercado municipal de Culiacán, Sinaloa.** *Veterinaria México.*
- La Hora. (26 de enero de 2022). **La piña de Santo Domingo se exporta a cinco países.** *La piña de Santo Domingo se exporta a cinco países.*
- Lema Hurtado, J. L., & Lema Hidalgo, L. Y. (2019). **Influencia del bienestar animal, sobre la calidad microbiológica de las canales de vacunos faenados.**
- Llorente, B. E. (Julio de 2015). **Aislamiento, purificación, caracterización y producción in vitro de peptidasas de alcaucil coagulantes de la leche.**
- López Sobaler, A. (Septiembre de 2016). **Obtenido de Beneficios nutricionales y sanitarios asociados al consumo de kiwi.**
- Magaña Rueda , P. (2015). **La piña.** *Revista de Cultura Científica.*
- Mariscal Santi , W. (2016). **Estudio comparativo de polifenoles totales y capacidad antioxidante de kiwi. 48.** Guayaquil , Ecuador .
- Marques, M. (2018). **Metodo Lowry .**
- Marrasquin Briones, R. (2016). **Efecto de la dición de una mezcla de bromelina y papaina sobre ciertas características físico químicas de la carne vacuna.** *Universidad Catolica De Santiago De Guayaquil.*
- Mejía Bermudes , L. (2018). **Cuantificación proteica .**
- Mera Ramirez , L. A. (2015). **Comparación de métodos.**
- Montoya Terrones, T. D., & Miano Pastor , A. C. (Mayo de 2017). **Influencia de la concentración de cloruro de sodio y de extracto de corazón de piña (Ananas comosus –varroja trujillana) inyectados como solución en la textura (resistencia a la penetración) y capacidad de retención de agua (CRA) en carne de vacuno (Bos.**
- OMS. (2018). **Aditivos alimentarios.** *Organizacion Mundial de la Salud.*
- Ortigoza Rodríguez, O., & Henández Tapia, G. (2020). **Extracción, purificación y cuantificación de bromelina a partir de cáscara de piña.**
- Pérez García , L. (Agosto de 2019). **Propiedades, beneficios y valor nutricional del Kiwi.**

- Pérez Leal, F. (2017). **Fisiología Vegetal Enzimas y Coenzimas, mecanismos de regulación.** *Universida Nacional De Ucayali.*
- Pinto, T., & Vilela, A. (17 de noviembre de 2018). **Kiwifruit, a botany, chemical and sensory approach a review.** *Advances in Plants & Agriculture Research, 2.*
- Ramírez Ramírez, J., & Ayala Aceves, M. (2014). **Enzimas: ¿Qué son y cómo funcionan?** *Revista Digital Universitaria UNAM.*
- Ramos Benítez, E. (2021). **Obtencion de colageno hidrolizado mediante la reaccion enzimaica con bromelina sobre gelatina.** *Universidad De Las Fuerzas Armadas (ESPE).*
- Rodríguez, R., Becquer, R., Pino, Y., López, D., Rodríguez, R., Lorente González, G., . . . González, J. (2016). **Producción de frutas de piña (Ananas comosus (L.) Merr.) MD-2 a partir de vitroplantas.** *Cultivos Tropicales.*
- Ruddy Raquel, M. (2016). **Efecto de la adición de una mezcla de Bromelina y Papaína sobre ciertas características físico químicas de la carne.**
- Salgado Tello , I. P., & Flores Mancheno, C. I. (12 de mayo de 2020). *Conciencia Digital.*
- Sánchez, I. (Septiembre de 2017). **Análisis sensorial en carne.** *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 8.*
- Sharma, S., & Vaidya, D. (01 de Enero de 2018). *The Pharma Innovation .*
- Suarez, T., González, E., Reséndiz, Y., & Sánchez, D. (2018). **La importancia de los aditivos alimentarios en los alimentos industrializados.** *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.*
- Timberlake, K. (2020). **Factores que afectan la actividad enzimática.** *Universidad del Trabajo del Uruguay.*
- Valente, M. (2022). **Factores que afectan la actividad enzimática.** *Libretexts Español.*
- Wang, J., Wang, J., Kranthi Vanga, S., & Ragh, V. (2021). **Influence of High-intensity Ultrasound on the IgE Binding Capacity of Act d2 Allergen, Secondary Structure, and In-vitro Digestibility of Kiwifruit Pro-teins.** *Ultrasonics Sonochemistry.*
- Yacub, D. (2021). *Ablandador de carne.*

7. ANEXOS

Anexo 1.

Mapa de ubicación de la investigación



Fuente: Google Maps, 2022

Anexo 2.

Mapa de ubicación del Complejo Agroindustrial



Fuente: Google Maps, 2022

Anexo 3.

Plano de Ubicación donde se realizó la investigación



Fuente: Municipio de Guaranda, 2021


Anexo 4.

Tabla de resultados de la cuantificación proteica de actinidina y bromelina

Tratamientos	Réplicas	Código	Factores		Cuantificación proteica	
			Solución. E	Temperatura. E	Bromelina (mg proteína/g muestra)	Actinidina (mg proteína/g muestra)
			A	B		
T1	R1	a1b1	a1	b1	18,42	16,75
T2		a1b2	a1	b2	13,76	14,35
T3		a2b1	a2	b1	22,33	14,45
T4		a2b2	a2	b2	16,53	15,08
T5		a3b1	a3	b1	20,62	9,61
T6		a3b2	a3	b2	12,84	12,11
T7	R2	a1b1	a1	b1	20,87	14,24
T8		a1b2	a1	b2	16,00	14,59
T9		a2b1	a2	b1	22,07	12,31
T10		a2b2	a2	b2	15,61	16,73
T11		a3b1	a3	b1	20,48	10,40
T12		a3b2	a3	b2	11,13	13,00
T13	R3	a1b1	a1	b1	19,69	13,96
T14		a1b2	a1	b2	16,27	15,15
T15		a2b1	a2	b1	22,07	13,99
T16		a2b2	a2	b2	17,58	15,21
T17		a3b1	a3	b1	20,75	12,34
T18		a3b2	a3	b2	10,6	9,68

Anexo 5.

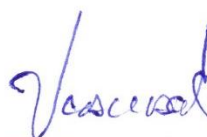
Base general de la cuantificación proteica de las enzimas actinidina (kiwi) y bromelina (piña)

 UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR	DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>	Código	IR-CP
		INFORME DE RESULTADOS	Versión	1
			Año	2022
			Página	Página 1 de 1

INFORME DE ENSAYOS N° 138


DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante	Erika Callan, Valeria Carrera				
Muestra	Kiwi				
Código asignado UEB	INV 095				
Estado de la muestra	Fresca				
Envase de recepción	Funda plástica de cierre hermético, 1 Kg con contenido de muestra				
Análisis requerido(s)	Cuantificación de proteína				
Fecha de recepción	19 de mayo de 2022				
Fecha de análisis	13 al 17 de junio de 2022				
Fecha de informe	4 de octubre de 2022				
Técnico (s) asignado	MFQM				
RESULTADOS OBTENIDOS					
Muestra: Enzima Actinidina					
Código de laboratorio	Tratamiento	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 095	a1b1	Cuantificación de proteína	BRADFORD	mg proteína/ g muestra	14,97
	a1b2				14,64
	a2b1				13,54
	a2b2				15,74
	a3b1				10,91
	a3b2				11,78

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.



Ing. Marcelo Vilcacundo
Director DIVIUEB



 UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLIVAR	DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>		Código	IR-CP
		INFORME DE RESULTADOS		Versión	1
				Año	2022
				Página	Página 1 de 1

INFORME DE ENSAYOS N° 137

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante	Erika Callan, Valeria Carrera				
Muestra	Piña				
Código asignado UEB	INV 094				
Estado de la muestra	Fresca				
Envase de recepción	Funda plástica de cierre hermético, 1 Kg con contenido de muestra				
Análisis requerido(s)	Cuantificación de proteína				
Fecha de recepción	19 de mayo de 2022				
Fecha de análisis	13 al 17 de junio de 2022				
Fecha de informe	4 de octubre de 2022				
Técnico (s) asignado	MFQM				
RESULTADOS OBTENIDOS					
Muestra: Enzima Bromelina					
Código de laboratorio	Tratamiento	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 094	a1b1	Cuantificación de proteína	BRADFORD	mg proteína/ g muestra	19,66
	a1b2				15,34
	a2b1				22,15
	a2b2				16,57
	a3b1				20,62
	a3b2				11,52

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.

Marcelo Vilcacundo

Ing. Marcelo Vilcacundo
Director DIVIUEB



Anexo 6.

Método de la actividad enzimática por digestión de gelatina GDU

Preparación de reactivos

Disolución de gelatina: En un vaso de precipitación se pesaron 5 gr de gelatina sin sabor, luego de ello se añadió 75 ml de agua, para hacer hervir en la plancha de calentamiento, pasado ese lapso de tiempo se dejó enfriar hasta que llegue a una temperatura de 45°C, para proceder a ajustar el pH a 4,5 con la solución de cloruro de sodio 0,1 N, posterior a ello se agregó 25 ml de agua destilada.

Solución buffer: Se añadió 3.75 gr de cloruro de sodio (HCL) en un vaso de precipitación de 50 ml, luego se agrega 10 ml de agua destilada para colocar en la plancha de agitación hasta que se disuelva la muestra, después se adicionó 0,142 ul de ácido acético para ajustar el pH a 4,5 con la solución de cloruro de sodio 0,2 N.

Hidróxido de sodio 0,1N: Se pesó 1 gr de hidróxido de sodio de 40 g/mol para agregar en un balón de aforo de 250 ml de agua destilado.

Peróxido de hidrógeno 3%: En un vaso frasco boeco se agregó 1,5 ml de peróxido de hidrógeno al 30%, para aforarlo a 25 ml de agua destilada.

Formaldehído al 37%: Solución madre estandarizada (estándar comprado).

Preparación de la enzima

Se pesó 25 gr de la enzima bromelina y actinidina para colocar en un vaso de precipitación. Después añadir 4,15 ml de solución buffer para dejarlo en reposo por 30 minutos a temperatura 20°C, transcurrido este tiempo se agregó 25 ml de agua acidificada con un pH de 4,5.

Solución prueba

- En tubos falcón se añadió 25 ml de gelatina sin sabor a una temperatura de 45°C, luego se agregó 1 ml de la solución de enzimas (bromelina y actinidina) para dejar en baño maría con agitación a una temperatura de 45°C por 20 minutos, transcurrido este lapso de tiempo añadir 0,1 ml de peróxido de hidrógeno al 3% por 5 minutos.
- El tubo falcón se debe de incubar dentro del baño maría con una agitación de modo constante se inserta el electrodo del potenciómetro, después de 10 segundos se registra el pH inicial para verificar si cambian el valor al momento de incorporar los otros reactivos.

- Se debe de ajustar el pH a 6 con hidróxido de sódico al 0,1 N, para estabilizar las muestras.
- Mantener a una temperatura de 45°C durante todo el proceso para evitar su gelatinización, luego agregar 10 ml de formaldehído al 37%. Después se registra el pH en 10 segundos y de 1 minuto, para identificar si los valores varían del pH inicial.
- Titule el pH a 9 con la solución de hidróxido de sodio a 0,1 N, registre el volumen usado en la titulación, así como también es el valor de T.

Solución en blanco (se debe realizar junto a la solución prueba)

- En tubos falcón se añadió 25 ml de gelatina sin sabor a una temperatura de 45°C, se agregó 0,1 ml de peróxido de hidrógeno al 3% para dejarlo en baño maría con agitación a una temperatura de 45°C por 20 minutos, transcurrido este tiempo se añadió 1 ml de la solución de enzimas (bromelina y actinidina) durante 5 minutos.
- El tubo falcón debe estar dentro del baño maría con una agitación de modo constante se insertó el electrodo del potenciómetro, después de 10 segundos se registra el pH inicial, si no se encuentra en un pH de 6 se ajusta con la solución de hidróxido de sódico al 0,1 N.
- Se debe mantener a una temperatura de 45°C durante todo el proceso, luego de ello se agregó 10 ml de formaldehído al 37%, para registrar el pH después de 10 segundos y luego de 1 minuto.
- Titular el pH a 9 con hidróxido de sodio a 0,1 N, para registrar el volumen usado en la titulación para aplicar estos valores a la fórmula de DGU (Unidad de digestión de gelatina digerida) así como también el valor del blanco B (Ortigoza Rodríguez & Henández Tapia, 2020)


Anexo 7.

Tabla de resultados de actividad enzimática de actinidina y bromelina

Tratamientos	Réplicas	Código	Factores		Actividad enzimática	
			Solución. E	Temperatura. E	Bromelina	Actinidina
			A	B		
T1	R1	a1b1	a1	b1	5600	1400
T2		a1b2	a1	b2	5600	3640
T3		a2b1	a2	b1	7000	3640
T4		a2b2	a2	b2	3920	2940
T5		a3b1	a3	b1	4480	4900
T6		a3b2	a3	b2	3920	280
T7	R2	a1b1	a1	b1	5600	3640
T8		a1b2	a1	b2	1960	1400
T9		a2b1	a2	b1	4760	2240
T10		a2b2	a2	b2	6160	3080
T11		a3b1	a3	b1	3920	1120
T12		a3b2	a3	b2	5040	1400
T13	R3	a1b1	a1	b1	5180	2240
T14		a1b2	a1	b2	4480	2240
T15		a2b1	a2	b1	3080	4200
T16		a2b2	a2	b2	3080	3780
T17		a3b1	a3	b1	2520	4200
T18		a3b2	a3	b2	5600	8260

Anexo 8.

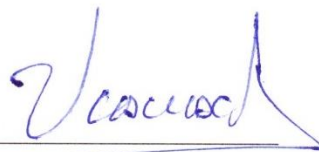
Base general de la actividad enzimática de las enzimas actinidina (kiwi) y bromelina (piña)

 DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>	Código	IR-AE
		Versión	1
		Año	2022
		Página	Página 1 de 1
INFORME DE RESULTADOS			

INFORME DE ENSAYOS N° 140


DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante	Erika Callan, Valeria Carrera				
Muestra	Kiwi				
Código asignado UEB	INV 095				
Estado de la muestra	Fresca				
Envase de recepción	Funda plástica de cierre hermético, 1 Kg con contenido de muestra				
Análisis requerido(s)	Actividad enzimática				
Fecha de recepción	19 de mayo de 2022				
Fecha de análisis	20 al 24 de junio de 2022				
Fecha de informe	5 de octubre de 2022				
Técnico (s) asignado	MFQM				
RESULTADOS OBTENIDOS					
Muestra: Enzima Actinidina					
Código de laboratorio	Tratamiento	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 095	a1b1	Actividad enzimática	Enzimático-Químico	DGU calculada	2427
	a1b2				2427
	a2b1				3360
	a2b2				3267
	a3b1				3407
	a3b2				3313

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.



Ing. Marcelo Vilcacundo
Director DIVIUEB

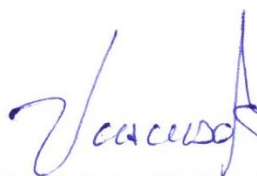


 UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR	DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>	Código	IR-AE
		INFORME DE RESULTADOS	Versión	1
			Año	2022
			Página	Página 1 de 1

INFORME DE ENSAYOS N° 139

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante	Erika Callan, Valeria Carrera				
Muestra	Piña				
Código asignado UEB	INV 094				
Estado de la muestra	Fresca				
Envase de recepción	Funda plástica de cierre hermético, 1 Kg con contenido de muestra				
Análisis requerido(s)	Actividad enzimática				
Fecha de recepción	19 de mayo de 2022				
Fecha de análisis	20 al 24 de junio de 2022				
Fecha de informe	5 de octubre de 2022				
Técnico (s) asignado	MFQM				
RESULTADOS OBTENIDOS					
Muestra: Enzima Bromelina					
Código de laboratorio	Tratamiento	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 094	a1b1	Actividad enzimática	Enzimático-Químico	DGU calculada	5460
	a1b2				4013
	a2b1				4947
	a2b2				4387
	a3b1				3640
	a3b2				4853

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.



Ing. Marcelo Vilcacundo
Director DIVIUEB



Anexo 9.

Tabla de rendimiento de los mejores tratamientos en la extracción de actinidina y bromelina

- **Kiwi verde**

Rendimiento			
Kiwi V			
Peso Total	2,7 libras	1224,7 gr	100%
Peso Útil	800 ml	800 gr	65,32%
merma		424,7 gr	34,68%

- **Piña hawaiana**

Rendimiento			
Piña H			
Peso Total	4,2 libras	1905,1 gr	100%
Peso útil	1050 ml	1050 gr	55,12%
merma		855,1 gr	44,88%

Anexo 10.

En base general del análisis de dureza de la carne con la adición de enzimas actinidina y bromelina



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
LABORATORIO DE CONTROL Y ANÁLISIS DE ALIMENTOS

CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO 0000776

Certificado No: 22-110		R01-7.8 03
Solicitud N°: 22-110		Pág.: 1 de 1
Fecha recepción: 11 de agosto de 2022		Fecha de ejecución de ensayos: 15 de agosto de 2022
Información del cliente:		
Empresa:	C.L./RUC: 0605894690	
Representante: Valeria Betzilen Carrera Guevara	TIF: 0981526460	
Dirección: Guaranda	Email: valecarreraguevara@gmail.com	
Ciudad: Guaranda		
Descripción de las muestras:		
Producto: Carne de res	Peso:	150g
Marca comercial: n/a	Tipo de envase:	Envase de plástico
Lote: n/a	No de muestras: cuatro	
F. Elb.: n/a	F. Exp.: n/a	
Conservación: Ambiente: X Refrigeración: Congelación:	Almac. en Lab:	n/a
Cierres seguridad: Ninguno: X Intactos: Rotos:	Muestreo por el cliente:	11 de agosto de 2022

RESULTADOS OBTENIDOS

Muestras	Código del laboratorio	Código cliente	Ensayos solicitados/Técnica	Métodos utilizados	Unidades	Resultados
Carne de res	11022211	Muestra patrón	*Textura (Texturómetro Brookfield)			
			Ciclo 1 dureza	Brookfield	g	13
			Ciclo 2 dureza		g	13
Carne de res	11022212	0 - 100	*Textura (Texturómetro Brookfield)			
			Ciclo 1 dureza	Brookfield	g	12
			Ciclo 2 dureza		g	11
Carne de res	11022213	100 - 0	*Textura (Texturómetro Brookfield)			
			Ciclo 1 dureza	Brookfield	g	10
			Ciclo 2 dureza		g	10
Carne de res	11022214	50 - 50	*Textura (Texturómetro Brookfield)			
			Ciclo 1 dureza	Brookfield	g	10
			Ciclo 2 dureza		g	10

Conds. Ambientales: 18,1°C; 53,6%HR

Nota: Se adjuntan 22 hojas

Ing. Gladys Risueño
Directora de Calidad

Autorización para transferencia electrónica de resultados: Si

Fecha de emisión del certificado: 16 de agosto de 2022

Nota: La muestra fue suministrada por el cliente y los resultados se aplican a la muestra en las condiciones recibidas. El Laboratorio se responsabiliza exclusivamente de los resultados emitidos, en base a la muestra entregada por el cliente.

El Laboratorio no es responsable por el uso incorrecto de este certificado. No es un documento negociable. Solo se permite su reproducción sin fines de lucro y haciendo referencia a la fuente.

"La información que se está enviando es confidencial, exclusivamente para su destinatario, y no puede ser vinculante. Si usted no es el destinatario de esta información recomendamos eliminarla inmediatamente. La distribución o copia del mismo está prohibida y será sancionada según el proceso legal pertinente".



Dir.: Universidad Técnica de Ambato, Campus Huachi. Av. Los chasquis y Río Payamino
Edificio Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología / Ambato - Ecuador

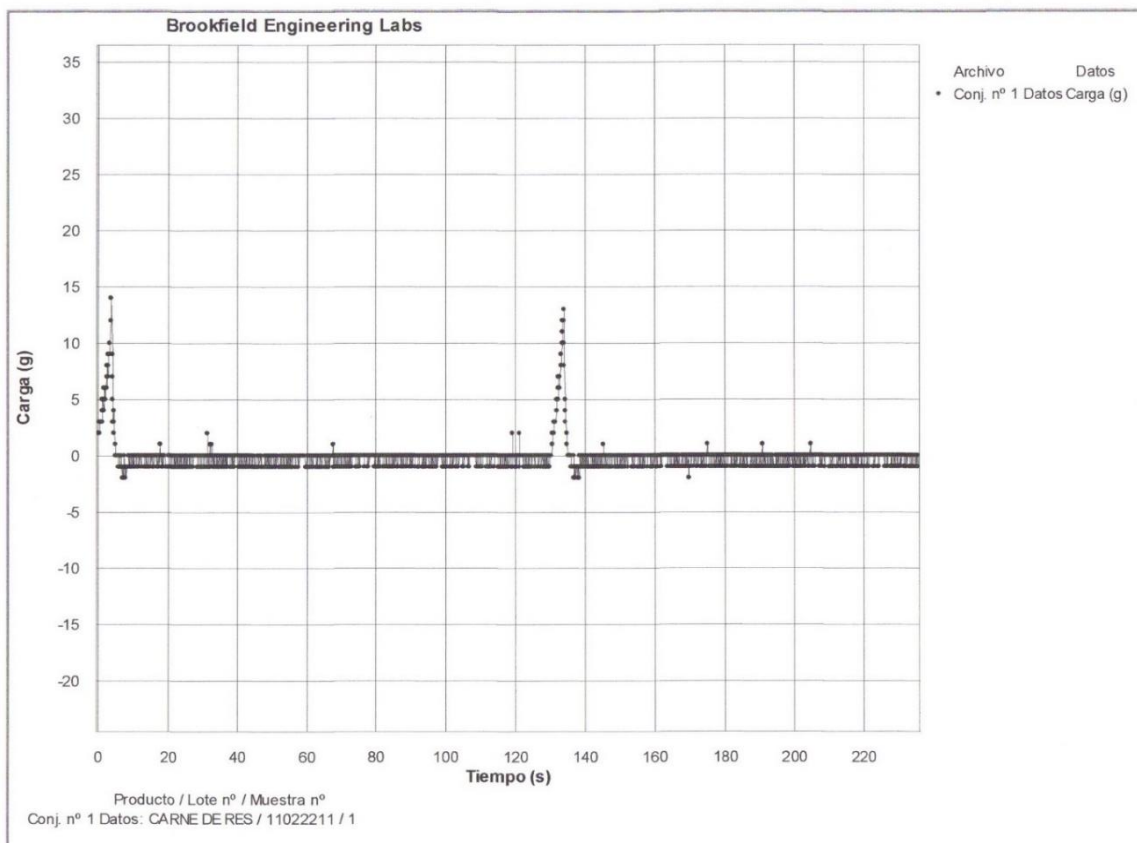
(593) 32400987 ext. 5517; 5518 <http://laconal.uta.edu.ec> laconal@uta.edu.ec

INFORME ESTADISTICO

#	<u>Descripción Muestra</u>		Nº muestra:	<u>Resultados</u>		
	Nombre Producto	Nº lote		Elasticidad mm	Firmeza g	Masticabilidad mJ
1	CARNE DE RES	11022211	1	0,97	9	0,1
2	CARNE DE RES	11022211	2	1,24	8	0,1
			Mínimo	0,97	8	0,1
			Máximo	1,24	9	0,1
			Promedio	1,11	9	0,1
			Desviación Estandar	0,19	1	0,0

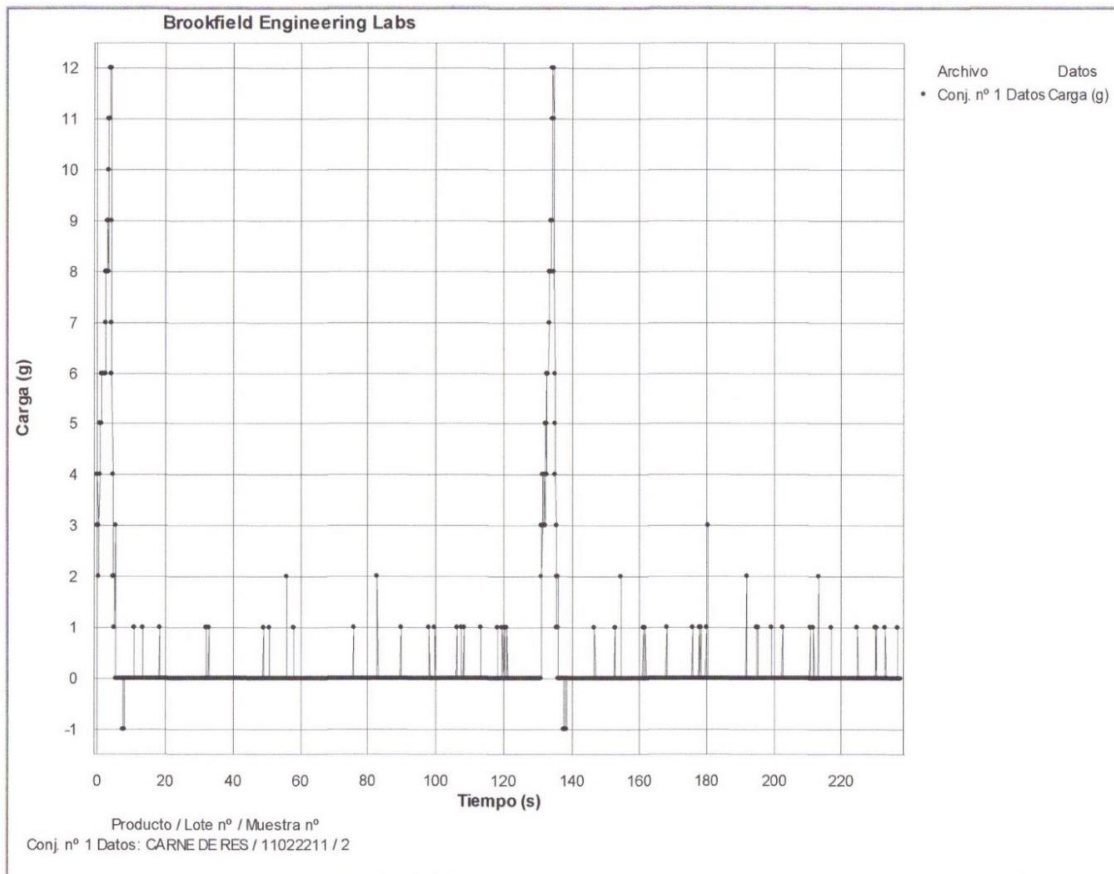
INFORME DATOS

<u>Descripción Muestra</u>	
Nombre Producto: CARNE DE RES	Notas:
Nº lote: 11022211	01-001
Nº muestra: 1	
Dimensiones:	
Forma: Bloque	
Longitud: 40,00 mm	
Anchura: 30,00 mm	
Altura: 5,00 mm	
<u>Método Test</u>	
Fecha: 15/08/2022	Hora: 10:42:44
Tipo de Test: APT	Tpo. Recuperación: 0 s
Objetivo: 2,0 mm	Mismo activador: Exacto
Esperar t.: 0 s	Velocidad Pretest: 2 mm/s
Carga Activación: 4 g	Fr. Muestreo: 10 puntos/seg
Vel. Test: 0,5 mm/s	Sonda: TA42
Velocidad Vuelta: 0,5 mm/s	Elemento: TA-BT-KI
Contador ciclos: 2	Celda Carga: 10000g
<u>Resultados</u>	
Ciclo 1 Dureza:	14 g
Ciclo 2 Dureza:	13 g



INFORME DATOS

Descripción Muestra	
Nombre Producto: CARNE DE RES	Notas:
Nº lote: 11022211	01-001
Nº muestra: 2	
Dimensiones:	
Forma: Bloque	
Longitud: 40,00 mm	
Anchura: 30,00 mm	
Altura: 5,00 mm	
Método Test	
Fecha: 15/08/2022	Hora: 10:48:11
Tipo de Test: APT	Tpo. Recuperación: 0 s
Objetivo: 2,0 mm	Mismo activador: Exacto
Esperar t.: 0 s	Velocidad Pretest: 2 mm/s
Carga Activación: 4 g	Fr. Muestreo: 10 puntos/seg
Vel. Test: 0,5 mm/s	Sonda: TA42
Velocidad Vuelta: 0,5 mm/s	Elemento: TA-BT-KI
Contador ciclos: 2	Celda Carga: 10000g
Resultados	
Ciclo 1 Dureza:	12 g
Ciclo 2 Dureza:	12 g

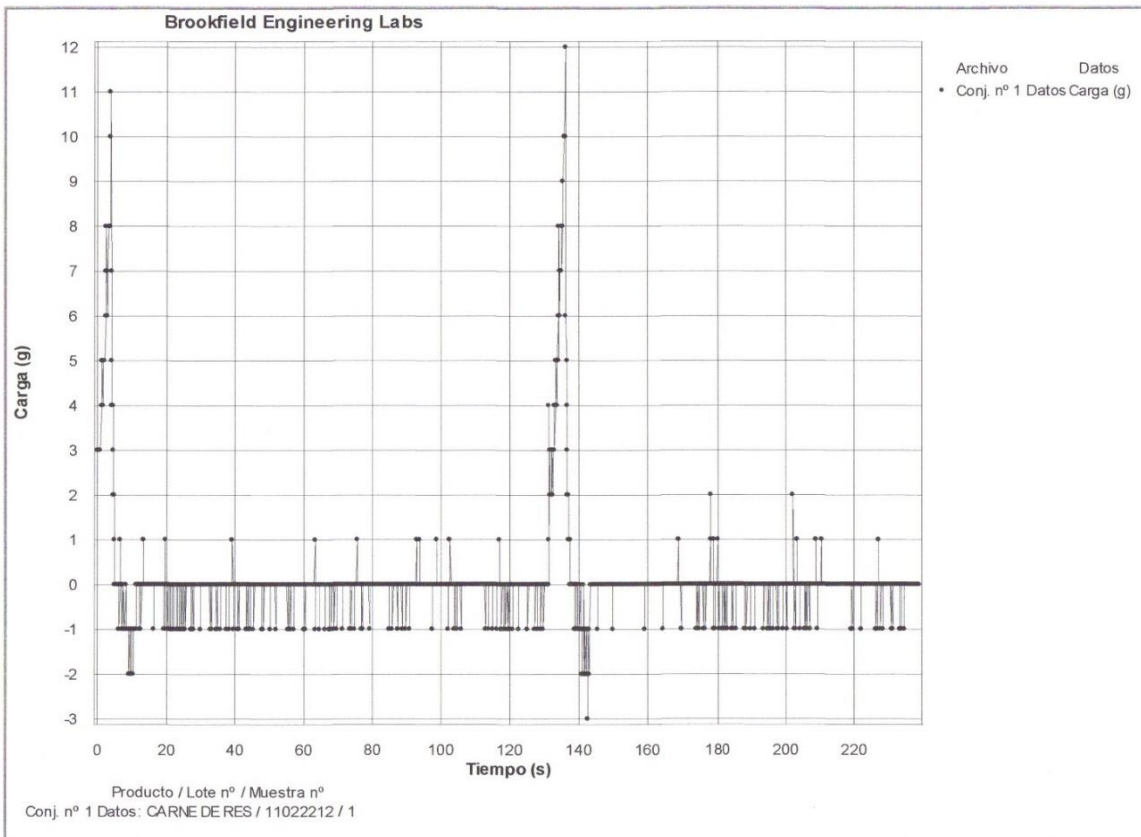


INFORME ESTADISTICO

#	<u>Descripción Muestra</u>		Nº muestra:	<u>Resultados</u>	
	Nombre Producto	Nº lote		Ciclo 1 Dureza	Ciclo 2 Dureza
				g	g
1	CARNE DE RES	11022212	1	11	12
2	CARNE DE RES	11022212	3	13	10
			Mínimo	11	10
			Máximo	13	12
			Promedio	12	11
			Desviación Estandar	1	1

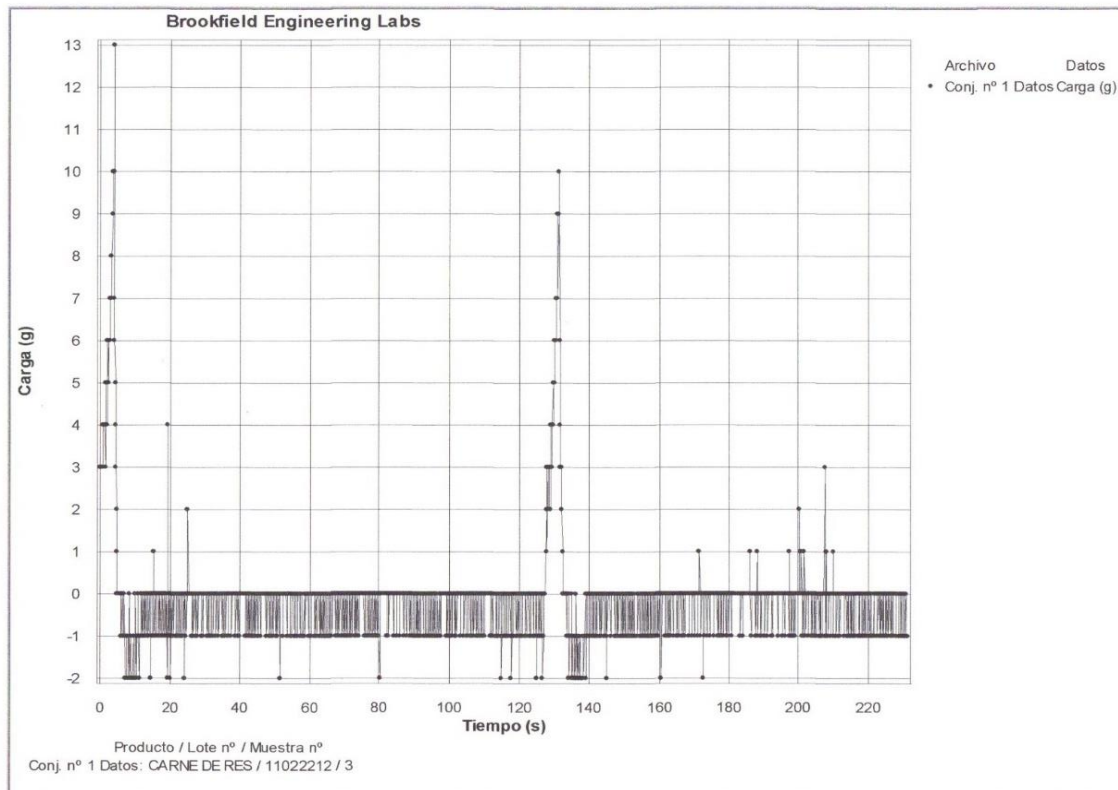
INFORME DATOS

Descripción Muestra	
Nombre Producto: CARNE DE RES	Notas:
Nº lote: 11022212	01-001
Nº muestra: 1	
Dimensiones:	
Forma: Bloque	
Longitud: 40,00 mm	
Anchura: 30,00 mm	
Altura: 5,00 mm	
Método Test	
Fecha: 15/08/2022	Hora: 10:59:14
Tipo de Test: APT	Tpo. Recuperación: 0 s
Objetivo: 2,0 mm	Mismo activador: Exacto
Esperar t.: 0 s	Velocidad Pretest: 2 mm/s
Carga Activación: 4 g	Fr. Muestreo: 10 puntos/seg
Vel. Test: 0,5 mm/s	Sonda: TA42
Velocidad Vuelta: 0,5 mm/s	Elemento: TA-BT-KI
Contador ciclos: 2	Celda Carga: 10000g
Resultados	
Ciclo 1 Dureza:	11 g
Ciclo 2 Dureza:	12 g



INFORME DATOS

<u>Descripción Muestra</u>	
Nombre Producto: CARNE DE RES	Notas:
Nº lote: 11022212	01-001
Nº muestra: 3	
Dimensiones:	
Forma: Bloque	
Longitud: 40,00 mm	
Anchura: 30,00 mm	
Altura: 5,00 mm	
<u>Método Test</u>	
Fecha: 15/08/2022	Hora: 11:09:45
Tipo de Test: APT	Tpo. Recuperación: 0 s
Objetivo: 2,0 mm	Mismo activador: Exacto
Esperar t.: 0 s	Velocidad Pretest: 2 mm/s
Carga Activación: 4 g	Fr. Muestreo: 10 puntos/seg
Vel. Test: 0,5 mm/s	Sonda: TA42
Velocidad Vuelta: 0,5 mm/s	Elemento: TA-BT-KI
Contador ciclos: 2	Celda Carga: 10000g
<u>Resultados</u>	
Ciclo 1 Dureza:	13 g
Ciclo 2 Dureza:	10 g

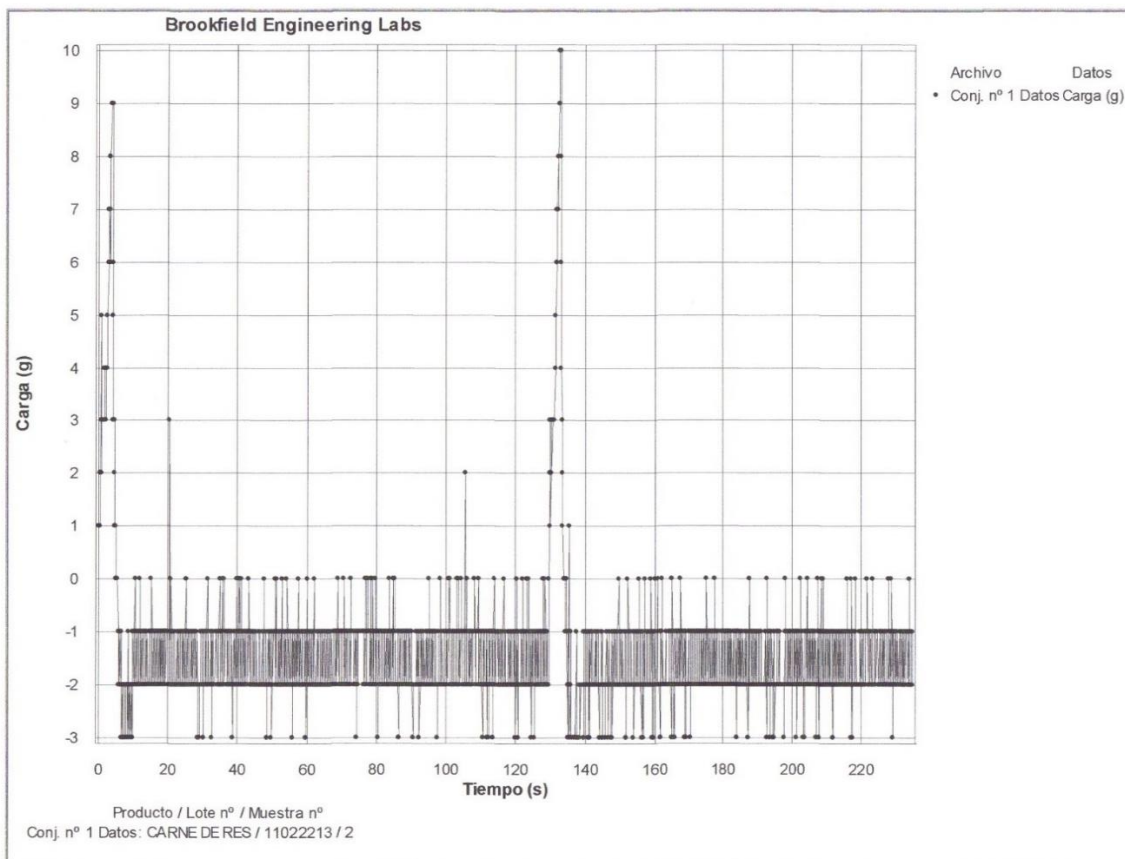


INFORME ESTADISTICO

#	<u>Descripción Muestra</u>		Nº muestra:	<u>Resultados</u>	
	Nombre Producto	Nº lote		Ciclo 1 Dureza	Ciclo 2 Dureza
				g	g
1	CARNE DE RES	11022213	2	9	10
2	CARNE DE RES	11022213	3	11	10
			Mínimo	9	10
			Máximo	11	10
			Promedio	10	10
			Desviación Estandar	1	0

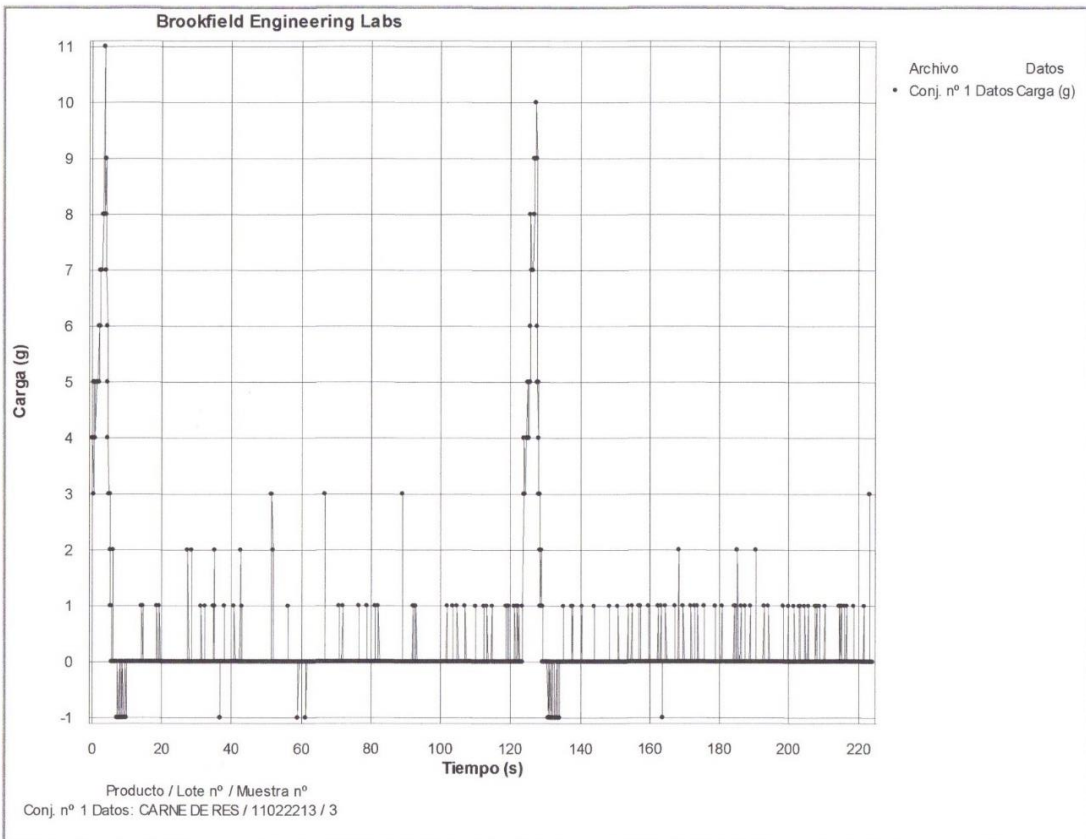
INFORME DATOS

Descripción Muestra	
Nombre Producto: CARNE DE RES	Notas:
Nº lote: 11022213	01-001
Nº muestra: 2	
Dimensiones:	
Forma: Bloque	
Longitud: 40,00 mm	
Anchura: 30,00 mm	
Altura: 5,00 mm	
Método Test	
Fecha: 15/08/2022	Hora: 11:30:29
Tipo de Test: APT	Tpo. Recuperación: 0 s
Objetivo: 2,0 mm	Mismo activador: Exacto
Esperar t.: 0 s	Velocidad Pretest: 2 mm/s
Carga Activación: 4 g	Fr. Muestreo: 10 puntos/seg
Vel. Test: 0,5 mm/s	Sonda: TA42
Velocidad Vuelta: 0,5 mm/s	Elemento: TA-BT-KI
Contador ciclos: 2	Celda Carga: 10000g
Resultados	
Ciclo 1 Dureza: 9 g	
Ciclo 2 Dureza: 10 g	



INFORME DATOS

<u>Descripción Muestra</u>	
Nombre Producto: CARNE DE RES	Notas:
Nº lote: 11022213	01-001
Nº muestra: 3	
Dimensiones:	
Forma: Bloque	
Longitud: 40,00 mm	
Anchura: 30,00 mm	
Altura: 5,00 mm	
<u>Método Test</u>	
Fecha: 15/08/2022	Hora: 11:35:36
Tipo de Test: APT	Tpo. Recuperación: 0 s
Objetivo: 2,0 mm	Mismo activador: Exacto
Esperar t.: 0 s	Velocidad Pretest: 2 mm/s
Carga Activación: 4 g	Fr. Muestreo: 10 puntos/seg
Vel. Test: 0,5 mm/s	Sonda: TA42
Velocidad Vuelta: 0,5 mm/s	Elemento: TA-BT-KI
Contador ciclos: 2	Celda Carga: 10000g
<u>Resultados</u>	
Ciclo 1 Dureza:	11 g
Ciclo 2 Dureza:	10 g

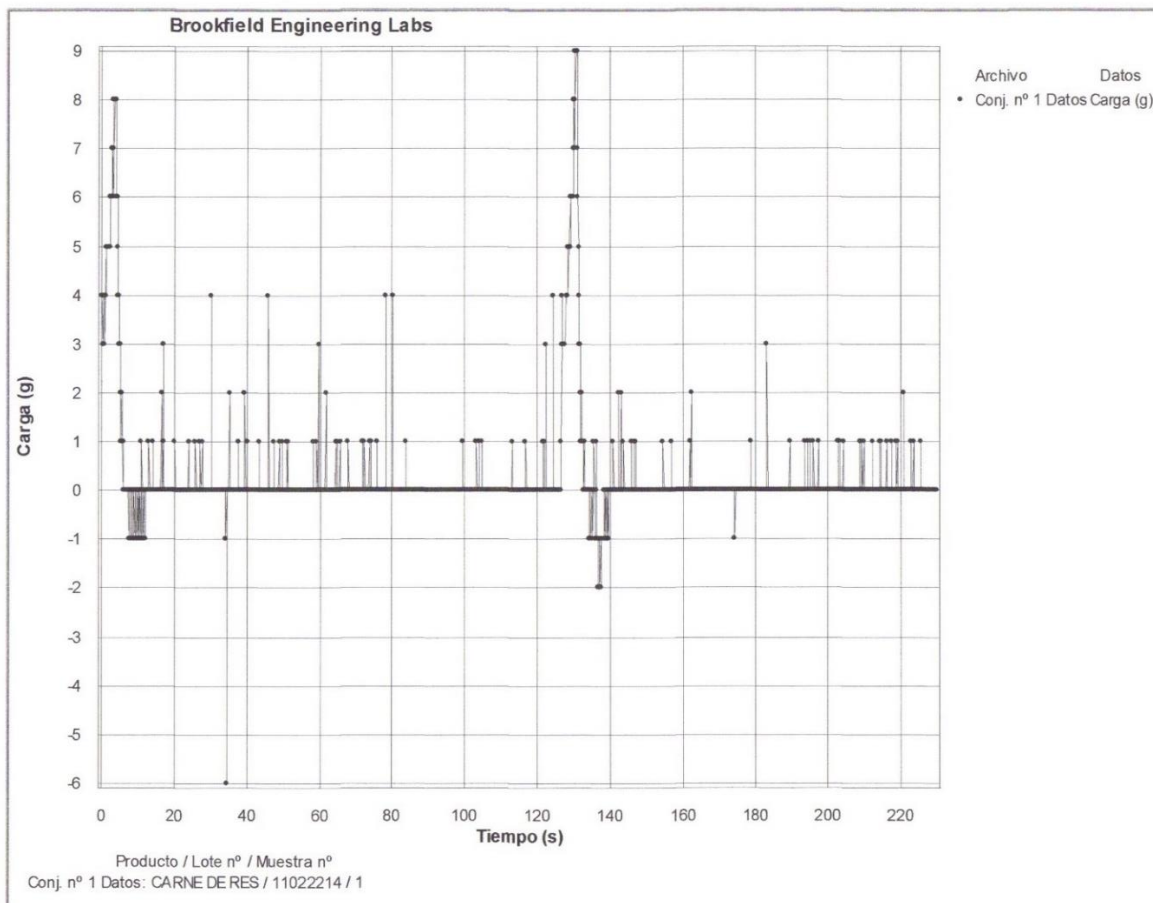


INFORME ESTADISTICO

#	<u>Descripción Muestra</u>		Nº muestra:	<u>Resultados</u>	
	Nombre Producto	Nº lote		Ciclo 1 Dureza	Ciclo 2 Dureza
				g	g
1	CARNE DE RES	11022214	1	8	9
2	CARNE DE RES	11022214	2	11	11
3	CARNE DE RES	11022214	3	11	11
			Mínimo	8	9
			Máximo	11	11
			Promedio	10	10
			Desviación Estandar	2	1

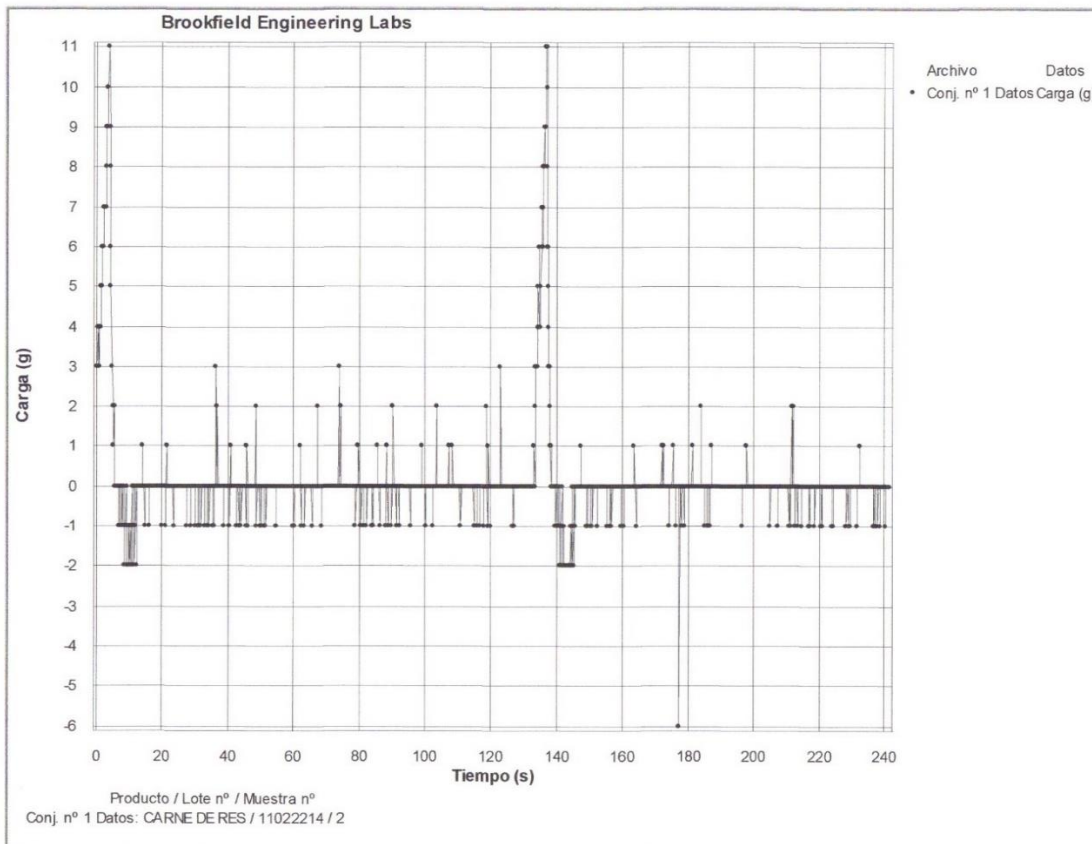
INFORME DATOS

Descripción Muestra	
Nombre Producto: CARNE DE RES	Notas:
Nº lote: 11022214	01-001
Nº muestra: 1	
Dimensiones:	
Forma: Bloque	
Longitud: 40,00 mm	
Anchura: 30,00 mm	
Altura: 5,00 mm	
Método Test	
Fecha: 15/08/2022	Hora: 11:42:52
Tipo de Test: APT	Tpo. Recuperación: 0 s
Objetivo: 2,0 mm	Mismo activador: Exacto
Esperar t.: 0 s	Velocidad Pretest: 2 mm/s
Carga Activación: 4 g	Fr. Muestreo: 10 puntos/seg
Vel. Test: 0,5 mm/s	Sonda: TA42
Velocidad Vuelta: 0,5 mm/s	Elemento: TA-BT-KI
Contador ciclos: 2	Celda Carga: 10000g
Resultados	
Ciclo 1 Dureza:	8 g
Ciclo 2 Dureza:	9 g



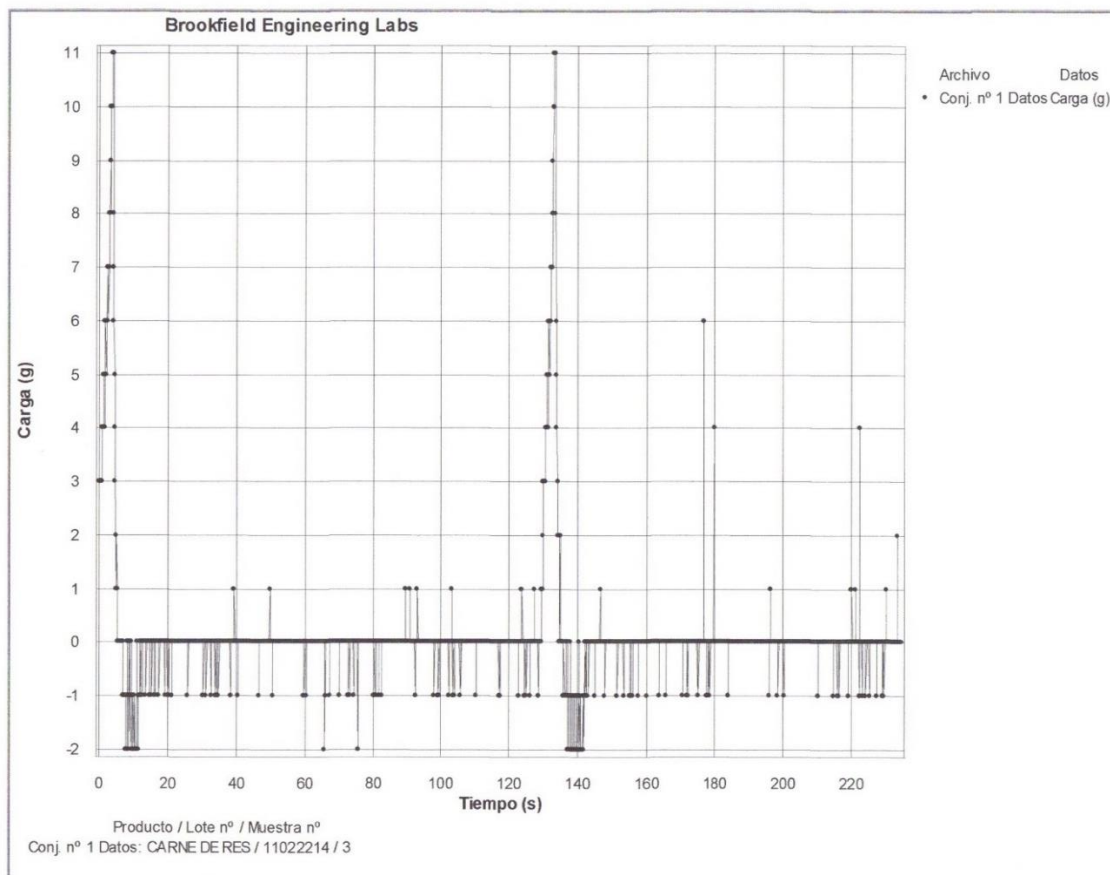
INFORME DATOS

<u>Descripción Muestra</u>	
Nombre Producto: CARNE DE RES	Notas:
Nº lote: 11022214	01-001
Nº muestra: 2	
Dimensiones:	
Forma: Bloque	
Longitud: 40,00 mm	
Anchura: 30,00 mm	
Altura: 5,00 mm	
<u>Método Test</u>	
Fecha: 15/08/2022	Hora: 11:48:12
Tipo de Test: APT	Tpo. Recuperación: 0 s
Objetivo: 2,0 mm	Mismo activador: Exacto
Esperar t.: 0 s	Velocidad Pretest: 2 mm/s
Carga Activación: 4 g	Fr. Muestreo: 10 puntos/seg
Vel. Test: 0,5 mm/s	Sonda: TA42
Velocidad Vuelta: 0,5 mm/s	Elemento: TA-BT-KI
Contador ciclos: 2	Celda Carga: 10000g
<u>Resultados</u>	
Ciclo 1 Dureza:	11 g
Ciclo 2 Dureza:	11 g



INFORME DATOS

<u>Descripción Muestra</u>	
Nombre Producto: CARNE DE RES	Notas:
Nº lote: 11022214	01-001
Nº muestra: 3	
Dimensiones:	
Forma: Bloque	
Longitud: 40,00 mm	
Anchura: 30,00 mm	
Altura: 5,00 mm	
<u>Método Test</u>	
Fecha: 15/08/2022	Hora: 11:53:21
Tipo de Test: APT	Tpo. Recuperación: 0 s
Objetivo: 2,0 mm	Mismo activador: Exacto
Esperar t.: 0 s	Velocidad Pretest: 2 mm/s
Carga Activación: 4 g	Fr. Muestreo: 10 puntos/seg
Vel. Test: 0,5 mm/s	Sonda: TA42
Velocidad Vuelta: 0,5 mm/s	Elemento: TA-BT-KI
Contador ciclos: 2	Celda Carga: 10000g
<u>Resultados</u>	
Ciclo 1 Dureza:	11 g
Ciclo 2 Dureza:	11 g



Anexo 11.

Fase experimental

- **Extracción de enzima actinidina y bromelina**



Recepción y clasificación



Pelado y troceado



Medición de pH y grados °Brix



Pesado y licuado



Colado y medición del volumen



Adición de etanol y pulpa con las diferentes concentraciones



Agitación y congelación (-5; -10)



Centrifugación de 6000 rpm por 25 min



Preparación de la muestra y liofilización



Peso y envasado de la enzima

- **Cuantificación proteica**



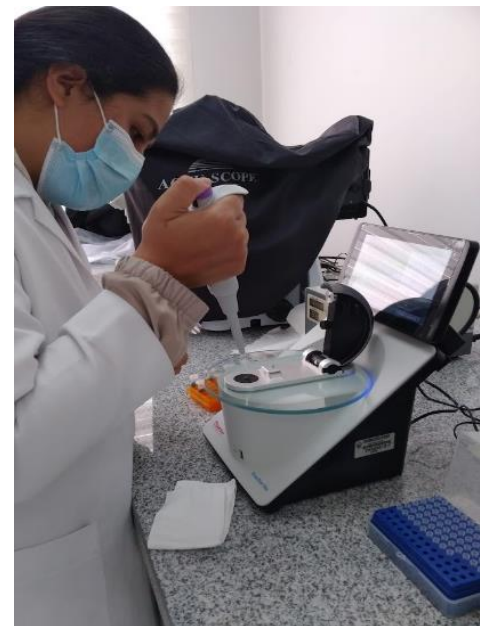
Pesado de enzimas liofilizadas



Preparación de las enzimas y disoluciones estándar

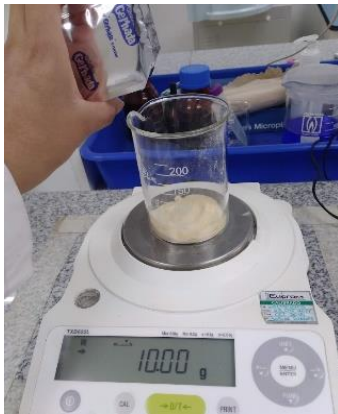


Adición del Reactivo Bradford



Medición en el espectrofotómetro

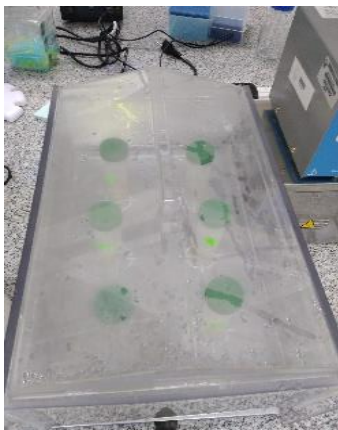
- **Actividad enzimática**



Pesado de muestras



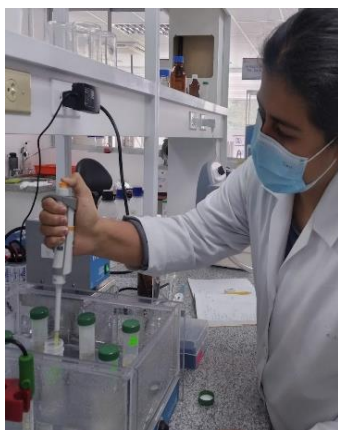
Preparación de las enzimas y gelatina



Baño maría



Medición de pH a los tratamientos sin soluciones



Adición diferentes soluciones a los tratamientos

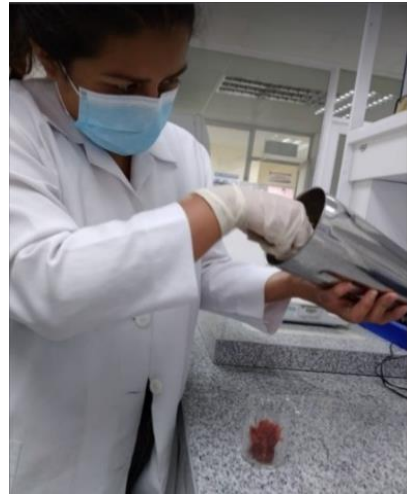


Volumen total de los diferentes tratamientos

- **Determinación de pH en la carne de res**



Adición de la enzima a la carne



Trituración de la carne con los diferentes tratamientos

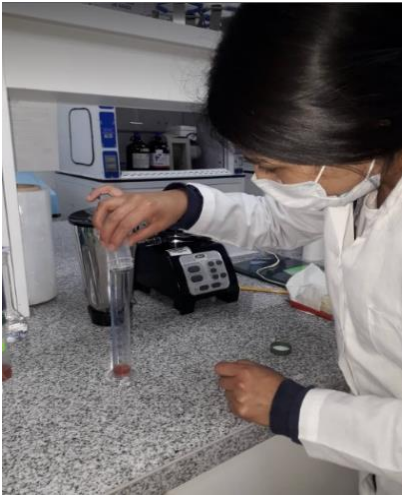


Tratamientos en reposo



Medición de pH

- **Capacidad de retención de agua en la carne de res**



Adición de solución



Decantación del sobrenadante

- **Análisis instrumental de textura en la carne de res**



Peso de la carne



Adición de diferentes concentraciones de enzimas

- **Defensa de campo**



Glosario de términos

Bromelina: Es una enzima de origen vegetal en la piña, capaz de descomponer las proteínas en los aminoácidos que las constituyen.

Actinidina: Es una enzima exclusiva del kiwi, tiene la capacidad de descomponer una amplia gama de proteínas alimenticias de manera más completa y rápida.

Palatabilidad: Se emplea para aludir a la cualidad de un alimento que resulta agradable al paladar.

Terneza: La dificultad con la que una carne se puede cortar o masticar.

Textura: Son propiedades físicas del alimento como la apariencia, la sensación al tocarlo y al sentirlo en la boca.

Hidrólisis: En el proceso de hidrólisis, los átomos que componen las moléculas de agua pasan a formar enlaces químicos con la sustancia que reacciona con el agua.

Proteolítica: También conocidas como proteasas o peptidasas, son las responsables de catalizar el hidrólisis de los enlaces peptídicos de otras proteínas, dando como resultado la producción de péptidos o aminoácidos libres.

Enzima: Son proteínas complejas que producen un cambio químico específico en todas las partes del cuerpo.

Proliferar: Reproducirse en forma similares.

Agar: Se utiliza como agente gelificante para dar solidez a los medios de cultivo.

Pectina: Es un producto natural presente en la pared celular de todas las plantas superiores y es usada por la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica por sus propiedades gelatinizantes.

Glicoproteína: Son moléculas compuestas por una proteína unida a uno o varios glúcidos, simples o compuestos.

Vinícola: Es la fabricación de vinos.

Degradar: Reducir o desgastar las cualidades inherentes a alguien o algo.

Palatabilidad: es la recompensa hedónica proporcionada por alimentos o líquidos que son agradables al "paladar", que a menudo varía en relación con la satisfacción homeostática de las necesidades nutricionales, de agua o de energía.

Cisteína: Es un α -aminoácido se trata de un aminoácido no esencial, lo que significa que puede ser sintetizado.

Proteasa: Tipo de enzima que descompone las proteínas en proteínas más pequeñas o unidades proteínicas más pequeñas, como péptidos o aminoácidos.

Antioxidantes: Es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas., la oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante.

Deshidratación: La fruta seca o fruta desecada es un producto que se obtiene del secado realizado a diversas frutas especiales, propensas a este proceso; a diferencia de los frutos secos que no requieren generalmente de este proceso para ello

Irradiación: Una técnica que permite conservar los alimentos en mejores condiciones por más tiempo al eliminar microorganismos que podrían ser nocivos para el ser humano.

Catalítica: Es proporcionar una vía alternativa de menor energía para la reacción. Para que esto ocurra, la sustancia catalítica interactúa con un reactivo y forma un compuesto intermedio.

Enzimática: Son moléculas orgánicas que actúan como catalizadores de reacciones químicas, es decir, aceleran la velocidad de reacción.

Autofecunda: Un tipo de reproducción asexual en el que se entrecruzan los gametos femeninos y masculinos del mismo individuo, por lo que ocurre en organismos hermafroditas.

Hexametáfosfato: Actúa como sal secuestrante neutra, agente defloculante, endurecedor, fortalecedora de pastas, emulsificante, reforzador del sabor, humectante, estabilizador y espesante.

Polifosfato: Son sales o ésteres de oxianiones poliméricos formados a partir de unidades estructurales tetraédricas unidas entre sí compartiendo átomos de oxígeno, pueden adoptar estructuras de anillo lineales o cíclicas.

Ácido glutámico: En su forma ionizada, el glutamato es uno de los veinte aminoácidos que forman parte de las proteínas.

Emulsionante: Son aditivos alimentarios utilizados para ayudar a mezclar dos sustancias que normalmente se separan cuando se combinan.

Triptófano: Un aminoácido esencial en la nutrición humana. Es uno de los 20 aminoácidos incluidos en el código genético.

Tirosina: Aminoácido no esencial, lo que implica que nuestro organismo puede sintetizarlo.

Absorbancia: Es un concepto más relacionado con la muestra puesto que nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma, y se define como el logaritmo de $1/T$.

Albúmina sérica bovina (ASB): Es una proteína extraída del suero bovino que es ampliamente usada en muchos procedimientos de bioquímica.

Colisión: Es un acto que ocurre entre objetos, en un lapso de corta duración, durante el cual se desarrollan fuerzas internas de gran magnitud entre los mismos, sobrepasando otras fuerzas influyentes.