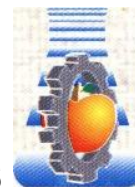




UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS



CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

TEMA

**“EXTRACCIÓN, CONCENTRACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA
ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA BROMELINA A PARTIR DE LA PIÑA”**

Trabajo de Investigación (Graduación). Modalidad: Seminario de Graduación. Presentando como Requisito Previo a la Obtención del Título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos

AUTOR: Robayo Muñoz Darío Francisco.

TUTOR: Ing. Juan De Dios Alvarado. M.Sc.

AMBATO – ECUADOR

2011

Ing. Juan De Dios Alvarado. M.Sc.

TUTOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICA:

Que el presente Trabajo de Investigación: **“EXTRACCIÓN, CONCENTRACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA BROMELINA A PARTIR DE LA PIÑA”** desarrollado por Robayo Muñoz Darío Francisco; observa las orientaciones metodológicas de la Investigación Científica.

Que ha sido dirigida en todas sus partes, cumpliendo con las disposiciones en la Universidad Técnica de Ambato, a través del Seminario de Graduación.

Por lo expuesto:

Autorizo su presentación ante los organismos competentes para la respectiva calificación.

Ambato, Junio del 2010

Ing. Juan De Dios Alvarado. M.Sc.
TUTOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido del Trabajo de Investigación **“EXTRACCIÓN, CONCENTRACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA BROMELINA A PARTIR DE LA PIÑA”**, corresponde a Robayo Muñoz Darío Francisco y del Ing. Juan De Dios Alvarado. M.Sc., y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Técnica de Ambato.

Francisco Robayo
Trabajo de Investigación

Ing. Juan De Dios Alvarado. M.Sc.
Trabajo de Investigación

A CONSEJO DIRECTIVO DE LA FCIAL

El Tribunal de Defensa del Trabajo de Investigación “**EXTRACCIÓN, CONCENTRACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA BROMELINA A PARTIR DE LA PIÑA**”, presentado por el Señor Robayo Muñoz Darío Francisco y conformada por: El Ing. Mario Paredes y el Ing. Roman Rodríguez Miembros del Tribunal de Defensa y Tutor del Trabajo de Investigación Ing. Juan De Dios Alvarado. M.Sc. y presidido por el Ingeniero Romel Rivera, Presidente de Consejo Directivo, Ingeniera Mayra Paredes E., Coordinadora del Décimo Seminario de Graduación FCIAL-UTA, una vez escuchada la defensa oral y revisado el Trabajo de Investigación escrito en el cuál se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas por el Tribunal de Defensa del Trabajo de Investigación, remite el presente Trabajo de Investigación para uso y custodia en la Biblioteca de la FCIAL.

Ing. Romel Rivera
Presidente Consejo Directivo

Ing. Mayra Paredes E.
Coordinadora Décimo Seminario de Graduación

Ing. Mario Paredes
Miembro del Tribunal

Ing. Roman Rodríguez
Miembro del Tribunal

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mis padres Patricia y Marco, por todo lo que me han dado en esta vida, especialmente por sus sabios consejos y por estar a mi lado en los momentos difíciles.

A mis abuelitos y demás familia cercana que me han ayudado durante mi carrera.

A Cristina, por estar a mi lado brindándome el aliento necesario.

Francisco Robayo

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Universidad Técnica de Ambato, y a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Al Ing. Juan De Dios Alvarado M.Sc., tutor y docente, gracias por su apoyo a este trabajo.

A mis amigos y amigas con los que compartimos momentos inolvidables y los que hicieron de la universidad una etapa grande en mi vida.

Francisco Robayo

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PÁGINAS PRELIMINARES

Tema	i
Aprobación del Tutor	ii
Autoría	iii
Aprobación del Tribunal de Grado	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice General de Contenidos	vii
Índice de Tablas y Figuras	xi
Resumen Ejecutivo	xvi

CAPITULO I

EL PROBLEMA

1.1 TEMA	1
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.2.1 CONTEXTUALIZACIÓN	1
1.2.1.1 Macro	1
1.2.1.2 Meso	3
1.2.1.3 Micro	4
1.2.2 ANÁLISIS CRÍTICO	6
1.2.3 PROGNOSIS	7
1.2.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	7
1.2.5 INTERROGANTES	7
1.2.6 DELIMITACIÓN DEL OBJETO DE INVESTIGACIÓN	7
1.3 JUSTIFICACIÓN	8

1.4 OBJETIVOS	9
1.4.1 GENERAL	9
1.4.2 ESPECÍFICOS	9

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN	10
2.1.1 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICO-CIENTÍFICA	12
2.1.1.1 Enzimas	12
2.1.1.2 Tipos De Enzimas	14
2.1.1.3 Bromelina	16
2.1.1.3.1 Acciones De La Bromelina	17
2.1.1.4 Piña	18
2.1.1.4.1 Hábitat	19
2.1.1.4.2 Cultivo	19
2.1.1.4.3 Forma Y Características Del Fruto	21
2.1.1.5 Cultivo De Piña En Ecuador	21
2.1.1.6 Viscosidad	25
2.1.1.6.1 Viscosidad Absoluta O Dinámica	27
2.1.1.6.2 Viscosidad Cinemática	27
2.1.1.6.3 Algunos De Los Medidores De Viscosidad	
Conocidos	27
2.1.1.6.3.1 Viscosímetro De Tubo Capilar	28
2.1.1.6.3.2 Viscosímetro De Oswald-Cannon-Fenske	28
2.1.1.6.3.3 Viscosímetro De Caída Libre	28
2.2 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA	28

2.3 FUNDAMENTACIÓN LEGAL	29
2.4 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES	30
2.4.1 RED DE INCLUSIÓN	30
2.5 HIPÓTESIS	30
2.6 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES	31

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN	32
3.2 NIVELES O TIPOS DE INVESTIGACIÓN	32
3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA	33
3.3.1 POBLACIÓN	33
3.3.2 MUESTRA	33
3.3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL	33
3.3.4 RESPUESTA EXPERIMENTAL	34
3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	35
3.4.1 VARIABLE INDEPENDIENTE	35
3.4.2 VARIABLE DEPENDIENTE	36
3.5 PLAN DE RECOPIACIÓN DE INFORMACIÓN	36
3.6 PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	37

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	38
--------------------------------	----

4.2 INTERPRETACIÓN DE DATOS	38
4.2.1 MATERIA PRIMA	38
4.2.2 RESPUESTAS EXPERIMENTALES	39
4.2.2.1 EXTRACCIÓN DEL JUGO	39
4.2.2.2 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD	40
4.2.2.3 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA	41
4.3 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS	46

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES	47
5.2 RECOMENDACIONES	48

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1 DATOS INFORMATIVOS	50
6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA	51
6.3 JUSTIFICACIÓN	52
6.4 OBJETIVOS	52
6.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD	53
6.6 FUNDAMENTACIÓN	54
6.7 METODOLOGÍA	58
6.8 ADMINISTRACIÓN	59
6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN	60

MATERIALES DE REFERENCIA

BIBLIOGRAFÍA

61

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro #1. Clasificación de las enzimas existentes en la actualidad.
- Cuadro #2. Índice de maduración de la Piña.
- Cuadro #3. Actividad Enzimática de la bromelina.
- Cuadro #4. Presupuesto.
- Cuadro #5. Ecuaciones de la regresión lineal
- Cuadro #6. Análisis de varianza para los valores de la pendiente de la regresión lineal
- Cuadro #7. Modelo Operativo (Plan de acción).
- Cuadro #8. Administración de la Propuesta.
- Cuadro #9. Previsión de la Evaluación.

ÍNDICE DE FIGURAS

- Gráfico #1. Relación Causa - Efecto
- Gráfico #2. Cultivos de piña en Ecuador
- Gráfico #3. Incusiones conceptuales.

ANEXOS

ANEXO A. RESPUESTAS EXPERIMENTALES

- Tabla A1. Datos experimentales de la extracción de la bromelina

- Tabla A2. Datos experimentales del Tratamiento 1 (Piña verde)
Réplica-1
- Tabla A3. Datos experimentales del Tratamiento 1 (Piña verde)
Réplica-2
- Tabla A4. Datos experimentales promedio del Tratamiento 1 (Piña
verde)
- Tabla A5. Datos experimentales del Tratamiento 2 (Piña pintoná)
Réplica-1
- Tabla A6. Datos experimentales del Tratamiento 2 (Piña pintoná)
Réplica-2
- Tabla A7. Datos experimentales promedio del Tratamiento 2 (Piña
pintoná)
- Tabla A8. Datos experimentales del Tratamiento 3 (Piña madura)
Réplica-1
- Tabla A9. Datos experimentales del Tratamiento 3 (Piña madura)
Réplica-2
- Tabla A10. Datos experimentales promedio del Tratamiento 2 (Piña
madura)

ANEXO B. GRÁFICOS

Gráfico B1. Tiempo de escurrido (s) vs. Viscosidad (mPa*s), para el
Tratamiento 1 (Piña verde) réplica 1.

Gráfico B2. Tiempo de escurrido (s) vs. Viscosidad (mPa*s), para el
Tratamiento 1 (Piña verde) réplica 2.

- Gráfico B3. Tiempo de escurrido (s) vs. Viscosidad (mPa*s), para el promedio del Tratamiento 1 (Piña verde).
- Gráfico B4. Tiempo de escurrido (s) vs. Viscosidad (mPa*s), para el Tratamiento 2 (Piña pintona) réplica 1.
- Gráfico B5. Tiempo de escurrido (s) vs. Viscosidad (mPa*s), para el Tratamiento 2 (Piña pintona) réplica 2.
- Gráfico B6. Tiempo de escurrido (s) vs. Viscosidad (mPa*s), para el promedio del Tratamiento 2 (Piña pintona).
- Gráfico B7. Tiempo de escurrido (s) vs. Viscosidad (mPa*s), para el Tratamiento 3 (Piña madura) réplica 1.
- Gráfico B8. Tiempo de escurrido (s) vs. Viscosidad (mPa*s), para el Tratamiento 3 (Piña madura) réplica 2.
- Gráfico B9. Tiempo de escurrido (s) vs. Viscosidad (mPa*s), para el promedio del Tratamiento 3 (Piña madura).
- Gráfico B10. Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo B gráfico B1 para piña verde.
- Gráfico B11 Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo B gráfico B2 para piña verde.
- Gráfico B12 Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo B gráfico B3 para piña verde.
- Gráfico B13 Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo B gráfico B4 para piña pintona.
- Gráfico B14 Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo B gráfico B5 para piña pintona.

Gráfico B15 Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo B gráfico B6 para piña pintoná.

Gráfico B16 Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo B gráfico B7 para piña madura.

Gráfico B17 Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo B gráfico B8 para piña madura.

Gráfico B18 Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo B gráfico B9 para piña madura.

ANEXO C. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Tabla C1. Tratamientos y replicas con su respuesta experimental (intersección con el eje “y”).

Tabla C2. Análisis de Varianza para los valores de la intersección.

Tabla C3. Cuadro de análisis de varianza para los valores de la intersección.

Tabla C4. Diferencia Mínima Significativa para los tratamientos (Prueba de Tukey)

Tabla C5. Tratamientos y replicas con su respuesta experimental (exponente de la regresión exponencial).

Tabla C6 Análisis de Varianza para los valores del exponente.

Tabla C7 Cuadro de análisis de varianza para los valores del exponente.

Tabla C8. Diferencia Mínima Significativa para los tratamientos (Prueba de Tukey)

ANEXO D. MÉTODOS UTILIZADOS PARA LOS ANÁLISIS.

- Esquema D1. Extracción de la enzima.
- Esquema D2. Concentración de la enzima.
- Esquema D3. Determinación de la Viscosidad.

ANEXO E. FOTOGRAFÍAS.

- Fotografía E1. Materia prima: piña verde, pintona y madura.
- Fotografía E2. Lavado de la materia prima, piñas verdes.
- Fotografía E3. Troceado de la piña verde.
- Fotografía E4. Extracción del jugo de la piña verde.
- Fotografía E5. Filtrado del jugo obtenido de piña verde.
- Fotografía E6. Secado del jugo obtenido de piña verde a 30°C.
- Fotografía E7. Materia seca, piñas verdes.
- Fotografía E8. Materia seca, piñas pintonas.
- Fotografía E9. Materia seca, piñas Maduras.
- Fotografía E10. Pesado de la leche en polvo.
- Fotografía E11. Pesado de la enzima obtenida de piña verde.
- Fotografía E12. Disolución de la enzima obtenida de piña verde en ácido acético.
- Fotografía E13. Disolución de la leche en polvo en agua a 30°C.
- Fotografía E14. Determinación de la viscosidad.

RESUMEN EJECUTIVO

La bromelina es una enzima purificada del fruto de la piña y consiste en una cisteína-proteinasa de naturaleza ácida perteneciente a la misma familia que la papaína, obtenida de la papaya o *Carica papaya*. La experiencia con enzima en el país esta despuntando y la bromelina, debido a sus diferentes usos, puede llegar a ser de gran importancia a nivel industrial.

Para este estudio se trató de probar el efecto de 3 grados de maduración de la piña: verde, pintona y madura; y su efecto en la actividad enzimática de la enzima bromelina. Se trabajó con 10 piñas como base para cada grado de maduración de la fruta, repartidas en las 2 réplicas que se evaluaron, donde se trabajó con un total de tres tratamientos. Se seleccionó la fruta para los tres grados de maduración, en la extracción del jugo realizada por maceración del fruto de la piña en un mortero, luego se recolecta y se procede a secar en una incubadora a 30°C durante 18±1 horas, dependiendo de la cantidad de jugo; de esta manera se logró concentrar la enzima y se la conservó en congelación.

Para la evaluación de la actividad enzimática se utilizó determinaciones de viscosidad de la leche, obtenida por disolución de leche en polvo, añadida a ésta 10ml de una solución de 0,1g de la enzima disuelta en 100ml de ácido acético; con estos valores de viscosidad se realizaron curvas de tiempo (s) vs. viscosidad (mPa*s); en las que se realizó una regresión exponencial, obteniendo las respuestas experimentales que fueron los valores de corte con el eje y de éstas regresiones.

Con el análisis estadístico se demostró que el mejor tratamiento es el T1 que corresponde a piñas verdes, es decir, que tiene mayor actividad enzimática con relación a los otros grados de madurez de piñas.