



**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 PAPAÍNA A PARTIR DE LA PAPAYA (*Carica papaya*)”.**

---

Trabajo de Investigación (Graduación). Modalidad: Seminario de Graduación. Presentado como requisito previo a la obtención del Título de Ingeniera Bioquímica otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**AUTOR: Villavicencio Marcial María Cristina.**

**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 PAPAÍNA A PARTIR DE LA PAPAYA (*Carica papaya*)”, desarrollado por el María Cristina Villavicencio Marcial; 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 2011

.....

Ing. Juan de Dios Alvarado M.Sc.

**TUTOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

## AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido del Trabajo de Investigación “EXTRACCIÓN, CONCENTRACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA PAPAÍNA A PARTIR DE LA PAPAYA (*Carica papaya*)”, corresponde a Cristina Villavicencio y del Ing. Juan de Dios Alvarado M.Sc., y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Técnica de Ambato.

---

Cristina Villavicencio  
M.Sc.

---

Ing. Juan de Dios Alvarado

## **A CONSEJO DIRECTIVO DE LA FCIAL**

El Tribunal de Defensa del Trabajo de Investigación “EXTRACCIÓN, CONCENTRACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA PAPAÍNA A PARTIR DE LA PAPAYA (*Carica papaya*)”, presentado por la Señorita María Cristina Villavicencio Marcial y conformada por: Ing. Gladys Navas e Ing. Luis Anda, 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. Miembro del Tribunal**

---

**Ing. Miembro del Tribunal**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo va dedicado a Dios por guiarme siempre por el camino del bien y colmar mi vida de bendiciones.

A mis padres Carlos y Alicia por ser siempre un ejemplo de vida, por brindarme amor, comprensión y apoyarme en todo momento en mi vida.

A mis abuelitos Papito y Mamá Angelita, que siempre me han ofrecido su cariño incondicional.

A Pancho por ser un gran apoyo en mi vida; Fernanda, Nicole, Martín por alegrar mis días y al ser que siempre me acompaña en todo momento Lucas.

Cristina Villavicencio.

## **AGRADECIMIENTO**

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

A los Docentes de la FCIAL por impartir sus conocimientos que me han hecho crecer como persona y en el campo profesional.

Al Ing. Juan De Dios Alvarado M.Sc., Tutor de la tesis, gracias por su apoyo incondicional, colaboración y paciencia para desarrollar este trabajo.

A todos mis amigos (as) que me han acompañado durante toda mi vida, compartiendo momentos inolvidables.

# 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	xii
Resumen	xix

## CAPITULO I

### EL PROBLEMA

1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN	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	7
1.2.2 ANÁLISIS CRÍTICO	8
1.2.3 PROGNOSIS	9
1.2.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	9
1.2.5 PREGUNTAS DIRECTRICES	10
1.2.6 DELIMITACIÓN	10

1.3 JUSTIFICACIÓN	11
1.4 OBJETIVOS	12
1.4.1 GENERAL	12
1.4.2 ESPECÍFICOS	12

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

2.1 ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN	13
2.1.1 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICO-CIENTÍFICA	14
2.1.1.1 PAPAYA	14
2.1.1.1.1 REQUERIMIENTOS CLIMÁTICOS	15
2.1.1.1.2 TEMPERATURA	16
2.1.1.1.3 HUMEDAD	16
2.1.1.1.4 LUZ	16
2.1.1.1.5 SUELOS	17
2.1.1.1.6 PROPIEDADES MEDICINALES	17
2.1.1.2 LA PAPAYA EN EL CONTEXTO MUNDIAL	20
2.1.1.3 PAPAYA EN ECUADOR	24
2.1.1.3.1 AGROECOLOGÍA	26
2.1.1.3.2 DEFINICIÓN DE PROBLEMAS ACTUALES	27
2.1.1.4 ENZIMAS	28
2.1.1.4.1 TIPOS DE ENZIMAS	30
2.1.1.4.2 PAPAÍNA	32
2.1.1.4.2.1 USOS	34
2.1.1.5 VISCOSIDAD	35
2.1.1.5.1 VISCOSIDAD ABSOLUTA O DINÁMICA	36
2.1.1.5.2 VISCOSIDAD CINEMÁTICA	37
2.1.1.5.3 VISCOSÍMETRO	37
2.1.1.5.3.1 VISCOSÍMETRO DE TUBO CAPILAR	38



2.1.1.5.3.2 VISCOSÍMETRO DE OSWALD-CANNON- FENSKE	38
2.1.1.5.3.3 VISCOSÍMETRO DE CAÍDA LIBRE	38
2.2 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA	39
2.3 FUNDAMENTACIÓN LEGAL	40
2.4 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES	40
2.5 HIPÓTESIS	46
2.6 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES	46

### **CAPITULO III**

#### **METODOLOGÍA**

3.1 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN	47
3.2 NIVELES O TIPO DE INVESTIGACIÓN	48
3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA	48
3.3.1 UNIDAD EXPERIMENTAL	49
3.3.2 RESPUESTAS EXPERIMENTALES	49
3.3.3 ANÁLISIS FUNCIONAL	50
3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	51
3.4.1 VARIABLE INDEPENDIENTE	51
3.4.2 VARIABLE DEPENDIENTE	52

3.5 PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	53
3.6 PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	53
3.6.1 PROCEDIMIENTO	53

## **CAPÍTULO IV**

### **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

4.1 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	54
4.2 INTERPRETACIÓN DE DATOS	55
4.2.1 MATERIA PRIMA	55
4.2.2 RESPUESTAS EXPERIMENTALES	55
4.2.2.1 EXTRACCIÓN DEL LÁTEX	55
4.2.2.2 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD	58
4.2.2.3 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA	59
4.3 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS	63

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1 CONCLUSIONES	64
5.2 RECOMENDACIONES	66

## **CAPÍTULO VI**

### **PROPUESTA**

6.1 DATOS INFORMATIVOS	68
6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA	69
6.3 JUSTIFICACIÓN	70
6.4 OBJETIVOS	71
6.4.1 OBJETIVO GENERAL	71
6.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	71
6.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD	71
6.6 FUNDAMENTACIÓN	72
6.7 METODOLOGÍA	77
6.8 ADMINISTRACIÓN	78
6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN	79

### **MATERIALES DE REFERENCIA**

BIBLIOGRAFÍA	80
--------------	----

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

### ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1. Gasto en Ciencia y Tecnología por naturaleza de la Institución en Ecuador.
- Tabla 2. Composición Nutricional.
- Tabla 3. Principales Exportadores Mundiales de Papaya.
- Tabla 4. Países con mayor producción de papaya en el año 2003.
- Tabla 5. Clasificación de las enzimas existentes en la actualidad.
- Tabla 6. Índice de maduración de la papaya.
- Tabla 7. Actividad Enzimática de la papaína.
- Tabla 8. Costos de la investigación.
- Tabla 9. Ecuaciones de la regresión lineal.
- Tabla 10. Análisis de varianza para los valores de la pendiente de la regresión lineal.
- Tabla 11. Prueba comparativa de Tukey al 5%.
- Tabla 12. Modelo Operativo (Plan de acción).
- Tabla 13. Administración de la Propuesta.
- Tabla 14. Previsión de la Evaluación.

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

- Figura 1. Área general de investigación en biotecnología en el Ecuador.
- Figura 2. Sector de investigación y aplicación biotecnológica por los grupos identificados en el Ecuador.
- Figura 3. Árbol de problema.
- Figura 4. Superficie cultivada con frutas a nivel mundial.
- Figura 5. Promedios de Rendimiento 1993-2003.
- Figura 6. Producción Mundial de Papaya.
- Figura 7. Estructura de la enzima Papaína.
- Figura 8. Cys25, His159 y Asn175 forman la tríada catalítica
- Figura 9. Diagrama de Procesos de extracción de la enzima.
- Figura 10. Diagrama de Procesos de la concentración de la enzima.
- Figura 11. Diagrama de Procesos de la determinación de la viscosidad.
- Figura 12. Inclusiones Conceptuales.

## **ANEXOS**

### **ANEXO A. RESPUESTAS EXPERIMENTALES**

- Tabla A-1. Primera extracción del látex.
- Tabla A-2. Segunda extracción del látex
- Tabla A-3. Tercera extracción del látex.
- Tabla A-4. Cuarta extracción del látex.
- Tabla A-5. Quinta extracción del látex.

- Tabla A-6. Total de gramos extraídos de látex seco, su porcentaje de rendimiento de materia seca y de humedad.
- Tabla A-7. Determinación de la viscosidad de la leche con la adición de la enzima papaína extraída de la papaya verde muestra P1, observación 1.
- Tabla A-8. Determinación de la viscosidad de la leche con la adición de la enzima papaína extraída de la papaya verde muestra P1, observación 2.
- Tabla A-9. Promedio de la viscosidad de la muestra P1.
- Tabla A-10. Determinación de la viscosidad de la leche con la adición de la enzima papaína extraída de la papaya pintona muestra P2, observación 1.
- Tabla A-11. Determinación de la viscosidad de la leche con la adición de la enzima papaína extraída de la papaya pintona muestra P2, observación 2.
- Tabla A-12. Promedio de la viscosidad de la muestra P2.
- Tabla A-13. Determinación de la viscosidad de la leche con la adición de la enzima papaína extraída de la papaya madura muestra P3, observación 1.
- Tabla A-14. Determinación de la viscosidad de la leche con la adición de la enzima papaína extraída de la papaya madura muestra P3, observación 2.
- Tabla A-15. Promedio de la viscosidad de la muestra P3.

## **ANEXO B. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

- Tabla B-1. Valores de la intersección en el eje  $y$  en la regresión exponencial que se ingresa en el programa estadístico InfoStat.
- Tabla B-2. Análisis de Varianza para los valores de la intersección.
- Tabla B-3. Cuadro de análisis de varianza para los valores de la intersección.
- Tabla B-4. Prueba comparativa de Tukey al 5% para los grados de maduración de la papaya.
- Tabla B-5. Valores del exponente de la regresión exponencial a ingresar al programa estadístico InfoStat.
- Tabla B-6. Análisis de Varianza para los valores del exponente.
- Tabla B-7. Cuadro de análisis de varianza para los valores del exponente.
- Tabla B-8. Prueba comparativa de Tukey al 5% para los grados de maduración de la papaya.

## **ANEXO C. GRÁFICOS DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.**

- Gráfico C-1. Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para la muestra P1 (papaya verde) observación 1.
- Gráfico C-2. Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para la muestra P1 (papaya verde) observación 2.
- Gráfico C-3. Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para el promedio de la muestra P1 (papaya verde).
- Gráfico C-4. Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para la muestra P2 (papaya pintona) observación 1.
- Gráfico C-5. Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para la muestra P2 (papaya pintona) observación 2.

Gráfico C-6. Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para el promedio de la muestra P2 (papaya pintona).

Gráfico C-7. Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para la muestra P3 (papaya madura) observación 1.

Gráfico C-8. Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para la muestra P3 (papaya madura) observación 2.

Gráfico C-9. Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para el promedio de la muestra P3 (papaya madura).

Gráfico C-10. Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-1 para papaya verde.

Gráfico C-11. Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-2 para papaya verde.

Gráfico C-12. Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-3 para papaya verde.

Gráfico C-13. Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-4 para papaya pintona.

Gráfico C-14. Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-5 para papaya pintona.

Gráfico C-15. Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-6 para papaya pintona.

Gráfico C-16. Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-7 para papaya madura.

Gráfico C-17. Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-8 para papaya madura.

Gráfico C-18. Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-9 para papaya madura.

Gráfico C-19. Gráfico de barras del análisis estadístico de la prueba de Tukey al 5% del Anexo B-4.



Gráfico C-20. Gráfico de barras del análisis estadístico de la prueba de Tukey al 5% del Anexo B-8.

## **ANEXO D. MÉTODOS UTILIZADOS PARA LOS ANÁLISIS.**

ANEXO D-1. Extracción de la enzima.

ANEXO D-2. Concentración de la enzima.

ANEXO D-3. Determinación de la viscosidad.

## **ANEXO E. FOTOGRAFÍAS.**

Fotografía E-1. Materia prima: papayas verdes.

Fotografía E-2. Materia prima: papayas pintonas.

Fotografía E-3. Materia prima: papaya madura.

Fotografía E-4. Lavado de la materia prima.

Fotografía E-5. Desinfección de la materia prima.

Fotografía E-6. Extracción del látex.

Fotografía E-7. Extracción de látex de las papayas.

Fotografía E-8. Secado de látex a 40°C.

Fotografía E-9. Látex seco, papaya verde primera extracción.

Fotografía E-10. Látex seco, papaya verde segunda extracción.

Fotografía E-11. Látex seco molido convertido en polvo.

Fotografía E-12. Conservación de la enzima.

Fotografía E-13. Pesado de la leche en polvo.

Fotografía E-14. Pesado de la enzima.

Fotografía E-15. Disolución de la enzima en ácido acético.

Fotografía E-16. Disolución de la leche en polvo en agua a 30°C.

Fotografía E-17. Determinación de la viscosidad.

## RESUMEN

La papaya es una fruta tropical de gran demanda a nivel mundial ya que de este fruto se obtienen varios beneficios al consumirla, como a nivel industrial. En el campo de la Biotecnología en los últimos años se han realizado investigaciones sobre este fruto especialmente de la extracción de su látex que contiene varias enzimas, una de ellas es la papaína que tiene varias aplicaciones especialmente de uso comercial.

Para este estudio se probó el efecto de 3 grados de maduración de la papaya: verde, pintona y madura; y su efecto en la actividad enzimática de la enzima papaína. Se trabajó con 10 papayas como fuente de análisis para cada uno de los tres grados de maduración de la fruta, se recolectó el látex extraído de estas 10 papayas y se procedió al proceso de concentración; posteriormente se obtiene un concentrado en polvo donde se encuentra la enzima. Con este concentrado se realizaron las pruebas de viscosidad en leche para las dos observaciones que se evaluaron. Por tanto se trabajó con tres grados de maduración de la papaya (verde, pintona y madura) cada uno por duplicado, dando un total de seis muestras.

Se seleccionó la fruta para los tres grados de maduración, para la extracción del látex se realiza pequeñas incisiones a la piel de los frutos hasta obtener una leche blanquecina, recogerla y secarla en una incubadora a 40°C por 3 a 4 horas y media, dependiendo la cantidad de látex extraído; de esta manera se logra concentrar la enzima y se la conserva en congelación.

La evaluación de la actividad enzimática se efectuó mediante determinaciones de viscosidad de leche obtenida por disolución de leche en polvo añadida a la misma 10ml de la 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 los que se realizó una regresión exponencial obteniendo las respuestas experimentales que fueron los valores de corte con el eje y.

En el análisis estadístico efectuado se demuestra que la mejor muestra es la P1 que corresponde a papayas verdes, es decir, que tiene mayor actividad enzimática con relación a los otros grados de maduración de papayas.



## **CAPÍTULO I**

### **EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

#### **1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN**

“Extracción, concentración y cuantificación de la actividad enzimática de la papaína a partir de la papaya (*Carica papaya*)”.

#### **1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

##### **1.2.1 Contextualización**

###### **1.2.1.1 Macro**

Realizada la revisión bibliográfica se obtuvo variedad de información con referencia al tema de investigación.

La biotecnología consiste en la manipulación de organismos vivos o de productos de organismos vivos con el fin de obtener productos deseables para el uso humano. (DORAN, P. 1995).

La generación de tecnologías modernas surgió hace 30 años aproximadamente y constantemente ocurren nuevos descubrimientos

que facilitan cada vez más el estudio y utilización de materia orgánica. (Izquierdo, J.1995).

La industria biotecnológica ha crecido de US\$ 8 billones en 1992 a US\$ 27.6 billones en el 2001, lo cual es un crecimiento sin precedentes de 3 veces. Las aplicaciones de la biotecnología incluyen actualmente el desarrollo de nuevos fármacos y proteínas recombinantes, la producción de vacunas; de agroquímicos como biofertilizantes y biopesticidas; de nutracéuticos y cosméticos; producción de cultivos transgénicos, de enzimas industriales; y la producción de biocombustibles. En el ámbito mundial, la mayor inversión de la biotecnología se ha centrado en las aplicaciones biofarmacéuticas. (Roca, W. 2003).

La papaína es una enzima que se extrae de la papaya, con capacidad de digerir las proteínas de los alimentos. Sus aplicaciones son en distintas áreas. Hoy se utiliza en la industria alimenticia como ablandador de carnes y también en la clarificación de cervezas y otras bebidas. (Tecnoparque, 2010).

Son tantos los usos de la papaya que incluso en algunos países de Asia, África y Oceanía destinan el fruto a la obtención de látex; mientras que sus aplicaciones alcanzan la industria textil, papelera y de cuero, así como la depuración de residuos líquidos. (Tecnoparque, 2010).

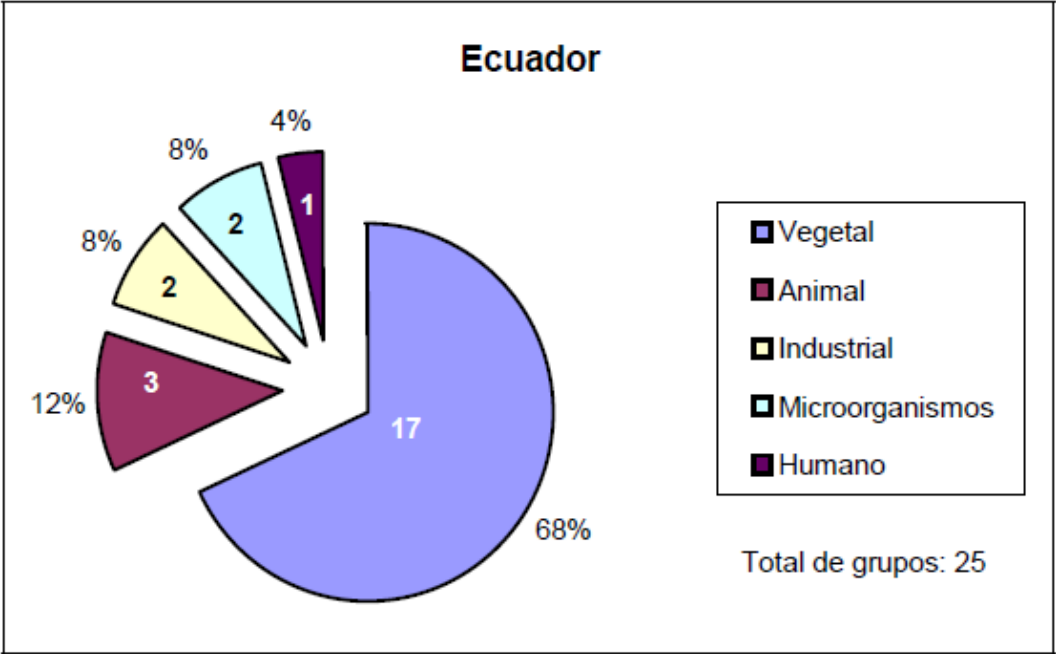
Esta enzima es requerida en áreas como la farmacéutica y la cosmética, donde se utiliza en la fabricación de cremas desmanchadoras de la piel, que consumen aproximadamente un 10% de la producción mundial. Por

otra parte, la papaína es uno de los componentes utilizados por laboratorios oftalmológicos para fabricar tabletas enzimáticas para la limpieza de lentes de contacto. Paralelamente, se comienzan a descubrir otras aplicaciones de la papaína en negocios como la industria textil para macerar las fibras de lana y algodón, papelera, curtido de cuero, así como en procesos de depuración de residuos líquidos y en investigación de química analítica. (Rossi, L. 2007).

También forma parte de suplementos dietarios, debido a su capacidad de favorecer el proceso digestivo, y de procesos de depuración de aguas. El mercado mundial de la papaína se encuentra en miles de toneladas, siendo el movimiento de divisas en varios cientos de millones de dólares (Tecnoparque, 2010).

#### **1.2.1.2 Meso**

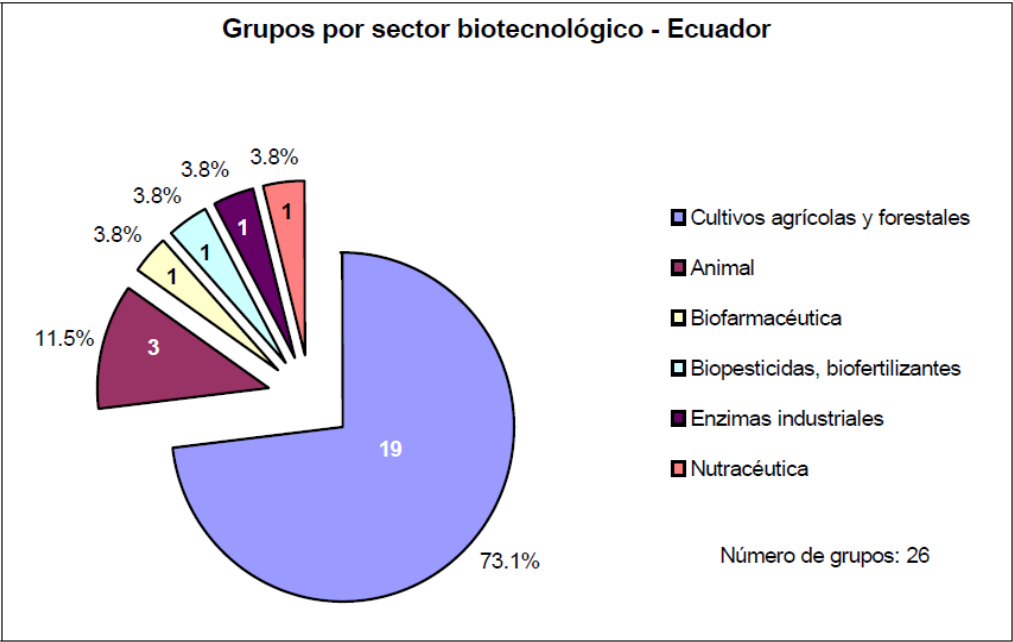
A nivel del Ecuador se realiza investigación con la intención de contribuir con el campo de la biotecnología, lamentablemente no existen los recursos necesarios que se quisieran tener, además de aparatos de alta tecnología con los cuales el país no cuenta; sin embargo se realizan investigaciones como se describe en la Figura 1 y Figura 2.



**Figura 1.** Área general de investigación en biotecnología en el Ecuador.

**Fuente:** Estudio de las capacidades biotecnológicas e institucionales para el aprovechamiento de la biodiversidad en los países de la Comunidad Andina.





**Figura 2.** Sector de investigación y aplicación biotecnológica por los grupos identificados en el Ecuador.

**Fuente:** Estudio de las capacidades biotecnológicas e institucionales para el aprovechamiento de la biodiversidad en los países de la Comunidad Andina.

Según datos del FUNDACYT, el mayor porcentaje de inversión en la ciencia y tecnología viene de parte de las universidades seguido por las instituciones públicas, hay muy poca o nula inversión por parte del sector privado como indica la Tabla 1.

**Tabla 1.** Gasto en Ciencia y Tecnología por naturaleza de la Institución en Ecuador.

Naturaleza de la Institucion	1996	1998	2000
Universidades	23.60	25.90	45.80
Empresas	5.70	5.00	---
Instituciones privadas no comerciales	34.90	31.10	20.70
Instituciones públicas	35.90	38.00	33.60
Total	100.00	100.00	100.00
% en relación al PBI	0.18	0.22	0.19

**Fuente:** FUNDACYT.

Se han efectuado investigaciones en babaco (*Carica pentagona*) en la cual se realiza trabajos de post-cosecha: duración post-cosecha del fruto mediante control de gases atmosféricos, temperatura y humedad relativa; desarrollo de productos como jugos concentrados, y aislamiento y uso de las enzimas proteolíticas del látex. Esta investigación es en colaboración con CIRAD (Francia) y Suecia (Universidad de Upsala). Es financiado por el Banco Mundial y la participación de productores y procesadores del producto. (Roca, W. 2003).

Así mismo, el mayor gasto en investigación y desarrollo está en el sector de la agricultura, silvicultura y pesca (44% en el año 1998). (FUNDACYT).

Según datos del III Censo Nacional Agropecuario, en Ecuador se siembran 3,917 ha de papaya, de las cuales 1,608 ha se las cultivó bajo el sistema de monocultivo en 1,543 Unidades de producción Agropecuaria (UPAs), mientras que 2.309 ha correspondieron a cultivos asociados en 1,664 UPAs.

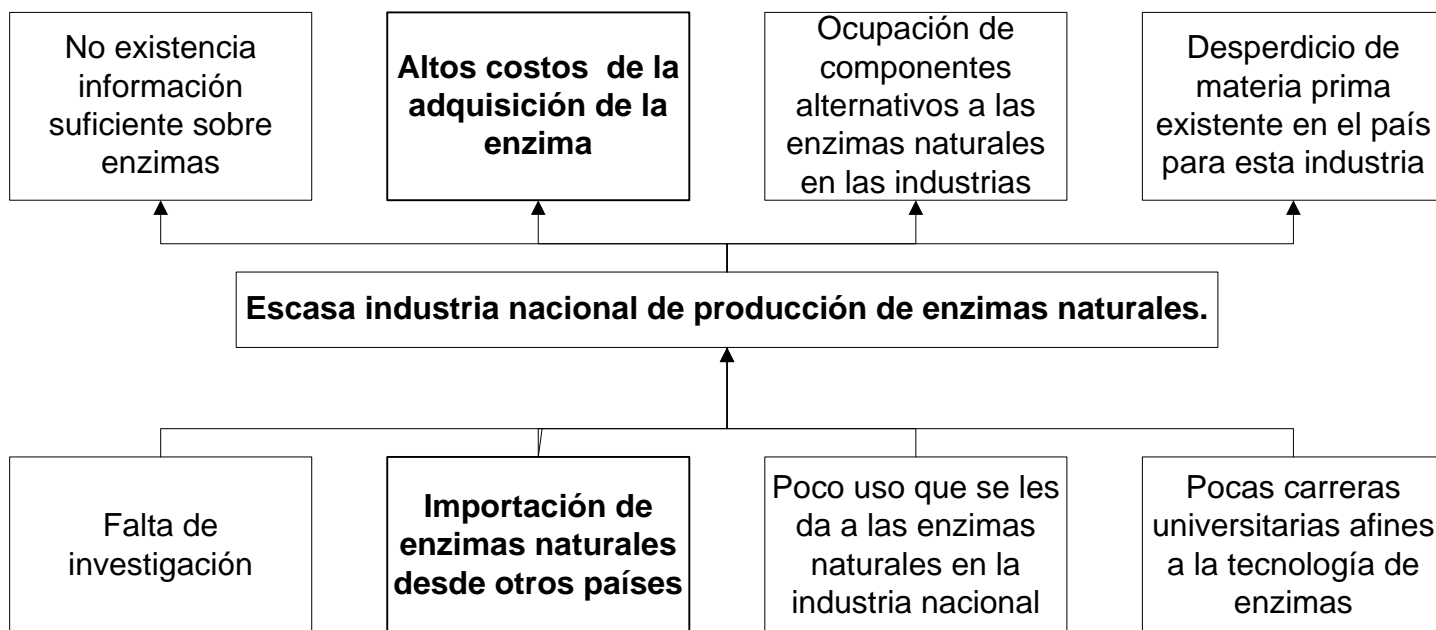
La papaya por ser un cultivo natural de los trópicos y subtrópicos se adapta a una amplia variedad de climas y zonas donde se la siembre, aunque prefiere las zonas cálidas y con alta irradiación solar. A nivel nacional, Santo Domingo de los Tsáchilas es la provincia que más produce papaya en monocultivo (30%) con una producción de 316 ha, distribuidas en 131 UPAs. Guayas es la segunda mayor productora de papaya bajo el mismo sistema, con una superficie cosechada de 231 ha repartidas en 373 UPAs. En el caso de estar asociada, la provincia de Esmeraldas es la que más área posee (17%), seguida de Morona Santiago (16%), Manabí (14%) y Guayas (11%). (Wendt, J. 2002).

### **1.2.1.3 Micro**

Tanto dentro de la Provincia de Tungurahua como en la ciudad de Ambato no se registra ningún tipo de investigación, datos estadísticos o información bibliográfica sobre la temática de extracción, concentración y actividad de enzimas; sin embargo dentro de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato se quiere realizar esta investigación para obtener nuevas metodologías, información, valores coherentes sobre la actividad enzimática que pueda ayudar a futuras generaciones, abriendo un gran campo de investigación a la carrera de Ingeniería Bioquímica.

## 1.2.2 Análisis Crítico

### 1.2.2.1 Árbol de problema



**Figura 3.** Árbol de problema.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Problema:** Escasa industria nacional de producción de enzimas naturales.

**Causa:** Importación de enzimas naturales desde otros países.

**Efecto:** Altos costos de la adquisición de la enzima.

Este estudio permite contribuir a que exista más información sobre la actividad enzimática de la papaína, ya que no se ha realizado investigación sobre estas temáticas dentro de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (FCIAL) y en el país en general.

Ejecutar las metodologías de diversos autores y adaptarlas a las condiciones que ofrecen los laboratorios de la FCIAL, los cuales permitirán obtener los resultados deseados relacionados con la extracción, concentración y la actividad enzimática de la papaína.

### **1.2.3 Prognosis**

De acuerdo al análisis crítico realizado en el presente estudio de investigación, en el caso de no desarrollar dicho trabajo no se podrá obtener la información sobre extracción de esta enzima y de su concentración que es un punto muy importante dentro de la Biotecnología, también no se conocería sobre la medición de la actividad enzimática de la papaína la cual es la que se desea obtener y analizarla, además de aportar con nuevas metodologías las cuales podrían ayudar a nuevos procesos de investigación que son de suma importancia en el dentro de la FCIAL.

### **1.2.4 Formulación del problema**

El presente tema de investigación trata de contribuir con el conocimiento sobre la extracción, concentración y cuantificación de la actividad enzimática de la papaína la cual es una enzima que se encuentra y se extrae del fruto de la papaya (*Carica papaya*), ya que existe una problemática que es el desconocimiento sobre extracción de enzimas naturales y su tratamiento, sus aplicaciones que pueden ser en varias aéreas como en alimentos, farmacéutica, cervecera, cosmética. En Ecuador no existe este tipo de información por lo cual es de importancia

investigar y obtener resultados veraces los cuales ayuden a próximas investigaciones.

Es por estos motivos que existe la necesidad de la extracción de este tipo de enzimas ya que son de gran utilidad comercial, además de abrir nuevos campos dentro de la Biotecnología que pueden ser aplicados dentro de la carrera de Ingeniería Bioquímica.

### **1.2.5 Preguntas Directrices**

¿Cómo se puede adaptar un método de extracción de papaína?

¿Cuánto de látex se extrae de las papayas?

¿Cómo se puede adaptar un método de concentración de papaína?

¿En qué momento se debe analizar la actividad enzimática de la papaína?

¿La viscosidad es un método factible para medir la actividad de la enzima papaína?

¿Cómo determinar la cantidad de la enzima a ser utilizada en los análisis?

### **1.2.6 Delimitación**

- **Campo:** Biotecnología
- **Área:** Ingeniería de las Enzimas

- **Aspecto:** Actividad enzimática
- **Delimitación Temporal:** El trabajo de investigación se realizará desde Noviembre 2010 - Abril 2011.
- **Delimitación Espacial:** Laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato.

### 1.3 JUSTIFICACIÓN

El presente proyecto cubre un requisito básico para obtener el título de Ingeniera Bioquímica.

Esta investigación es de interés puesto que las enzimas son de gran utilidad en diferentes áreas como la alimentaria, textil, cosmética, cervecera. Por consiguiente este estudio plantea la determinación de diferentes propiedades y características de la papaína con el fin de que los lectores de este trabajo tengan una visión clara del uso que se le puede dar a esta enzima.

Es de importancia puesto que al no existir suficiente información sobre este tipo de enzimas vegetales en el país se contribuye con información de tipo científico-técnica, la cual puede ser utilizada como una fuente bibliográfica para futuras investigaciones.

La investigación es original ya que es un tema novedoso, poco explorado y brinda una gran cantidad de conocimientos científicos, los cuales son fáciles de comprender y desarrollar.

El proyecto a investigarse es absolutamente factible puesto que existe el material bibliográfico necesario que es una guía para la experimentación y

análisis de los resultados, toda la disposición por parte del investigador para desarrollar de la mejor manera la investigación y resolver el problema planteado, los recursos tecnológicos con los que cuenta la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos se adecuará según las necesidades de la investigación, ya que no se cuenta con una tecnología de última generación.

Esto brinda una iniciativa para que futuros egresados deseen seguir investigando y desarrollando nuevas temáticas sobre obtención enzimas vegetales las cuales brindan un futuro muy promisorio dentro del área de la Ingeniería Bioquímica.

## **1.4 OBJETIVOS**

### **1.4.1 *Objetivo General***

- Obtener papaína concentrada y evaluar su actividad enzimática.

### **1.4.2 *Objetivos Específicos***

- Adaptar un método de extracción de papaína.
- Obtener un concentrado de papaína mediante el proceso de secado.
- Analizar la actividad enzimática de la papaína.



## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN**

La papaína se vende en forma líquida y pulverizada. Comúnmente se importa como materia prima y es procesada de acuerdo a las especificaciones del usuario final. La fuerza de la papaína se mide en Unidades de Tirosina (TU). De acuerdo a uno de los distribuidores en Inglaterra, la papaína líquida de 70-75 TU se usa comúnmente en las cerveceras. Sin embargo, algunos compradores requieren fuerzas de hasta 500-700 TU. Uno de los problemas más grandes para los compradores de papaína es la baja actividad enzimática, causada por almacenar el látex por más de un día mientras se acumula suficiente stock para comenzar el proceso. (Fernández, J. 2005).

Según (Barahona. 1983) en el continente Americano los países de Estados Unidos, México y Chile son los mayores productores de la enzima papaína extraída del fruto papaya.

La industrialización de frutas en nuestro país está limitada hacia la exportación de jugos, concentrados, conservas y mermeladas, sin considerar otros principios activos que contienen las frutas como subproductos, sean estos proteicos o enzimáticos los cuales pueden ser usados como colorantes, clarificantes, saborizantes y coadyuvantes de

ciertas reacciones químicas en la elaboración de otros productos (Aguirre, E).

La papaya al pertenecer a la familia de las caricáceas contiene en su composición papaína que es una enzima proteolítica utilizada en la industria cervecera y en la industria cárnica (Barahona. 1983).

La papaína bruta, contiene un poco de agua, glúcidos, ácidos orgánicos y una mezcla de enzimas, dónde destacan las denominadas proteasas que actúan rompiendo los enlaces peptídicos en cualquier lugar de la cadena peptídica en la que se hallen situados (endopeptidasas). También contiene pequeñas cantidades de otros enzimas: papaya peptidasa A, lipasa y lisozima (enzima que rompe las paredes de las células bacterianas). (Chávez, 1998).

## **2.1.1 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICO-CIENTÍFICA**

### **2.1.1.1 *Papaya***

La papaya se obtiene del árbol conocido como papayo, originario de las zonas tropicales de México y Centroamérica. Se cultiva en terrenos de muy distinta naturaleza, pero es fundamental que éstos sean ricos en materia orgánica y que contengan una humedad abundante.

La papaya fue descrita por primera vez en 1526 por el cronista español Oviedo, quien la encontró en las costas de Panamá y Colombia. Ésta fue cultivada rápidamente en los trópicos, ya que su distribución, indudablemente es auxiliada por la abundancia de semillas de relativamente amplia viabilidad. Este fruto se ha adaptado en diversas

regiones tropicales, particularmente en áreas con suelos fértiles y lluvia abundante. (Plan Rector del Sistema Producto Papaya, 2005).

La historia de la dispersión de la papaya, a grandes rasgos, inicia aproximadamente en 1500, cuando los españoles llevaron semillas a Panamá y República Dominicana. En el siglo correspondiente, marinos y portugueses las llevaron a Filipinas, Malasia y la India. Para 1600 aproximadamente, estaban cultivando papayas en regiones cálidas de Sur y Centro América, Sur de México, las Antillas, Bahamas, Bermudas y Florida. En ese siglo la semilla de papaya fue transportada de la India a Nápoles, Italia. A Hawai llegó entre 1800 y 1820. Hasta 1900, la semilla de papaya fue llevada a Florida, probablemente de Bahamas. La variedad *Solo* se cultiva en Hawai desde 1911, originaria de Barbados y Jamaica. En 1978 se introdujeron a México las primeras semillas de la variedad *Maradol*. (CONAFRUT, 2009).

En la actualidad el papayo se cultiva en forma comercial no solo en las regiones de América, sino también en África, Asia, Australia, Filipinas, y en los Estados Unidos (Hawai y Florida). (Plan Rector del Sistema Producto Papaya, 2005).

#### **2.1.1.1.1 *Requerimientos Climáticos***

El papayo es una planta tropical, puede cultivarse desde el nivel del mar hasta los 1000 m.s.n.m., pero los frutos de mejor calidad y los rendimientos más altos se obtienen en altitudes por debajo de los 800 metros.

A continuación según el artículo Plan Rector del Sistema Producto Papaya realizado en 2005 se analizan los factores climáticos más importantes que influyen de manera decisiva en el desarrollo de este cultivo, así como las características principales que debe tener un suelo para que el cultivo produzca de manera exitosa.

#### **2.1.1.1.2 *Temperatura***

Es el factor climático limitante, que permite que este frutal se desarrolle o no. El rango de temperatura es entre 22° y 30°C, pero su óptima es entre 23° y 26°C, temperaturas bajas inhiben su crecimiento y temperaturas altas, le provocan abscisión floral y bajas en la producción. Canículas y sequías especialmente en la floración ocasionan su caída y la planta llega a suspender su crecimiento.

#### **2.1.1.1.3 *Humedad***

El agua es el contribuyente principal de la planta; alrededor del 85% está compuesta por agua. La papaya, tanto en el proceso de germinación, vivero y primeros meses después de plantada, necesita para su crecimiento y desarrollo una gran cantidad de agua, por lo cual en esta fase se deben realizar riegos semanales. En la época seca y cuando la lluvia no es adecuada, se debe recurrir al riego para mantener las plantas con un buen desarrollo.

#### **2.1.1.1.4 *Luz***

La papaya necesita abundante luz debido a su gran actividad fotosintética. Es imposible desarrollar plantaciones con restricciones de luz, pues las plantas serían alargadas y amarillas, sintomatología esta de

desnutrición, lo que trae como consecuencia un inadecuado desarrollo de las plantas.

#### **2.1.1.1.5 Suelos**

Las principales características que debe reunir un suelo para este cultivo son las siguientes:

- Suelto y húmedo.
- Con buen drenaje.
- Alto contenido de materia orgánica.
- Un pH que fluctúe entre seis y siete.
- Suelos fértiles y profundos.

El suelo también puede ser mejorado, por lo cual no es de los factores más preocupantes cuando se planifica una plantación.

#### **2.1.1.1.6 Propiedades Medicinales**

Los pediatras recomiendan el consumo de la fruta de papaya, en la dieta del infante desde los primeros meses y el consumo en forma de jugos, a partir de los 30 días de nacido.

La papaya contiene una enzima llamada papaína, la cual ayuda a la digestión de proteínas en el cuerpo. La papaya puede usarse para el tratamiento de la diarrea, alergias, fiebre del heno e indigestión.

Dentro de otras propiedades de la papaya están:

- Protege al cuerpo de la oxidación, por lo tanto previene el cáncer

- Ayuda a regular los niveles de colesterol
- Fomenta la absorción de hierro
- Ayuda a la elaboración y mantenimiento del colágeno, proteína, que es la base
- Para la unión de los tejidos
- Ayuda a aliviar la respiración asmática
- Ayuda a la recuperación rápida por padecimientos de neumonía, mononucleosis,
- Hepatitis y otras infecciones virales

Sin embargo el licopeno cumple con otras funciones específicas:

- Fortalece el sistema inmunológico
- Promueve la fertilidad, esencial para embarazos satisfactorios y lactancia
- Necesario para la síntesis de proteínas
- Puede prevenir cáncer del estómago, colon, recto, vejiga, pechos, boca, esófago, cérvix y pulmones
- Esencial para la sanidad de los ojos
- Requerido para la formación de huesos y el desarrollo
- Reduce la oxidación y daño de las células nerviosas que ocurre como resultado de golpes
- Mejora la actividad de la muerte natural de las células, destruyendo a los
- Agentes invasores.

El licopeno, es el pigmento que le imprime el color rojo a la pulpa de la papaya. Los cultivares hawaianos contienen entre 21 – 40 partes por

millón. En los cultivares criollos de pulpa amarilla, los pigmentos (cripto xantinas) están presentes en una concentración de 8.1 partes por millón. La intensidad del color depende de la concentración del pigmento, la cual variará de una localidad a otra. En las pulpas rojas los carotenos contienen un 10 % de los pigmentos, mientras que en pulpas anaranjadas alcanzan un 30 %. La pulpa contiene muy pocos ácidos orgánicos (0.099 %) y estos ácidos son una mezcla de 50 % de ácido cítrico y 50 % de ácido málico.

**Tabla 2. Composición Nutricional.**

Componentes	Contenido de 100 g de parte comestible
Calorías	23 - 25
Carbohidratos	6.17 - 6.75 g
Ceniza	31 - 66 g
Fibra cruda	0.50 - 1.30 g
Grasa total	0.50 - 0.96 g
Humedad	85.9 - 92.6 g
Proteína	0.34 - 0.81 g
Acido ascórbico	35.50 - 71.30 mg
Calcio	12.90 - 40.80 mg
Fósforo	5.30 - 22.00 mg
Hierro	0.25 - 0.78 mg
Lisina	15 - 16 mg
Etionina	1 mg
Niacina	227 - 555 mg
Riboflavina	0.24 - 0.58 mg
Tiamina	0.21 - 0.36 mg
Triptofán	4 - 5 mg
Vitamina A	700 IU

**Fuente:** Profiagro.

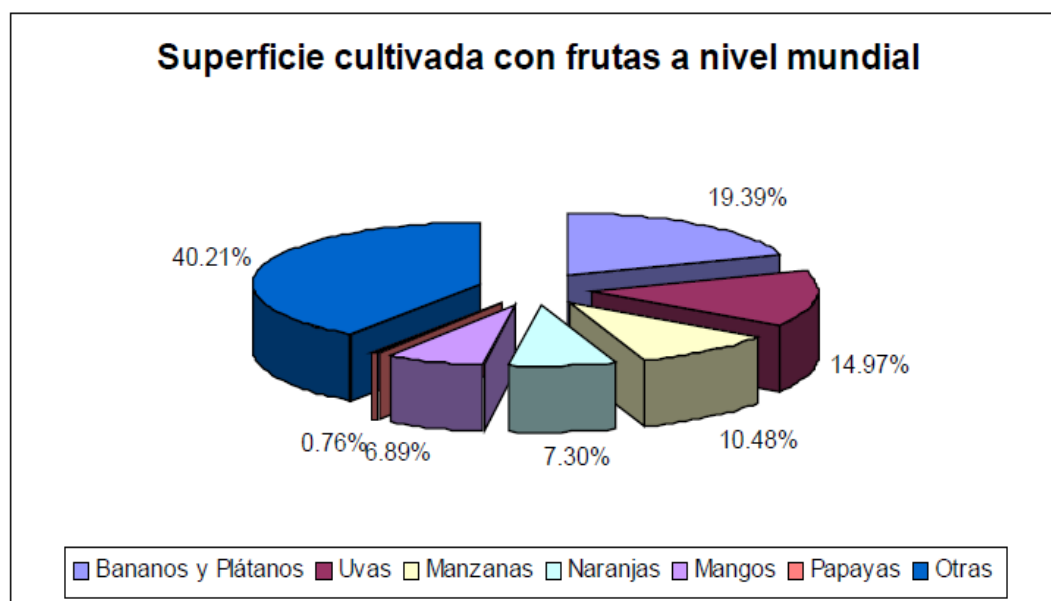
También tiene una pequeña dosis de azúcares, nada de grasa o colesterol.

Media papaya puede satisfacer las necesidades diarias de vitamina C de una persona adulta, al tiempo que aporta pequeñas dosis de Ca y Fe al organismo.

Al igual que otras frutas que tienen pigmentación anaranjada, la papaya es una gran fuente de  $\beta$ -caroteno, un poderoso antioxidante. (ROSI, L. 2007)

### 2.1.1.2 La Papaya en el Contexto Mundial

A nivel mundial se dedican 50.22 millones de hectáreas al cultivo de frutas, de éstas 382 mil hectáreas son de papaya; es decir, se destina a su producción el 0.76 por ciento de la superficie total frutícola.



**Figura 4.** Superficie cultivada con frutas a nivel mundial.

**Fuente:** FAO, FAOSTAT.



De acuerdo a los reportes de la FAO, durante el periodo de 1993 al 2003, la superficie cultivada con papaya en el mundo ha tenido un incremento del 43.2%, un comportamiento muy superior al que se observa en la superficie global destinada a la fruticultura, cuyo promedio de crecimiento fue del 13%.

Con respecto a la producción mundial se pasó de 3,942 miles de toneladas obtenidas en el año 1993 a 6,342 miles de toneladas en el año 2003, es decir, se logró un incremento del 61 por ciento.

En la siguiente tabla se demuestran los principales exportadores mundiales de papaya.

**Tabla 3. Principales Exportadores Mundiales de Papaya.**

Posición	Exportadores	Valor 2006 en miles de US\$	Valor 2005 en miles de US\$	Valor 2004 en miles de US\$	Valor 2003 en miles de US\$	Valor 2002 en miles de US\$
1	México	63,021	63,153	72,722	44,122	28,989
2	Brasil	30,331	30,638	26,563	29,214	21,624
3	Estados Unidos de América	17,126	17,302	15,917	14,243	13,604
4	Malasia	13,960	15,518	21,893	26,528	26,300
5	Francia	3,484	3,282	2,806	1,214	2,153
6	Bélgica	2,296	2,579	3,006	693	1,054
7	Ecuador	2,242	1,902	2,057	1,051	200
8	Costa Rica	1,612	1,082	482	375	337
9	Costa de Marfil	1,489	896	673		
10	Fiji	1,421	604	634	663	316
11	Alemania	1,334	2,063	2,022	910	550
12	China	727	981	726	748	139
13	Colombia	309	207	319	279	470
14	Hong Kong	183	78	792	545	2,996

**Fuente:** TRADEMAP.

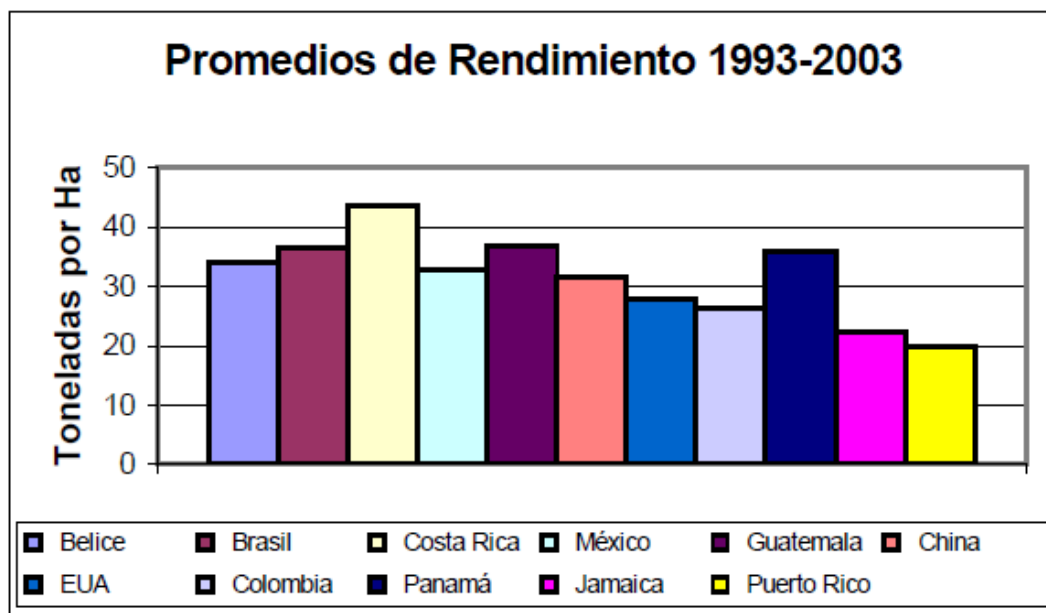
México se ubica como el quinto país a nivel mundial con mayor superficie establecida, antecedido por Nigeria, la India, Indonesia y Brasil. Sin embargo, hablando en términos productivos, es Brasil quién en el año 2003 obtuvo el mayor volumen de producción con un 25% del total mundial, seguido por México que para ese año produjo el 15% del total mundial.

**Tabla 4. Países con mayor producción de papaya en el año 2003.**

País	Año 2003		
	Superficie cultivada (Ha)	Producción (Ton)	Porcentaje de la producción mundial
Nigeria	91,000	755,000	12
India	70,000	700,000	11
Indonesia	37,000	491,389	8
Brasil	36,000	1,600,000	25
México	26,327	955,694	15
Perú	13,000	170,000	3
Congo	12,488	210,305	3
Venezuela	11,480	175,137	3
Etiopía	11,127	230,540	4
Tailandia	10,500	125,000	2
Otros	62,813	929,053	15
<b>Total</b>	<b>381,735</b>	<b>6,342,118</b>	<b>100</b>

**Fuente:** FAO, FAOSTAT.

Los países que lograron mayores rendimientos por hectárea en el año 2003 son Belice (44.7 Ton/Ha), Brasil (44.4 Ton/Ha), Costa Rica (37.7 Ton/Ha) y México (36.3 Ton/Ha).



**Figura 5.** Promedios de Rendimiento 1993-2003.

**Fuente:** FAO, FAOSTAT

Los reportes de las bases estadísticas de la FAO reflejan que hasta el año 2002 ochenta y siete países aportaban papayas al mercado de exportación mundial. El mercado de exportación de papaya en el mundo en ese año fue de un valor por 130.8 millones de dólares. México, Malasia, Brasil, Belice y los Estados Unidos fueron los países exportadores más fuertes; cuya suma de sus exportaciones significó el 83% del total mundial.

# PRODUCCION MUNDIAL

2006

Posición	Toneladas	
1	<b>Brasil</b>	1,573,819
2	<b>México</b>	805,672
3	<b>India</b>	783,383
4	<b>Nigeria</b>	759,000
5	<b>Indonesia</b>	548,657
6	<b>Etiopía</b>	259,174
7	<b>Congo, Republica Dem del</b>	217,900
8	<b>Perú</b>	171,055
9	<b>Filipinas</b>	157,269
19	<b>Ecuador</b>	42,796
<b>Total</b>		<b>4560484</b>

**Figura 6.** Producción Mundial de Papaya.

**Fuente:** FAO

Como podemos ver en el 2006 Brasil tuvo una producción de 1573.819, México con 805.672, India 783.383, Nigeria 759,000. y Ecuador en este año del 2006 se ubicó en el puesto 19, y así sucesivamente. Brasil produce el 24% a nivel mundial, México con el 12%, India con el 12%, Nigeria con el 12% y Ecuador con el 1%.

### **2.1.1.3 Papaya en Ecuador**

Según (Guananga y colaboradores, 2009), Ecuador exporta 69 tipos de frutas, categorizadas en diferentes partidas arancelarias, principales frutas además del banano: mango, piña, maracuyá, papaya, melón, guayaba, limón, frutillas, entre otras.

El ingreso de las frutas ecuatorianas a los mercados internacionales, ha sido una dura tarea, debido a la falta de tecnología, financiamiento,

promoción, infraestructura y conocimientos técnicos para sembrar, mantener, comercializar y distribuir las cosechas; muchas empresas ecuatorianas pierden competitividad internacional, debido al desconocimiento de cómo poder cumplir con las exigencias y normativas de los mercados demandantes de frutas; por lo tanto es necesario implementar metodologías eficientes, que busquen mejorar los procesos que forman parte del sector productor de frutas.

A pesar de este entorno, nuestro país cuenta con algunos sectores cuyos productos tienen potencial para ingresar en los mercados internacionales, uno de ellos es el sector productor de papaya, el mismo que para incrementar la cuota de mercado ya lograda, deberá suprimir dificultades relacionadas a la distribución, transportación y formación de canales de comercialización.

Para Ecuador el ingreso a un proceso de apertura comercial en lo que respecta a los productos no tradicionales tales como la papaya ha significado un crecimiento de saldos netos positivos de la balanza comercial agropecuaria.

Los diferentes tipos de climas permiten el cultivo de una amplia variedad de productos agrícolas, siendo una gran ventaja y oportunidad de desarrollo de la agroindustria en el país.

La papaya en Ecuador es un producto de mucha tradición, aunque su cultivo a gran escala para la exportación no ha alcanzado aún gran nivel. La papaya de variedad criolla tiene una amplia tradición de cultivo en los pequeños productores, actualmente la papaya hawaiana solo sunrise, es la variedad principal que se destina para la exportación.

El cultivo de papaya en Ecuador se está desarrollando aceleradamente, especialmente en las zonas de Santo Domingo, vía Quevedo, Guayas, Santa Elena, entre las zonas más relevantes, siendo una de las razones de la expansión de este cultivo es su alto consumo como fruta y las oportunidades de exportación que se le están abriendo.

Guayas provincia que se destaca principalmente por su desarrollo productivo y económico, su desarrollo agrícola es amplio, ligado a la vanguardia tecnológica y conocimientos técnicos que día a día son adquiridos.

Santa Elena es una provincia novel que se encuentra ubicada a 120km de la ciudad de Guayaquil, que antes perteneció a la provincia del Guayas, ha sido agrícola por mucho tiempo, pero en los últimos años pocos sectores han recibido el apoyo económico, tecnológico, educativo y social que le permita mantener esta tradición ancestral. (Guananga y colaboradores, 2009).

#### **2.1.1.3.1 Agroecología**

Según (Guananga y colaboradores, 2009), en Ecuador existen extensiones considerables con aptitud para la producción de papaya, en las zonas tropicales y subtropicales de clima y suelo, algunas de las cuales ya se está desarrollando el cultivo.

- Clima: Cálido, húmedo, subtropical ;
- Temperatura: 23-28 c
- Heliofania(luminosidad):1500 horas anuales;
- Humedad:90% a 100%

- Pluviosidad:900-1000 mm;
- Altitud:0-600 msnm;
- Formación ecológica: Bosque seco húmedo(bs-h) y muy húmedo premontano; bosque seco(bs) y húmedo tropical(bh-t)

#### **2.1.1.3.2 Definición de problemas actuales**

- La exportación de la papaya ecuatoriana es un reto difícil para muchos productores debido a las nuevas tendencias comerciales, cambios científicos, tecnológicos de la agricultura y altas exigencias de los mercados internacionales en lo que respecta a requerimientos técnicos y sanitarios de los países importadores de esta fruta, a pesar de contar con productos de gran peso, el país no ha logrado implementar reales estrategias comerciales que le permitan aprovechar de su condición de líder en estos mercados, la promoción de exportación de la papaya ha sido en algunos casos dispersa y limitada.
- Generalmente se cumplen muchos de los requerimientos, exigidos por los mercados internacionales, pero aun así es necesario hacer de cada actividad relacionada con la exportación de papaya, verdaderos procesos eficaces y eficientes.
- Uno de los procesos, cuya deficiencia, incide en mayor magnitud en los resultados comerciales con los mercados internacionales ya establecidos, es el logístico; ya que de la agilidad y fiabilidad de las cadenas de abastecimientos y comercialización dependen en gran medida el desarrollo y crecimiento de las exportaciones de esta fruta no tradicional en

el Ecuador.- por lo tanto nuestro estudio se centrará en las Provincias del Guayas y Santa Elena, que aportan entre el 50 % y el 70% de su producción a las exportaciones ecuatorianas de la papaya.

- Ecuador junto con otros países de la América tropical, poseen dentro de sus territorios recursos naturales vegetales, diferentes especies, frutícolas propias de la región como son las cucurbitáceas, sapotádeas etc. Las mismas que han sido tomadas poca atención por parte de los inversionistas agrícolas, pero debido a la creciente y gran aceptación que tienen en los mercados internacionales, pasaran a formar partes de los principales rubros de exportación de productos no tradicionales en el Ecuador. (Guananga y colaboradores, 2009).

#### **2.1.1.4 Enzimas**

Las enzimas son moléculas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas, siempre que sean termodinámicamente posibles. Una enzima hace que una reacción química que es energéticamente posible pero que transcurre a una velocidad muy baja, sea cinéticamente favorable, es decir, transcurra a mayor velocidad que sin la presencia de la enzima. En estas reacciones, las enzimas actúan sobre unas moléculas denominadas sustratos, las cuales se convierten en moléculas diferentes denominadas productos. Casi todos los procesos en las células necesitan enzimas para que ocurran a unas tasas significativas. A las reacciones mediadas por enzimas se las denomina reacciones enzimáticas.



Debido a que las enzimas son extremadamente selectivas con sus sustratos y su velocidad crece sólo con algunas reacciones, el conjunto de enzimas sintetizadas en una célula determina el tipo de metabolismo que tendrá cada célula. (Gacesa, P.1990).

Como todos los catalizadores, las enzimas funcionan disminuyendo la energía de activación de una reacción. Las enzimas no alteran el balance energético de las reacciones en que intervienen, ni modifican, por lo tanto, el equilibrio de la reacción, pero consiguen acelerar el proceso incluso millones de veces. Una reacción que se produce bajo el control de una enzima, o de un catalizador en general, alcanza el equilibrio mucho más de prisa que la correspondiente reacción no catalizada.

Al igual que ocurre con otros catalizadores, las enzimas no son consumidas por las reacciones que catalizan, ni alteran su equilibrio químico. Sin embargo, las enzimas difieren de otros catalizadores por ser más específicas. Las enzimas catalizan alrededor de 4.000 reacciones bioquímicas distintas. No todos los catalizadores bioquímicos son proteínas, pues algunas moléculas de ARN son capaces de catalizar reacciones.

La actividad de las enzimas puede ser afectada por otras moléculas. Los inhibidores enzimáticos son moléculas que disminuyen o impiden la actividad de las enzimas, mientras que los activadores son moléculas que incrementan dicha actividad. Asimismo, gran cantidad de enzimas requieren de cofactores para su actividad. Muchas drogas o fármacos son moléculas inhibidoras. Igualmente, la actividad es afectada por la temperatura, el pH, la concentración de la propia enzima y del sustrato, y otros factores físico-químicos. (Carrera, J. 2003).

#### 2.1.1.4.1 Tipos de Enzimas

El nombre de una enzima suele derivarse del sustrato o de la reacción química que cataliza, con la palabra terminada en *-asa*. Por ejemplo, lactasa proviene de su sustrato lactosa; alcohol deshidrogenasa proviene de la reacción que cataliza que consiste en "deshidrogenar" el alcohol; ADN polimerasa proviene también de la reacción que cataliza que consiste en polimerizar el ADN.

La Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular ha desarrollado una nomenclatura para identificar a las enzimas basadas en los denominados Números EC. De este modo, cada enzima queda registrada por una secuencia de cuatro números precedidos por las letras "EC". El primer número clasifica a la enzima según su mecanismo de acción.

**Tabla 5.** Clasificación de las enzimas existentes en la actualidad.

Grupo	Acción	Ejemplos
EC1. Oxidoreductasas	Catalizan reacciones de oxidorreducción. Tras la acción catálica quedan modificados en su grado de oxidación por lo que debe ser transformados antes de volver a actuar de nuevo.	Dehidrogenasas Aminooxidasa Deaminasas Catalasas
EC2. Transferasas	Transfieren grupos activos (obtenidos de la ruptura de ciertas moléculas) a otras sustancias receptoras. Suelen	Transaldolasas Transcetolasas

	actuar en procesos de interconversiones de azúcares, de aminoácidos, etc	Transaminasas
EC3. Hidrolasas	Verifican reacciones de hidrólisis con la consiguiente obtención de monómeros a partir de polímeros. Suele ser de tipo digestivo, por lo que normalmente actúan en primer lugar	Glucosidasas Lipasas Peptidasas Esterasas Fosfatasas
EC4. Isomerasas	Actúan sobre determinadas moléculas obteniendo de ellas sus isómeros de función o de posición. Suelen actuar en procesos de interconversion	Isomerasas de azúcar Epimerasas Mutasas
EC5. Liasas	Realizan la degradación o síntesis (entonces se llaman sintetetasas) de los enlaces denominados fuertes sin ir acoplados a sustancias de alto valor energético.	Aldolasas Decarboxilasas
EC6. Ligasas	Realizan la degradación o síntesis de los enlaces fuertes mediante el acoplamiento a sustancias ricas en energía como los nucleosidos del ATP	Carboxilasas Peptidosintetasas

**Fuente:** Rodwell y colaboradores. (2006).

#### **2.1.1.4.2 Papaína**

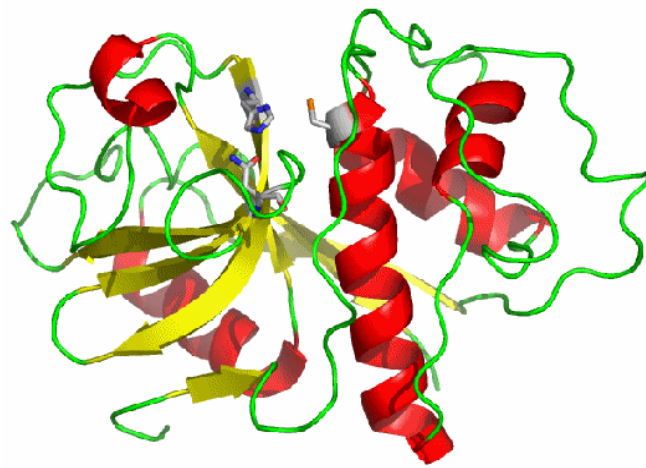
Es una proteína de 212 aminoácidos, que se encuentran enrollados en 2 partes separadas por un puente que tiene un lugar activo con un grupo tiol (SH) libre.

Es una enzima de baja especificidad que hidroliza tanto las proteínas como los péptidos de pequeño tamaño, amidas y ésteres. Preferentemente actúa sobre los aminoácidos básicos, Leu, Gly, Arg, Lis y Phe; su ecuación es (EC 3.4.22.2). (Taboas, S. 2002).

La papaína que se extrae de la papaya es una enzima proteolítica, es decir, con capacidad para digerir las proteínas de los alimentos. Similar a la pepsina, una enzima que está en nuestro jugo gástrico.

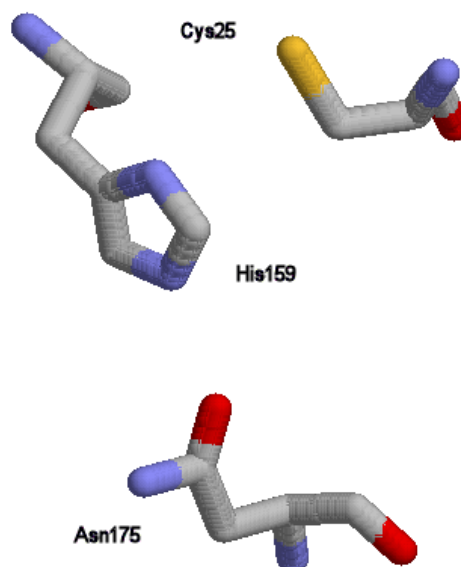
Esta enzima se consigue por la extracción del látex, que es un líquido blanco obtenido mediante cortes en los frutos inmaduros a la superficie de la papaya. Luego, en laboratorio, se separa la enzima y se purifica hasta alcanzar un nivel óptimo de calidad para la comercialización y uso.

Las enzimas papaína y quimopapaína son las principales proteasas del látex (10 y 45% de la proteína soluble), el cual contiene también lisozima (20%). (Carrera, J. 2002).



**Figura 7.** Estructura de la enzima Papaína.

**Fuente:** Enzimas Proteolíticas, 2009.



**Figura 8.** Cys25, His159 y Asn175 forman la tríada catalítica.

**Fuente:** Enzimas Proteolíticas, 2009.

#### **2.1.1.4.2.1 Usos**

Al ganado vacuno que se sacrificará se le inyecta la papaína media hora antes, para suavizar aun más la carne que normalmente es suave; la carne tratada con papaína nunca se debe comer medio cocida, debe ser cocinada suficientemente para inactivar la enzima; la lengua, hígado y riñones de animales inyectados se deben comer rápidamente después de cocinarlos por ser alimentos altamente percederos. En la industria se utiliza para rasurar las pieles antes de la coloración y sirve como elemento adjunto en el proceso del caucho. Es aplicada en el hígado de los atunes antes de la extracción del aceite que de esta forma es enriquecido en vitaminas A y D<sub>2</sub>. Se le encuentra en las pastas de dientes, cosméticos y detergentes, así como en fármacos para auxiliar la digestión. (Morton, J.F. 1987).

Las enzimas importantes para ablandar carne son proteasas de origen vegetal o de microorganismos (*Bacillus subtilis* y *Aspergillus oryzae*). Las enzimas se inyectan antes del sacrificio al animal o se trata la carne con las enzimas antes de cocerla, con lo que se logra un franco ablandamiento sin provocar una proteólisis importante. (Cabra, J.1997).

La papaína actúa atacando por proteólisis las fibras musculares y los compuestos del tejido conectivo tales como el colágeno y la elastina, logrando así un relajamiento en los enlaces peptídicos de las proteínas. (ROSI, L. 2007).

La enzima es muy apreciada en la industria cosmética se aprovecha su poder desmanchador y cicatrizante.

En la industria farmacéutica resalta su última utilización en medicinas para la digestión, disolver membranas en difteria y reducir la hinchazón, fiebre y adhesiones post cirugía.

#### **2.1.1.5 Viscosidad**

En los líquidos, el pequeño rozamiento existente entre capas adyacentes se denomina viscosidad. Es su pequeña magnitud la que le confiere al fluido sus peculiares características; así, por ejemplo, si arrastramos la superficie de un líquido con la palma de la mano, las capas inferiores no se moverán o lo harán mucho más lentamente que la superficie ya que son arrastradas por efecto de la pequeña resistencia tangencial, mientras que las capas superiores fluyen con facilidad.

Cabe señalar que la viscosidad sólo se manifiesta en fluidos en movimiento, ya que cuando el fluido está en reposo adopta una forma tal en la que no actúan las fuerzas tangenciales que no puede resistir. Es por ello por lo que llenado un recipiente con un líquido, la superficie del mismo permanece plana, es decir, perpendicular a la única fuerza que actúa en ese momento, la gravedad, sin existir por tanto componente tangencial alguna.

Si la viscosidad fuera muy grande, el rozamiento entre capas adyacentes lo sería también, lo que significa que éstas no podrían moverse unas respecto de otras o lo harían muy poco, es decir, estaríamos ante un sólido. Si por el contrario la viscosidad fuera cero, estaríamos ante

un superfluido que presenta propiedades notables como escapar de los recipientes aunque no estén llenos.

Las unidades de la viscosidad en el SI son Pas. Así, para conocer el comportamiento viscoso de un líquido es necesario determinar el esfuerzo de corte y la rapidez de deformación. Estas cantidades dependen del área de contacto, de la fuerza necesaria para mover la placa superior a una velocidad constante  $v$  y del espaciamiento entre las placas. En este análisis se considera que se mantienen las mismas condiciones termodinámicas de presión, volumen y temperatura. (Méndez, A.2009).

#### **2.1.1.5.1 Viscosidad Absoluta o Dinámica**

Es la fuerza tangencial por unidad de área, de los planos paralelos por una unidad de distancia, cuando el espacio que los separa está lleno con un fluido y uno de los planos se traslada con velocidad en su propio plano con respecto al otro también denominado viscosidad dinámica; coeficiente de viscosidad.

La unidad de viscosidad dinámica en el sistema internacional (SI) es el pascal segundo (Pa.s) o también newton segundo por metro cuadrado ( $\text{N}\cdot\text{s}/\text{m}^2$ ), o sea kilogramo por metro segundo ( $\text{kg}/\text{ms}$ ): Esta unidad se conoce también con el nombre de poiseuille (PI) en Francia, pero debe tenerse en cuenta que no es la misma que el poise (P) descrita a continuación:

El poise es la unidad correspondiente en el sistema CGS de unidades y tiene dimensiones de dina segundo por centímetro cuadrado o de gramos por centímetro cuadrado. El submúltiplo el centipoise (cP),  $10^{-2}$  poises, es



la unidad más utilizada para expresar la viscosidad dinámica dado que la mayoría de los fluidos poseen baja viscosidad. La relación entre el pascal segundo y el centipoise es:

$$1\text{Pa}\cdot\text{s} = 1\text{ N}\cdot\text{s}/\text{m}^2 = 1\text{ kg}/(\text{m}\cdot\text{s}) = 10^3\text{ cP}$$
$$1\text{cP} = 10^{-3}\text{ Pa}\cdot\text{s}$$

#### **2.1.1.5.2 Viscosidad Cinemática**

Es la razón de viscosidad a densidad de masa. En el sistema internacional (SI) la unidad de viscosidad cinemática es el metro cuadrado por segundo ( $\text{m}^2/\text{s}$ ). La unidad CGS correspondiente es el stoke (St), con dimensiones de centímetro cuadrado por segundo y el centistoke (cSt),  $10^{-2}$  stokes, que es el submúltiplo más utilizado. (Viscosidad. 2008).

$$1\text{m}^2/\text{s} = 10^6\text{ cSt}$$
$$1\text{cSt} = 10^{-6}\text{ m}^2/\text{s}$$

#### **2.1.1.5.3 Viscosímetro**

El viscosímetro es un instrumento para medir la viscosidad de un fluido. Los viscosímetros definen las propiedades viscosas de un fluido a temperaturas ambiente o a distintas temperaturas según sea el equipo; comúnmente en la forma de un tubo capilar calibrado, a través del cual un líquido pasa a una temperatura controlada, en un tiempo específico.

#### **2.1.1.5.3.1 Viscosímetro de tubo capilar**

Consiste en dos recipientes conectados por un tubo largo de diámetro pequeño conocido como tubo capilar. Conforme al fluido fluye a través del tubo con una velocidad constante. El sistema pierde energía, ocasionando una caída de presión. La magnitud de la caída de presión está relacionada con la viscosidad del fluido. (Viscosidad. 2008).

#### **2.1.1.5.3.2 Viscosímetro de Oswald-Cannon-Fenske**

En esencial el viscosímetro es un tubo “U” una de sus ramas es un tubo capilar fino conectado a un depósito superior. El tubo se mantiene en posición vertical y se coloca una cantidad conocida del fluido en el depósito para que luego fluya por gravedad a través de un capilar. Los procedimientos exactos para llevar a cabo estas pruebas estándar dado en los estándares de la American Society For Testing and Materials. (Viscosidad. 2008).

#### **2.1.1.5.3.3 Viscosímetro de caída libre**

Consiste en varios tubos llenos con líquido “estándares” de viscosidades conocidas con una esfera de acero en cada tubo. El tiempo necesario para que la esfera recorra la longitud total del tubo depende de la viscosidad del líquido. Si se coloca la muestra en un tubo análogo es posible aproximar el valor de la viscosidad por comparación con los otros tubos. (Viscosidad. 2008).

## **2.2 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA**

El perfil de investigación científica tiene un fundamento de carácter académico–científico, con clara predisposición dialéctica en la que predomina el análisis, la síntesis, la inducción y la deducción.

El análisis porque permite desglosar las partes del tema investigativo y someterlo al crisol de la ciencia. El sintético por cuanto se abstrae el conocimiento para poder llegar a generalizaciones. Es inductivo porque vamos de lo particular a lo general en el proceso de investigación. Es deductivo por cuanto en algunas etapas de la investigación se ha iniciado de lo general a lo particular.

La investigación realizada, está colocado en un paradigma positivista, el cual indica que la realidad es única, puede ser fragmentada para su análisis y las partes pueden ser manipuladas independientemente. De acuerdo con la concepción dialéctica del conocimiento existen múltiples realidades construidas por cada persona, por lo tanto, el estudio de una parte está influenciada por el estudio de las otras partes de esa realidad.

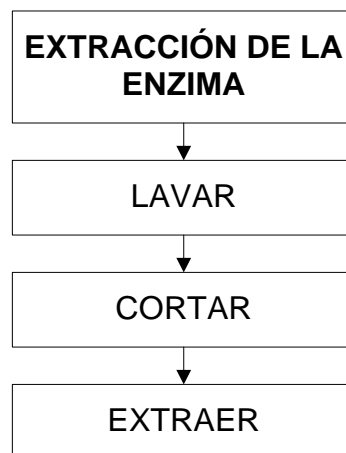
Este enfoque considera que es posible establecer leyes generales, que son permanentes independientemente del tiempo. En la concepción dialéctica del conocimiento no podemos admitir la posibilidad de hacer generalizaciones. Hay que trabajar con hipótesis de trabajo limitadas a un tiempo y a un espacio específico.

## 2.3 FUNDAMENTACIÓN LEGAL

El tema de investigación está enmarcado en un campo nuevo en el país por lo que no existe condiciones legales para este tipo de enzima. A nivel internacional existen reglamentaciones a las que no se puede acceder por motivos económicos.

## 2.4 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

### 2.4.1 *Diagrama de flujo para la extracción de la enzima*



**Figura 9.** Diagrama de Procesos de extracción de la enzima.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

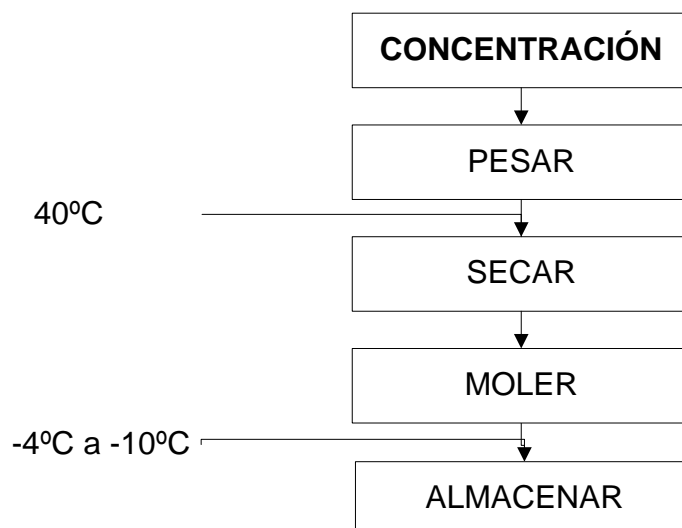
En la Figura 9, se describe el proceso de extracción de la enzima a partir de la fruta, las etapas se detallan a continuación:

**Lavar:** Se lavó la fruta a utilizarse de una manera exhaustiva, hasta que quede libre de cualquier impureza física.

**Cortar:** Se realizó el corte longitudinal de cuatro a seis incisiones longitudinales de 2mm con un cuchillo de acero inoxidable.

**Extraer:** Se extrajo el látex del corte anterior y se lo recogió en una cápsula de porcelana previamente registrando su peso.

#### **2.4.2 Diagrama de flujo para la fase de concentración de la enzima papaína**



**Figura 10.** Diagrama de Procesos de la concentración de la enzima.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

En la Figura 10, se describe el proceso de concentración de la enzima, las etapas se describen a continuación:

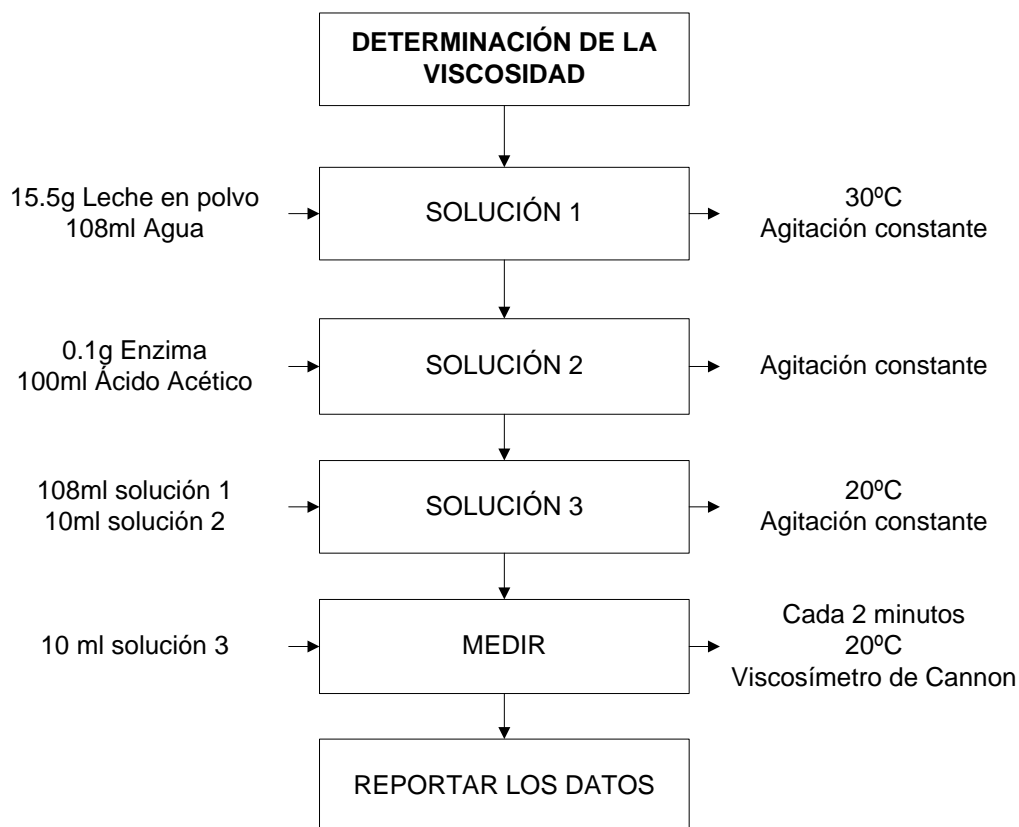
**Pesar:** El látex colocado en la cápsula de porcelana fue pesado en una balanza analítica.

**Secar:** Para el secado del látex extraído se utilizó una incubadora, a la temperatura de 40°C para evitar la desnaturalización de la enzima, el tiempo de duración de este proceso es de 3 a 4 horas y media dependiendo de la cantidad de látex que se vaya a secar. En el momento en el que el látex no se pegue y este en forma granulada, esto quiere decir que el proceso de secado ha finalizado.

**Moler:** Con un pistilo se procedió a moler los gránulos de látex secos hasta que se pulvericen.

**Almacenar:** Se colocó el polvo en un recipiente de vidrio oscuro bien sellado. Se almacenó el recipiente en el congelador de -4°C a -10°C, para una mejor conservación de la enzima.

## 2.4.2 Diagrama de flujo para la determinación de la viscosidad



**Figura 11.** Diagrama de Procesos de la determinación de la viscosidad.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

En la Figura 11, se describe el proceso de determinación de la viscosidad para determinar la actividad de la enzima, las etapas se describen a continuación.

**Preparar el equipo:** Se utilizó un viscosímetro de Cannon, manteniendo la temperatura en 20°C en un baño maría.

**Preparar solución 1:** Se pesó 15.5g de leche en polvo y se mezcló con 108 ml de agua a 30°C.

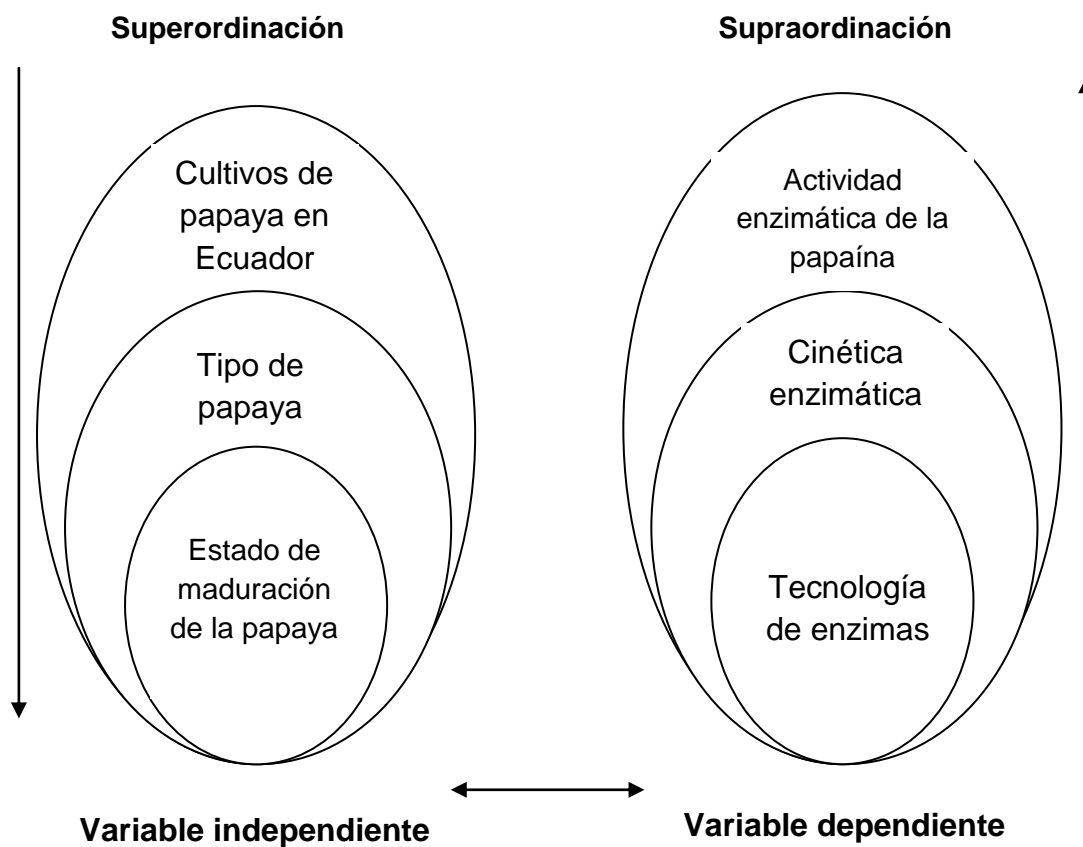
**Preparar solución 2:** Se pesó 0.1g de la enzima papaína y se mezcló con 100 ml de ácido acético (vinagre, HEINZ al 5%).

**Preparar solución 3:** A la solución 1 se bajó la temperatura a 20°C y se le añadió 10 ml de la solución 2. A esta solución se la mantuvo en constante movimiento y con la temperatura en 20°C.

**Medir:** Cada 2 minutos se sacaron 10ml de la solución 3 y se realizó la medición utilizando el equipo descrito anteriormente. Los datos se fueron reportando hasta que se obtuvieron valores constantes.



#### 2.4.4 Red de inclusión



**Figura 12.** Inclusiones Conceptuales.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

## **2.5 HIPÓTESIS**

Ho: La madurez del fruto no influye sobre la actividad enzimática de la papaína.

Hi: La madurez del fruto influye sobre la actividad enzimática de la papaína.

## **2.6 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES**

Variable Independiente: Grado de maduración de la papaya.

Variable Dependiente: Actividad enzimática de la papaína.

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA**

#### **3.1 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN**

El presente tema de investigación tiene un enfoque constructivista con un criterio de juicio crítico y propositivo, es constructivista porque los conocimientos y la investigación es fruto de la revisión bibliográfica del autor.

Tiene juicio crítico porque refleja el nivel de conocimiento adquirido en los diferentes semestres que oferta la FCIAL y es propositivo porque se registra una solución al problema investigado.

El tema de investigación tiene un sustento bibliográfico–documental y de campo; es bibliográfico porque se consultará libros, textos, revistas, folletos, internet. Es documental porque se revisará archivos y documentos que facilitarán el desarrollo de la investigación. Es de campo porque el perfil se elaborará en el lugar en el cual se produce el objeto de estudio.

### **3.2 NIVELES O TIPO DE INVESTIGACIÓN**

El trabajo de investigación tiene los siguientes niveles: Exploratorio, Descriptivo, Correlacional o Asociación de Variables; es exploratorio porque permite desarrollar temas nuevos o poco conocidos; es descriptivo porque desarrolla ampliamente criterios y contenidos. Y es correlacional o asociación de variables porque permite confrontar a la variable independiente con la variable dependiente, puesto que su objetivo global es valorar el comportamiento de una de las variables en función de las otras y su grado de relación entre sí; además que nos permite:

- Análisis de correlación de variables.
- Medición cuantitativa de resultados.

### **3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA**

De acuerdo al problema de investigación planteado “Escasa industria nacional de producción de enzimas naturales”, en función de establecer la relación entre: grado de maduración de la papaya y la actividad enzimática de la papaína, se considera apropiado aplicar un Diseño de Un Factor Completamente Aleatorizado.

Se realizaron los experimentos para determinar la actividad enzimática mediante la determinación de viscosidad obtenida por disolución de leche en polvo con la enzima añadida a esta. Se trató de probar el efecto de los 3 grados de maduración de la papaya:

P 1= verde

P 2= pintona

P 3= madura

Se trabajó con 10 papayas como fuente de análisis para cada uno de los tres grados de maduración de la fruta, se recolectó el látex extraído de estas 10 papayas y se procedió al proceso de concentración; posteriormente se obtiene un concentrado en polvo donde se encuentra la enzima. Con este concentrado se realizaron las pruebas de viscosidad en leche para las dos observaciones que se evaluaron. Por tanto se trabajó con tres grados de maduración de la papaya (verde, pintona y madura) cada uno por duplicado, dando un total de seis muestras.

Con este análisis se llegó a cuantificar la actividad enzimática de la enzima papaína, que es la respuesta experimental.

### **3.3.1 *Unidad Experimental***

Papayas para cada índice de maduración.

### **3.3.2 *Respuesta experimental***

#### **Durante el proceso de determinación de la viscosidad.**

Se toman las muestras de leche cada 2 minutos, se mide el tiempo de elución de las muestras, se registran los datos y se va realizando una curva de tiempo vs viscosidad.

La respuesta experimental con la que se trabajó es el valor del corte en el eje “y” de la regresión exponencial realizada con los valores del tiempo y de la viscosidad, que se obtuvieron luego de los experimentos con cada una de las soluciones de las enzimas para cada grado de maduración de la papaya.

### **3.3.3 *Análisis Funcional***

Se realizó análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de Tukey (5% significancia) para verificar que existe diferencia significativa del análisis anteriormente planteado.

### 3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

#### 3.4.1. Variable Independiente

**Tabla 6.** Índice de maduración de la papaya.

Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Ítems Básicos	Téc- Instrumentos
La papaya es un fruta rica en contenido de papaína que es una enzima proteolítica, que dependiendo del índice de maduración esta fruta no se conoce cambios en la actividad enzimática.	Variedad de Papaya nacional Clima: Cálido, húmedo, subtropical ; Temperatura: 23-28 °C Heliofania(luminosidad):1500 horas anuales. Humedad:90% a 100% Pluviosidad: 900-1000 mm. Altitud: 0-600 msnm. Formación ecológica: Bosque seco húmedo (bs-h) y muy húmedo premontano; bosque seco (bs) y húmedo tropical (bh-t).	Verde Pintona Madura	¿El índice de maduración de la papaya afecta a la cantidad de látex extraído?  ¿El tipo de papaya utilizada influye en la actividad enzimática?	Internet Libros Revistas

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

### 3.4.2. Variable Dependiente.

**Tabla 7.** Actividad Enzimática de la papaína.

Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Ítems Básicos	Téc- Instrumentos
Analizar la actividad enzimática de la papaína.	Papaína	Viscosidad	¿Qué es la papaína? ¿Cómo se da la actividad enzimática? ¿Qué es la viscosidad?	Método de coagulación de leche (Balls and Hoover) con modificaciones según las necesidades del estudio.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.



### **3.5 PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN**

Las técnicas utilizadas para la recolección de la información serán la observación directa puesto que estará en contacto con el objeto de estudio en escenarios y ambientes debidamente preparados y equipados para realizar la investigación que conduzca a la comprobación o rechazo de las hipótesis planteadas.

### **3.6 PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN**

#### **3.6.1 *Procedimiento***

- Estudio profundo y análisis de la información recolectada.
- Obtención de datos por duplicado para evaluar la confiabilidad de los análisis.
- Para el procesamiento de datos se utilizó el paquete informático EXCEL.
- Para el caso del diseño experimental y para realizar las correspondientes pruebas de comparación múltiple, análisis de varianza se utilizó el paquete estadístico InfoStat.
- Los resultados son presentados e interpretados en tablas, cuadros, gráficos para la mejor comprensión y entendimiento mediante el empleo del programa EXCEL. Las conclusiones se interpretan de acuerdo a los resultados obtenidos en la parte experimental.

## **CAPÍTULO IV**

### **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

#### **4.1 ANALISIS DE LOS RESULTADOS**

En el Anexo A se presentan las tablas que contienen los datos experimentales de los pesos de el látex que se obtuvieron durante el proceso de extracción de la enzima papaína. También se puede apreciar los valores totales obtenidos en gramos (g) y porcentaje de los rendimientos de materia seca y humedad para cada grado de maduración de la papaya.

Además se encontrarán los datos experimentales de las determinaciones de viscosidad de la leche sin la enzima, de la leche más la enzima añadida y los gráficos que se obtienen después de procesar los datos.

En el Anexo B se presenta el análisis estadístico efectuado con los datos obtenidos de la determinación de la viscosidad.

## **4.2 INTERPRETACIÓN DE DATOS**

### **4.2.1 *Materia prima***

La materia prima utilizada fueron papayas variedad nacional, que se las adquirió de un proveedor en la Provincia del Tungurahua, ciudad de Ambato sector centro Mercado Central; las papayas con las que se trabajó son de origen de la Provincia del Guayas, las mismas que fueron seleccionadas según su grado de maduración.

### **4.2.2 *Respuestas Experimentales***

#### **4.2.2.1 *Extracción del látex***

Se extrajo el látex de los frutos realizando incisiones de 1 a 2mm de espesor a la cáscara.

Al analizar la Tabla A-1, del Anexo A, se observa los pesos de la enzima obtenida después del proceso de la primera extracción del látex de la fruta para cada índice de maduración.

Para la papaya verde se obtiene un valor de 3,5477 g de látex seco extraído utilizando 4 papayas, un porcentaje de humedad de 25,23% y un rendimiento de materia seca de 74,77% en un tiempo de secado de 4 horas con 25 minutos.

Para la papaya pintona se obtiene un valor de 1,5329 g de látex seco extraído utilizando 3 papayas, un porcentaje de humedad de 34,19% y un rendimiento de materia seca de 65,807% en un tiempo de secado de 3 horas con 30 minutos.

Para la papaya madura se obtiene un valor de 0,0637 g de látex seco extraído utilizando 2 papayas, un porcentaje de humedad de 90,67% y un rendimiento de materia seca de 65,807% en un tiempo de secado de 3 horas.

Al analizar la Tabla A-2, del Anexo A, se observa los pesos de la enzima obtenida después del proceso de la segunda extracción del látex de la fruta para cada índice de maduración.

Para la papaya verde se obtiene un valor de 3,0465 g de látex seco extraído 3 papayas, un porcentaje de humedad de 20,821% y un rendimiento de materia seca de 79,179% en un tiempo de secado de 4 horas con 10 minutos.

Para la papaya pintona se obtiene un valor de 1,5183 g de látex seco extraído utilizando 3 papayas, un porcentaje de humedad de 34,497% y un rendimiento de materia seca de 65,503% en un tiempo de secado de 3 horas con 30 minutos.

Para la papaya madura se obtiene un valor de 0,0537 g de látex seco extraído 2 papayas, un porcentaje de humedad de 87,911% y un rendimiento de materia seca de 12,089% en un tiempo de secado de 3 horas.

Al analizar la Tabla A-3, del Anexo A, se observa los pesos de la enzima obtenida después del proceso de la tercera extracción del látex de la fruta para cada índice de maduración.

Para la papaya verde se obtiene un valor de 2,5865 g de látex seco extraído 3 papayas, un porcentaje de humedad de 26,260% y un rendimiento de materia seca de 73,740% en un tiempo de secado de 4 horas con 10 minutos.

Para la papaya pintona se obtiene un valor de 1,3091 g de látex seco extraído utilizando 2 papayas, un porcentaje de humedad de 39,723% y un rendimiento de materia seca de 60,277% en un tiempo de secado de 3 horas con 30 minutos.

Para la papaya madura se obtiene un valor de 0,1484 g de látex seco extraído utilizando 2 papayas, un porcentaje de humedad de 76,70% y un rendimiento de materia seca de 23,30% en un tiempo de secado de 3 horas con 30 minutos.

Al analizar la Tabla A-4, del Anexo A, se observa los pesos de la enzima obtenida después del proceso de la cuarta extracción del látex de la fruta para el índice de maduración pintona y madura.

Para la papaya pintona se obtiene un valor de 1,6197 g de látex seco extraído utilizando 2 papayas, un porcentaje de humedad de 39,070% y un rendimiento de de materia seca 60,930% en un tiempo de secado de 3 horas con 30 minutos.

Para la papaya madura se obtiene un valor de 0,1966 g de látex seco extraído utilizando 2 papayas, un porcentaje de humedad de 70,432% y un rendimiento de materia seca de 29,568% en un tiempo de secado de 3 horas con 30 minutos.

Al analizar la Tabla A-5, del Anexo A, se observa los pesos de la enzima obtenida después del proceso de la quinta extracción del látex de la fruta para la papaya madura.

Para la papaya madura se obtiene un valor de 0,1863 g de látex seco extraído utilizando 2 papayas, un porcentaje de humedad de 67,555% y un rendimiento de materia seca de 32,445% en un tiempo de secado de 3 horas con 30 minutos.

La Tabla A-6, demuestra el total de gramos obtenidos de la extracción de látex seco para cada grado de maduración de la fruta; para la verde se obtuvo 9,1807 g de la enzima, para la pintona se obtuvo 5,9800 g de la enzima, para la madura 0,6487 g de la enzima. Además del rendimiento general de materia seca y la humedad expresado en porcentaje.

#### **4.2.2.2 Determinación de la viscosidad**

En el Anexo A, Tablas A-7, A-8, A-10, A-11, A-13, A-14; se detallan el valor de k, que es la constante del viscosímetro calculado con agua destilada, que es de  $1.381 \times 10^{-5}$ ; esta se obtiene mediante la aplicación de la fórmula:

$$k = \frac{\mu}{\rho \cdot t}$$

Donde:  $\mu$  es la viscosidad,  $\rho$  es la densidad y t es el tiempo de escurrido del líquido a través del viscosímetro. Para este cálculo se utilizaron valores bibliográficos de la viscosidad y densidad del agua a 20°C que son 1.020mPa\*s y 998kg/m<sup>3</sup> respectivamente; y el valor de t que se obtuvo experimentalmente que es de 74 segundos.

Estas tablas también nos indican los valores del tiempo de escurrido de la leche obtenida a partir de la dilución de leche en polvo sin la adición de la solución de enzima y también los valores cada 2 minutos de esta leche pero añadida la enzima, a 20°C.

Los valores de viscosidad para cada tiempo de muestra se obtienen aplicando la fórmula:

$$\mu = \delta \cdot t \cdot k$$

Donde:  $\delta$  es la densidad de la leche,  $t$  es el tiempo de escurrido a través del viscosímetro y  $k$  es la constante de éste.

El valor de densidad de la leche se obtuvo en un lactodensímetro dándonos un valor de  $1027.94\text{kg/m}^3$ . Teniendo estos datos se calculó la viscosidad para cada tiempo observando una curva característica, en donde se tiene una fase lenta de acción de la enzima, que es la fase inicial, que puede darse por la ambientación de la enzima al sustrato, luego tenemos la fase exponencial en donde vemos la mayor actividad de la enzima papaína sobre los enlaces de la proteína de la leche en donde se marca una clara tendencia a aumentar la viscosidad, y al final tenemos la fase asintótica que es cuando la enzima mantiene un valor casi constante, que se podría dar por la saturación de la enzima.

Las tablas A-9, A-12 y A-15 muestran los valores antes descritos pero en un promedio por cada grado de maduración.

#### **4.2.2.3 Actividad Enzimática**

En el Anexo C, Gráficos C-1, C-2, C-4, C-5, C-7, C-8; se demuestran las curvas de tiempo expresado en segundos (s) vs. la viscosidad expresada en milipascales por segundo ( $\text{mPa} \cdot \text{s}$ ) para cada réplica de los grados de maduración evaluados. Los Gráficos C-3, C-6, C-9; son los promedios de las observaciones de los tiempos expresado en segundos vs. las viscosidades expresada en milipascales por segundo ( $\text{mPa} \cdot \text{s}$ ) para cada grado de madurez de la papaya.

En todos los Gráficos antes nombrados se observa que existe una fase en la que los datos obtenidos van ascendiendo, esto se debe a la reacción que va teniendo la enzima sobre la leche haciéndola más viscosa mientras paso el tiempo, aquí es donde se manifiesta la mayor actividad de la enzima; hasta que llega a la fase que los datos se vuelven constantes donde se puede decir que la enzima a dejado de actuar ya no se demuestra ninguna actividad enzimática. Esto se debe porque la solución de leche con la enzima ha llegado a un punto de saturación en el cual ya no se puede dar mayor actividad, esto puede ocurrir debido a que se rompieron todos los enlaces de la proteína de la leche y la enzima no tiene más sustrato donde seguir actuando. Además nos indican los gráficos la ecuación exponencial para cada réplica y su  $R^2$ .

El Anexo B, Tabla B-1 indica el arreglo experimental de los grados de maduración de las papayas y las observaciones con la respuesta experimental que para la investigación es el valor del corte en el eje y tomado de la ecuación de la regresión exponencial que en este caso es la viscosidad, Anexo C, Gráficos C-1, Gráficos C-2, Gráficos C-4, Gráficos C-5, Gráficos C-7, Gráficos C-8, lo que indica que existe actividad enzimática. Con esta estructura se ingresan los datos al paquete estadístico InfoStat.

La Tabla B-2 señala el análisis de varianza que nos indica que la variable es la respuesta experimental; N es el número de muestras 6;  $R^2$  coeficiente de determinación que indica el grado de ajuste de la recta de regresión a los valores de la muestra, es decir, mide la proporción de la variación en Y que explica la variación independiente X en el modelo de regresión, su valor varia de 0 a 1, un valor cercano a 0 indica que no hay relación lineal entre las variables y un valor cercano a 1 indica un ajuste



lineal perfecto, el valor obtenido de  $R^2$  es de 0,99; CV que es coeficiente de variación se calcula como el cociente entre la desviación típica y la media (a veces este cociente se expresa en tanto por ciento multiplicándolo por 100)  $\frac{\text{desviación típica}}{\text{media}}$ ; el valor que se obtenga debe ser menor que el 10% ya que se trabaja en condiciones de laboratorio, además que es el grado de precisión del análisis mientras más cercano a cero es mejor; en este caso se obtiene un valor de 0,43%.

En la Tabla B-3 se reporta los resultados del análisis de varianza el cual indica que existe diferencia significativa entre los grados de maduración de las papayas utilizadas para el análisis de la actividad enzimática de la papaína, es decir que la actividad de la enzima si depende según el grado de madurez de la papaya puesto que el p-valor es menor al F calculado. Para el análisis de las observaciones no existe una diferencia significativa, lo cual es de esperarse ya que para cada observación se trabajo con iguales condiciones.

En el Anexo B, Tabla B-4 se aplicó la prueba de Tukey al 5% para los grados de maduración de las papayas, para constatar que existe diferencia significativa, ocupando el P1(papaya verde) el primer nivel A siendo la mejor muestra del experimento; el P2 (papaya pintona) y el P3 (papaya madura) ocupan el mismo nivel B en la prueba; el Anexo C, Gráfico C-19 nos indica que la mejor muestra es P1 que pertenece a las papayas verdes. Esto se explica como una alteración de la actividad enzimática de la papaína conforme la papaya siga madurándose.

La Tabla B-5 indica el arreglo experimental de los grados de maduración de las papayas y las observaciones con la respuesta experimental que en

este caso es el exponente de la regresión exponencial. Con esta estructura se ingresan los datos al paquete estadístico InfoStat.

La Tabla B-6 señala el análisis de varianza realizado a la respuesta experimental en este caso el exponente de la regresión exponencial; N es el número de muestras 6;  $R^2$  coeficiente de determinación que indica el grado de ajuste de la recta de regresión a los valores de la muestra, es decir, mide la proporción de la variación en Y que explica la variación independiente X en el modelo de regresión, su valor varía de 0 a 1, un valor cercano a 0 indica que no hay relación lineal entre las variables y un valor cercano a 1 indica un ajuste lineal perfecto, el valor obtenido de  $R^2$  es de 1 por lo que la linealización es perfecta; CV que es coeficiente de variación se calcula como el cociente entre la desviación típica y la media (a veces este cociente se expresa en tanto por ciento multiplicándolo por 100)  $\frac{s}{\bar{X}}$ ; el valor que se obtenga debe ser menor que el 10% ya que se trabaja en condiciones de laboratorio, en este caso se obtiene un valor de 2,58%.

En la Tabla B-7 se reporta los resultados del análisis de varianza el cual indica que existe diferencia significativa entre los grados de maduración de las papayas utilizados para establecer la formación de la curva, es decir que la actividad de la enzima si depende según el grado de madurez de la papaya puesto que el p-valor es menor al F calculado.

En la Tabla B-8 se aplicó la prueba de Tukey al 5% para los grados de maduración de las papayas existiendo diferencia significativa, ocupando el P1 el primer nivel A siendo esta la mejor muestra; el P2 y el P3 ocupan el mismo nivel B en la prueba que corresponden a papayas pintonas y

maduras; el Anexo C, Gráfico C-20 nos indica que la muestra con el que se trabajó es el P1 que pertenece a las papayas verdes. Esto se explica como una alteración de la actividad enzimática de la papaína conforme la papaya siga madurándose.

#### **4. 3 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS**

Se ha rechazado la hipótesis nula que señala que la madurez del fruto no influye sobre la actividad enzimática de la papaína.

En consecuencia, se acepta la hipótesis alternativa, es decir que la madurez del fruto influye sobre la actividad enzimática de la papaína.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 CONCLUSIONES

- Se logró obtener la enzima papaína concentrada y evaluar su actividad enzimática. Para este estudio se consideró como variable el grado de madurez de la papaya: verde, pintona y madura. Después de realizar los análisis de viscosidad se determinó que la actividad enzimática de la papaína varía para los diferentes grados de madurez de la fruta, obteniendo así el resultado de que mayor actividad tiene es el P1, que corresponde al grado de maduración de papayas verdes y donde menos actividad enzimática se registra en las papayas pintonas P 2 y papayas maduras P 3.  
El grado de maduración de la papaya permitió que actúe la enzima papaína de mejor manera al ser extraído el látex de papayas verdes en comparación a papayas pintonas o maduras. Además en las papayas verdes existe mayor cantidad de látex lo que facilita al momento de extraer la enzima.
- Se adaptó un método de extracción de papaína adecuando las condiciones del laboratorio a los requerimientos necesarios de la metodología utilizada. Se acondicionó el Laboratorio de Análisis de los Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

para la extracción de la enzima papaína, ya que la facultad no cuenta con un laboratorio específico para extracción de enzimas naturales, de tal manera que se logró contar con los materiales adecuados para el desarrollo de la investigación; además se trabajó teniendo en cuenta siempre los mismos parámetros de la extracción para tener un margen de error bajo y obtener una enzima bajo las mismas condiciones en todos los casos y así obtener un producto lo más parecido al de otras investigaciones realizadas con esta metodología.

- Se obtuvo un concentrado de papaína mediante el proceso de secado. En un incubadora se realizó el proceso de secado a 40°C del látex extraído de las papayas para cada grado de maduración, el tiempo de secado varía según la cantidad de enzima extraída que se vaya a secar pero normalmente va de 3 horas a 4 horas y media; según el método planteado se utiliza una estufa para secar el látex pero se prefirió utilizar una incubadora para su secado ya que se tiene un mayor control de la temperatura para así poder evitar una desnaturalización de la enzima si llegara a temperaturas más altas.

Según los análisis realizados se demuestra que la enzima obtenida si se encuentra concentrada en este extracto ya que al entrar en contacto con la solución de leche comienza a actuar al instante, es por ese motivo que se tuvo que sacar las muestras y ponerlas en refrigeración cada 2 minutos para posteriormente ir determinando la viscosidad y la enzima no siga actuando sobre el sustrato.

- Se analizó la actividad enzimática que presenta la enzima papaína de acuerdo al grado de madurez de la papaya, mediante determinación de la viscosidad de la solución de la leche con la adición de la enzima, se siguió la metodología de la coagulación de la leche (Balls and Hoover) con sus variaciones ya que en este caso no se tomo los tiempos de coagulación de la leche sino la viscosidad que va aumentando mientras va actuando la enzima. La papaína por ser una enzima proteolítica actúa sobre la proteína de la leche rompiendo sus enlaces, provocando que se formen moléculas más grandes por lo que va adquiriendo mayor viscosidad. Se realizó con una sola concentración de la enzima 0,1g disueltos en 100ml de ácido acético, la concentración de la enzima debe ser baja para poder reportar diferentes valores de viscosidad, ya que al realizar las pruebas preliminares se probó con concentraciones más altas de enzima y los datos no tenían ningún tipo de variación, es decir, que la papaína actuaba rápidamente sobre la leche llegando a un estado asintótico de inmediato en el cual no se puede medir la actividad.

## **5. 2 RECOMENDACIONES**

- Se recomienda lavar muy bien las papayas antes de comenzar la extracción ya que estas tienen tierra, impurezas que podrían afectar al producto final.
- Se recomienda en el momento de la extracción del látex mantener la limpieza del lugar del trabajo para evitar que el látex se llegue a contaminar.

- Es recomendable mantener las condiciones de secado y temperatura homogéneas para que no exista variación en los resultados.
- Es importante también secar muy bien el viscosímetro después de lavarlo ya que el agua puede entrar en contacto con la muestra y variar los valores que se desean obtener.
- Después de cierto tiempo de utilizar el viscosímetro, este llega a un punto en que se taponan porque las moléculas que intentan pasar por el capilar son muy grandes, es en este momento donde se recomienda utilizar la solución sulfocrómica que es un compuesto que va limpiando las paredes del viscosímetro puesto que va digiriendo todos los compuestos orgánicos.
- Se recomienda que las papayas verdes en el momento de su recolección se las realice con el tallo del que cuelgan, ya que de esta manera se conserva mejor el látex hasta su extracción y se evita pérdida del mismo.

## CAPÍTULO VI

### PROPUESTA

#### 6.1 DATOS INFORMATIVOS

**Título:** “Método para cuantificar la actividad enzimática de la papaína, basado en cambios de viscosidad de la leche obtenida por disolución de leche en polvo”.

- **Institución ejecutora:** Universidad Técnica de Ambato – Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.
- **Beneficiarios:** Sector de la investigación científica, ONG’S (Organizaciones no Gubernamentales), pequeñas empresas del sector alimenticio, Estudiantes de la Carrera de Ingeniería Bioquímica.
- **Ubicación:** Ambato – Ecuador
- **Tiempo estimado para la ejecución:** 8 meses  
**Inicio:** Junio 2011  
**Final:** Febrero 2012
- **Equipo técnico responsable:** Egda. Cristina Villavicencio, Ing. Juan De Dios Alvarado M.Sc.
- **Costo:** \$ 440,00



## 6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

La papaína se vende en forma líquida y pulverizada. Comúnmente se importa como materia prima y es procesada de acuerdo a las especificaciones del usuario final. La fuerza de la papaína se mide en Unidades de Tirosina (TU). De acuerdo a uno de los distribuidores en Inglaterra, la papaína líquida de 70-75 TU se usa comúnmente en las cerveceras. Sin embargo, algunos compradores requieren fuerzas de hasta 500-700 TU. Uno de los problemas más grandes para los compradores de papaína es la baja actividad enzimática, causada por almacenar el látex por más de un día mientras se acumula suficiente stock para comenzar el proceso. (Fernández, J. 2005).

Según (Barahona. 1983) en el continente Americano los países de Estados Unidos, México y Chile son los mayores productores de la enzima papaína extraída del fruto papaya.

La industrialización de frutas en nuestro país está limitada hacia la exportación de jugos, concentrados, conservas y mermeladas, sin considerar otros principios activos que contienen las frutas como subproductos, sean estos proteicos o enzimáticos los cuales pueden ser usados como colorantes, clarificantes, saborizantes y coadyuvantes de ciertas reacciones químicas en la elaboración de otros productos (Aguirre, E).

La papaya al pertenecer a la familia de las caricáceas contiene en su composición papaína que es una enzima proteolítica utilizada en la industria cervecera y en la industria cárnica (Barahona. 1983).

La papaína bruta, contiene un poco de agua, glúcidos, ácidos orgánicos y una mezcla de enzimas, dónde destacan las denominadas proteasas que actúan rompiendo los enlaces peptídicos en cualquier lugar de la cadena peptídica en la que se hallen situados (endopeptidasas). También contiene pequeñas cantidades de otros enzimas: papaya peptidasa A, lipasa y lisozima (enzima que rompe las paredes de las células bacterianas). (Chávez, 1998).

### **6.3 JUSTIFICACIÓN**

Esta investigación tiene una gran importancia básicamente porque no se han realizado estudios sobre este tema a nivel de la provincia y muy probablemente a nivel nacional. Lo que se intenta con esta investigación es realizar trabajos de forma científica cuyos datos serían de gran ayuda para la comunidad estudiantil de las carreras relacionadas de una u otra forma con la tecnología de enzimas.

Esta investigación es original porque es un tema poco explorado y brinda una gran cantidad de conocimientos científicos, ya que se emplean métodos de extracción, concentración, viscosidad. La investigación es absolutamente factible puesto que existe el material bibliográfico necesario que es una guía para la experimentación y análisis de los resultados, además muy accesible ya que su presupuesto es de bajo nivel económico.

## **6.4 OBJETIVOS**

### **6.4.1 Objetivo General**

- Proponer un método para cuantificar la actividad enzimática de la enzima papaína, basada en cambios de viscosidad de la leche.

### **6.4.2 Objetivos Específicos**

- Extraer la enzima papaína a partir del látex de papayas verdes.
- Analizar la actividad enzimática de la papaína y su comportamiento en la viscosidad de la leche, obtenida por disolución de leche en polvo.
- Determinar la concentración adecuada de enzima papaína y evaluar los cambios de viscosidad de la leche.

## **6.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD**

El proyecto de investigación es de tipo tecnológico, ya que con ello se puede implementar nuevas técnicas para la cuantificación de la actividad enzimática de la papaína. El análisis de factibilidad es además de carácter sociológico, puesto que contribuye con investigaciones y estudios que se pueden realizar con los datos expuestos en éste y serían de gran ayuda para los estudiantes de Carreras especializadas en Tecnología de Enzimas o afines.

**Tabla 8.** Costos de la investigación.

<b>CONCEPTO</b>	<b>VALOR (USD)</b>	<b>TOTAL (USD)</b>
Graduando	120,00	120,00
Tutor	50,00	50,00
Materiales, equipos y reactivos	150,00	150,00
Publicaciones	80,00	80,00
	Subtotal	400,00
	10% de imprevistos	40,00
	Total	440,00

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Costo total estimado:** \$ 440,00

**Aporte de Universidad (FCIAL):** \$ 000,00

**Aporte Otros:** \$ 000,00

## **6.6 FUNDAMENTACIÓN**

Cinética enzimática es el área de la bioquímica relacionada con la determinación cuantitativa de las velocidades de las reacciones que catalizan y el estudio sistemático de los factores que afectan dichas velocidades.

La cinética enzimática estudia la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas. Estos estudios proporcionan información directa acerca del mecanismo de la reacción catalítica y de la especificidad del enzima. La velocidad de una reacción catalizada por un enzima puede medirse con relativa facilidad, ya que en muchos casos no es necesario purificar o aislar el enzima. La medida se realiza siempre en las condiciones

óptimas de pH, temperatura, presencia de cofactores, etc, y se utilizan concentraciones saturantes de sustrato.

**Importancia:**

- Permite a los científicos reconstruir el número y el orden de los pasos mediante los cuales las Enzimas transforman los Sustratos en Productos.
- Representa la forma principal de identificar posibles agentes terapéuticos que selectivamente incrementan o inhiben la velocidad de los procesos catalizados por enzimas.

La papaína que se extrae de la papaya es una enzima proteolítica, es decir, con capacidad para digerir las proteínas de los alimentos. Similar a la pepsina, una enzima que está en nuestro jugo gástrico.

Esta enzima se consigue por la extracción del látex, que es un líquido blanco obtenido mediante cortes en los frutos inmaduros a la superficie de la papaya. Luego, en laboratorio, se separa la enzima y se purifica hasta alcanzar un nivel óptimo de calidad para la comercialización y uso. (Taboas, S. 2002).

La papaína es muy apreciada en la industria cosmética se aprovecha su poder desmanchador y cicatrizante. En la industria farmacéutica resalta su última utilización en medicinas para la digestión, disolver membranas en difteria y reducir la hinchazón, fiebre y adhesiones post cirugía.

La viscosidad es la propiedad más importante de los fluidos, y por tanto esta requiere la mayor consideración en el estudio del flujo de fluidos. Esta es la resistencia que ejercen los fluidos al ser deformado cuando

este se aplica un mínimo de esfuerzo cortante. La viscosidad de un fluido depende de su temperatura. Es por eso que en los líquidos a mayor temperatura la viscosidad disminuye mientras que en los gases sucede todo lo contrario.

La resistencia de un fluido al corte depende de su cohesión y de su rapidez de la transferencia de la cantidad del movimiento molecular. Un líquido, cuyas moléculas dejan espacios entre ellas mucho más cerradas que las de un gas, tienen fuerzas cohesivas mucho mayor que un gas. La cohesión parece ser la causa predominante de la viscosidad en un líquido; y ya que la cohesión decrece con la temperatura, la viscosidad decrece también. (Viscosidad, 2008).

La viscosidad es una metodología utilizada en este estudio para obtener valores de actividad enzimática tal como se realizó en el estudio de la extracción, concentración y cuantificación de la actividad enzimática de la papaína, en donde se obtuvieron conclusiones como, que de la papaya en grado de maduración verde se obtiene la enzima papaína que tiene una actividad enzimática mayor a la que se obtiene de papayas pintonas y/o maduras.

La regresión lineal de la parte exponencial se puede ver en el Anexo C, Gráfico C-10, Gráfico C-11, Gráfico C-12, Gráfico C-13, Gráfico C-14, Gráfico C-15, Gráfico C-16, Gráfico C-17, Gráfico C-18; en donde el valor de la pendiente de las ecuaciones, corresponde al valor de la velocidad de reacción de la enzima sobre la leche expresado en (mPa\*s/s); lo que indica que por medio de esta metodología se puede evaluar la actividad enzimática de la papaína sobre la proteína de la leche.

Las ecuaciones de la regresión lineal se muestran a continuación en la Tabla 9, en donde además tenemos los valores de  $R^2$  para cada grado de madurez de la papaya.

**Tabla 9.** Ecuaciones de la regresión lineal.

<b>Grado de Maduración</b>	<b>Observaciones</b>	<b>ECUACIÓN</b>	<b><math>R^2</math></b>
Verde	1	$y=0,000862x+2,531175$	0,992369
Verde	2	$y=0,000938x+2,490612$	0,988368
Pintona	1	$y=0,000545x+2,448020$	0,992426
Pintona	2	$y=0,000511x+2,456132$	0,998977
Madura	1	$y=0,000515x+2,413541$	0,981276
Madura	2	$y=0,000507x+2,445992$	0,989555

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

En la Tabla 10 se muestran el análisis de varianza para los valores de la pendiente de la regresión lineal, cabe señalar que la pendiente determina la velocidad de reacción de la enzima sobre la leche, obteniendo una diferencia significativa entre el grado de maduración y luego de realizado el análisis de Tukey expuesto en la Tabla 11 sabemos que la velocidad de reacción es mayor en el P1 que corresponde al grado de maduración verde de la papaya.

**Tabla 10.** Análisis de varianza para los valores de la pendiente de la regresión lineal.

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Grado de Maduración</b>	1,9E-07	2	9,7E-08	58,49	0,0168
<b>Observaciones</b>	1,9E-10	1	1,9E-10	0,12	0,7653
<b>Error</b>	3,3E-09	2	1,7E-09		
<b>Total</b>	2,0E-07	5			

**Tabla 11.** Prueba comparativa de Tukey al 5%.

<b>Grado de Maduración</b>	<b>Medias</b>	<b>N</b>	<b>E.E.</b>	
<b>P1</b>	9,0E-04	2	2,9E-05	A
<b>P3</b>	5,3E-04	2	2,9E-05	B
<b>P2</b>	5,1E-04	2	2,9E-05	B

Conociendo todo lo anterior expuesto podemos deducir que el método de la viscosidad para cuantificar la actividad enzimática de las enzimas proteolíticas es valadero y aplicable a los recursos existentes en los laboratorios.



## 6.7 METODOLOGÍA

Para la parte de extracción y concentración se seguirá la metodología planteada en el Anexo D-1, Anexo D-2.

Para la determinación de la viscosidad de la dilución de la leche en polvo se seguirá el Anexo D-3.

Se utilizará la papaya nacional con un grado de maduración: verde, ya que de estas papayas se extrae mayor cantidad de látex, existe mayor actividad enzimática y la velocidad de reacción es mejor.

**Tabla 12.** Modelo Operativo (Plan de acción).

Fases	Metas	Actividades	Responsables	Recursos	Presupuesto	Tiempo
1. Formulación de la propuesta	Cuantificar la actividad enzimática de la papaína	Revisión bibliográfica	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 90	2 meses
2. Desarrollo preliminar de la propuesta	Cronograma de la propuesta	Pruebas preliminares	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 120	2 meses
3. Implementación de la propuesta	Ejecución de la propuesta	Aplicación de la determinación de Viscosidad	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 150	3 meses
4. Evaluación de la propuesta	Comprobación del proceso	Cálculos estadísticos y análisis de resultados	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 80	1 meses

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

## 6.8 ADMINISTRACIÓN

La ejecución de la propuesta estará coordinada por los responsables del proyecto Egda. Cristina Villavicencio, Ing. Juan De Dios Alvarado M.Sc.

**Tabla 13.** Administración de la Propuesta.

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsables
Método para cuantificar la actividad enzimática de la enzima papaína, basada en cambios de viscosidad de la leche	Falta de información sobre actividad enzimática de enzimas naturales	Obtención de la enzima papaína y cuantificar la actividad enzimática por medio de la determinación de diferentes valores de viscosidad de la leche	<p>Extraer la enzima papaína a partir del látex de papayas verdes.</p> <p>Analizar la actividad enzimática de la papaína y su comportamiento en la viscosidad de la leche, obtenida por disolución de leche en polvo.</p> <p>Determinar la concentración adecuada de enzima papaína y evaluar los cambios de viscosidad de la leche.</p>	<p>Investigador: Egda. Cristina Villavicencio, Ing. Juan De Dios Alvarado M.Sc.</p>

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

## 6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

**Tabla 14.** Previsión de la Evaluación.

Preguntas Básicas	Explicación
¿Quiénes solicitan evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sector de la investigación científica</li> <li>- ONG'S (Organizaciones no Gubernamentales)</li> <li>- Estudiantes de la Carrera de Ingeniería Bioquímica</li> <li>- Pequeñas empresas de productos alimenticios</li> </ul>
¿Por qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Novedad de la investigación en el país</li> <li>- Corregir errores tecnológicos</li> </ul>
¿Para qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Determinar la metodología adecuada de extracción, concentración y actividad enzimática</li> </ul>
¿Qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Metodología utilizada.</li> <li>- Materias primas.</li> <li>- Resultados obtenidos</li> <li>- Producto terminado</li> </ul>
¿Quién evalúa?	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tutor</li> <li>- Calificadores</li> </ul>
¿Cuándo evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Todo el tiempo desde las pruebas preliminares, hasta la obtención de datos de actividad enzimática</li> </ul>
¿Cómo evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mediante instrumentos de evaluación</li> </ul>
¿Con qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Experimentación.</li> <li>- Datos publicados en bibliografía</li> </ul>

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

## MATERIALES DE REFERENCIA

### BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre E., Castillo P., Extracción y Estudio Comparativo de las Enzimas Proteolíticas del Fruto Toronche (*Carica-Stipulata*) y de la Papaya (*Carica-Papaya*) y su Aplicación en la Industria Alimenticia. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador. 1-7.
- Balls y Hoover, Determinación de Actividad de Enzimas Proteolíticas. Biblioteca Digital de la Universidad de Chile. Disponible en:  
[http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias\\_quimicas\\_y\\_farmaceuticas/schmidth02/parte08/08.html](http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/schmidth02/parte08/08.html)
- Barahona J., Proyecto de Producción de fruta y látex de papaya, Honduras, 1983.
- Cabra J., Sánchez M., Biotecnología para el desarrollo en Colombia. Innovación y ciencia Vol. VI, No 3 P. 44-52 Mercado y consumo, 1997.
- Chávez, Enzimología, Editorial Goudelias, 1998.
- Carrera, J., Módulos de Biotecnología, Enzimas Industriales, Biorreactores, Variables de Control, Guías de Laboratorio y Biotecnología Agrícola y Vegetal. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad del Cauca. (2002).

- Carrera, J., Producción y Aplicación de Enzimas Industriales, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad del Cauca, Popayán, Grupo de investigación Asubagroin, Director. Vol 1 No.1 Marzo 2003.
- CONAFRUT, Informe estudio de mercado para la comercialización de la papaya. 2009. Disponible en:  
[http://www.corspac.com/5\\_informe\\_estudio\\_mercado\\_papaya\\_2009.pdf](http://www.corspac.com/5_informe_estudio_mercado_papaya_2009.pdf). Consultado, 15 Nov. 2010.
- Deulgaonkar S., Thorat B., The Purification, Formulation and Drying of Papain, International Journal of Food Engineering; Volume 4, Article 10, 2008.
- Doran, P., Principios de Ingeniería de los Bioprocesos. Editorial Acribia, Zaragoza-España, 3 pp, 1995.
- Enzimas Proteolíticas, Modificación Proteica Postraduccional y destino y recambio de proteínas, 2009. Disponible en:  
<http://enzimologia.fcien.edu.uy/teoricos%202009/Peptidasas%201.pdf>. Consultado, 28 Oct. 2010.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación), 2003- 2006. Producción Mundial de Papaya. (En línea). Disponible en:  
[http://www.fao.org/es/esc/common/ecg/218/es/Sit\\_web\\_s.pdf](http://www.fao.org/es/esc/common/ecg/218/es/Sit_web_s.pdf)

- FAOSTAT. 2002. Página Web de la FAO. Base de datos estadísticos. FAO, Roma.
- Fernández, J., Plan de negocio para la producción de papaína en la séptima región. Universidad de Talca, Curicó-Chile, 2005.
- FUNDACYT (Fundación para la Ciencia y Tecnología), Indicadores de Ciencia y Tecnología en el Ecuador. Disponible en: <http://www.fundacyt.org.ec> (Junio 2003).
- Gacesa, P., Hubble, J., Tecnología de las Enzimas. Acribia. Zaragoza- España, 1990.
- Guananga, Luis., Gutiérrez, Myriam., Pucha, Jimmy., Cadena Logística de Exportación Papaya Hawaina variedad Solo. Tesis, Facultad de Economía y Negocios, Escuela Superior Politécnica Del Litoral. Guayaquil-Ecuador, 2009.
- Izquierdo, J., Ciampi L., Garcia., Biotecnología Apropiable: Racionalidad de su desarrollo y aplicación en América Latina y el Caribe, 1995.
- Mendez, A., Pérez, L., Determinación de la viscosidad de fluidos newtonianos y no newtonianos. Escuela Superior de Física y Matemáticas, Instituto Politécnico Nacional, México Distrito Federal, 2009. Disponible en: [http://www.journal.lapen.org.mx/jan10/LAJPE\\_349\\_Mendez\\_preprint\\_corr\\_f.pdf](http://www.journal.lapen.org.mx/jan10/LAJPE_349_Mendez_preprint_corr_f.pdf)

- Morton, J., Fruits of warm climates. Editorial Media Incorporate. p.p. 336-346. U.S.A. (1987).
- Mott, Robert., Mecánica de Fluidos. 6ta edición. Pearson education. México. 2006.
- Plan Rector del Sistema Producto Papaya. 22 de Febrero de 2005. Disponible en:  
  
[http://w4.siap.gob.mx/sispro/IndModelos/PRector/18\\_NAY/AG\\_Papaya.pdf](http://w4.siap.gob.mx/sispro/IndModelos/PRector/18_NAY/AG_Papaya.pdf). Consultado, 15 Dic. 2010.
- Profiagro, Programa Fitosanitario para el Agro, 2004. Disponible en:<http://www.ecuadorcocoaarriba.com/contenido.ks?contenidold=1936&contenidold=1936>
- Pye E., Wingard L., Enzyme Engineering Volume 2. Editorial Plenum Press, New York, 1974.
- Roca, W., Estudio de las capacidades biotecnológicas e institucionales para el aprovechamiento de la biodiversidad en los países de la Comunidad Andina. Lima-Perú, 2003.
- Roca, W., Estudio de las capacidades biotecnológicas e institucionales para el aprovechamiento de la biodiversidad en los países de la Comunidad Andina.
- Rodwell, V., Murray, R., Bioquímica de Harper. 13ª Ed. 2006.

- Rossi L., Biología Aplicada, Archivo ppt. 2007.
- Taboas Susi., Plantas de Acción digestiva y eupeptica Plantas con enzimas: Papaina, Bromelaina. PAPAYA (*Carica papaya*). 2002
- Tecnoparque. Extracción y purificación de papaína obtenida a partir de *Carica papaya*. Pereira-Colombia, 2010. Disponible en:  
  
<http://biotecnologia1tecnoparque.blogspot.com/2010/08/extraccion-y-purificacion-de-papaina.html>. Consultado, 13 Dic. 2010.
- Trademap. Estadísticas de comercio para el desarrollo internacional de las empresas. Disponible en:  
<http://www.trademap.org/stDataSources.aspx>.
- Viscosidad. Universidad Nacional Experimental Politécnica “Antonio José de Sucre”. Vicerrectorado de Puerto Ordaz. Departamento de Ingeniería Mecánica, Sección de Termofluidos, 2008.
- Wendt J., Izquierdo J., Manejo y gestión de la biotecnología agrícola apropiada para pequeños productores: estudio de caso Ecuador. REDBIO, 2002.
- Whitaker, J. Principles of Enzymology for the Food Sciences. Marcel, New York, 1972.





**ANEXO A**

**RESPUESTAS  
EXPERIMENTALES**



**Tabla A-1.** Primera extracción del látex.

<b>Papaya</b>	<b>Látex húmedo (g)</b>	<b>Látex seco (g)</b>	<b>Humedad (g)</b>	<b>Materia Seca (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>
Verde	4,7447	3,5477	1,197	74,772	25,228
Pintona	2,3294	1,5329	0,7965	65,807	34,193
Madura	0,6828	0,0637	0,6191	9,329	90,671

**Fuente:** Laboratorio de Análisis de los Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado:** Cristina Villavicencio.

**Tabla A-2.** Segunda extracción del látex.

<b>Papaya</b>	<b>Látex húmedo (g)</b>	<b>Látex seco (g)</b>	<b>Humedad (g)</b>	<b>Materia Seca (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>
Verde	3,8476	3,0465	0,8011	79,179	20,821
Pintona	2,3179	1,5183	0,7996	65,503	34,497
Madura	0,4442	0,0537	0,3905	12,089	87,911

**Fuente:** Laboratorio de Análisis de los Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Tabla A-3.** Tercera extracción del látex.

<b>Papaya</b>	<b>Látex húmedo (g)</b>	<b>Látex seco (g)</b>	<b>Humedad (g)</b>	<b>Materia Seca (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>
Verde	3,5076	2,5865	0,9211	73,740	26,260
Pintona	2,1718	1,3091	0,8627	60,277	39,723
Madura	0,6369	0,1484	0,4885	23,300	76,700

**Fuente:** Laboratorio de Análisis de los Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Tabla A-4.** Cuarta extracción del látex.

<b>Papaya</b>	<b>Látex húmedo (g)</b>	<b>Látex seco (g)</b>	<b>Humedad (g)</b>	<b>Materia Seca (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>
Pintona	2,6583	1,6197	1,0386	60,930	39,070
Madura	0,6649	0,1966	0,4683	29,568	70,432

**Fuente:** Laboratorio de Análisis de los Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Tabla A-5.** Quinta extracción del látex.

<b>Papaya</b>	<b>Látex húmedo (g)</b>	<b>Látex seco (g)</b>	<b>Humedad (g)</b>	<b>Materia Seca (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>
Madura	0,5742	0,1863	0,3879	32,445	67,555

**Fuente:** Laboratorio de Análisis de los Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Tabla A-6.** Total de gramos extraídos de látex seco, su porcentaje de rendimiento de materia seca y de humedad.

<b>Papaya</b>	<b>Látex húmedo (g)</b>	<b>Látex seco (g)</b>	<b>Humedad (g)</b>	<b>Materia Seca (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>
Verde	12,100	9,1807	2,919	75,874	24,126
Pintona	7,148	5,9800	1,168	83,660	16,340
Madura	2,320	0,6487	1,672	27,959	72,041

**Fuente:** Laboratorio de Análisis de los Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Tabla A-7.** Determinación de la viscosidad de la leche con la adición de la enzima papaína extraída de la papaya verde muestra P1, observación 1.

T= 20°C								
muestra	t muestra (min)	t muestra (s)	t1	t2	t(s)	$\delta$ (kg/m <sup>3</sup> )	k	$\mu$ (mPa*s)
Agua	--	--	1,14	1,14	74	998	1,381E-05	1,020
leche 0'	0	0	2,54	2,54	174	1027,94	1,381E-05	2,470
leche 2'	2	120	--	--	185	1027,94	1,381E-05	2,627
leche 4'	4	240	--	--	192	1027,94	1,381E-05	2,726
leche 6'	6	360	--	--	200	1027,94	1,381E-05	2,839
leche 8'	8	480	--	--	209	1027,94	1,381E-05	2,967
leche 10'	10	600	--	--	216	1027,94	1,381E-05	3,067
leche 12'	12	720	--	--	223	1027,94	1,381E-05	3,166
leche 14'	14	840	--	--	227	1027,94	1,381E-05	3,223
leche 16'	16	960	--	--	231	1027,94	1,381E-05	3,280
leche 18'	18	1080	--	--	232	1027,94	1,381E-05	3,294
leche 20'	20	1200	--	--	232	1027,94	1,381E-05	3,294

**Fuente:** Laboratorio de Físico Química de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Tabla A-8.** Determinación de la viscosidad de la leche con la adición de la enzima papaína extraída de la papaya verde muestra P1, observación 2.

T= 20°C								
Muestra	t muestra (min)	t muestra (s)	t1	t2	t(s)	$\delta$ (kg/m <sup>3</sup> )	K	$\mu$ (mPa*s)
Agua	--	--	1,14	1,14	74	998	1,381E-05	1,020
leche 0'	0	0	2,54	2,54	174	1027,94	1,381E-05	2,470
leche 2'	2	120	--	--	183	1027,94	1,381E-05	2,598
leche 4'	4	240	--	--	190	1027,94	1,381E-05	2,697
leche 6'	6	360	--	--	199	1027,94	1,381E-05	2,825
leche 8'	8	480	--	--	208	1027,94	1,381E-05	2,953
leche 10'	10	600	--	--	218	1027,94	1,381E-05	3,095
leche 12'	12	720	--	--	224	1027,94	1,381E-05	3,180
leche 14'	14	840	--	--	228	1027,94	1,381E-05	3,237
leche 16'	16	960	--	--	231	1027,94	1,381E-05	3,280
leche 18'	18	1080	--	--	231	1027,94	1,381E-05	3,280
leche 20'	20	1200	--	--	232	1027,94	1,381E-05	3,294

**Fuente:** Laboratorio de Físico Química de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.



**Tabla A-9.** Promedio de la viscosidad de la muestra P1.

<b>Promedio Papaya Verde</b>						
<b>T=</b>	<b>20°C</b>					
<b>Muestra</b>	<b>t muestra (min)</b>	<b>t muestra (s)</b>	<b>t(s)</b>	<b>k</b>	<b>δ (kg/m<sup>3</sup>)</b>	<b>μ (mPa*s)</b>
<b>Agua</b>	--	--	74	1,381E-05	998	1,020
<b>leche 0'</b>	0	0	174,00	1,381E-05	1027,94	2,470
<b>leche 2'</b>	2	120	184,00	1,381E-05	1027,94	2,612
<b>leche 4'</b>	4	240	191,00	1,381E-05	1027,94	2,712
<b>leche 6'</b>	6	360	199,50	1,381E-05	1027,94	2,832
<b>leche 8'</b>	8	480	208,50	1,381E-05	1027,94	2,960
<b>leche 10'</b>	10	600	217,00	1,381E-05	1027,94	3,081
<b>leche 12'</b>	12	720	223,50	1,381E-05	1027,94	3,173
<b>leche 14'</b>	14	840	227,50	1,381E-05	1027,94	3,230
<b>leche 16'</b>	16	960	231,00	1,381E-05	1027,94	3,280
<b>leche 18'</b>	18	1080	231,50	1,381E-05	1027,94	3,287
<b>leche 20'</b>	20	1200	232,00	1,381E-05	1027,94	3,294

**Fuente:** Laboratorio de Físico Química de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Tabla A-10.** Determinación de la viscosidad de la leche con la adición de la enzima papaína extraída de la papaya pintona muestra P2, observación 1.

T= 20°C								
muestra	t muestra (min)	t muestra (s)	t1	t2	t(s)	$\delta$ (kg/m <sup>3</sup> )	K	$\mu$ (mPa*s)
Agua	--	--	1,14	1,14	74	998	1,381E-05	1,020
leche 0'	0	0	2,54	2,54	174	1027,94	1,381E-05	2,470
leche 2'	2	120	--	--	174	1027,94	1,381E-05	2,470
leche 4'	4	240	--	--	176	1027,94	1,381E-05	2,499
leche 6'	6	360	--	--	180	1027,94	1,381E-05	2,556
leche 8'	8	480	--	--	184	1027,94	1,381E-05	2,612
leche 10'	10	600	--	--	190	1027,94	1,381E-05	2,697
leche 12'	12	720	--	--	193	1027,94	1,381E-05	2,740
leche 14'	14	840	--	--	197	1027,94	1,381E-05	2,797
leche 16'	16	960	--	--	202	1027,94	1,381E-05	2,868
leche 18'	18	1080	--	--	203	1027,94	1,381E-05	2,882
leche 20'	20	1200	--	--	203	1027,94	1,381E-05	2,882

**Fuente:** Laboratorio de Físico Química de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Tabla A-11.** Determinación de la viscosidad de la leche con la adición de la enzima papaína extraída de la papaya pintona muestra P2, observación 2.

T= 20°C								
muestra	t muestra (min)	t muestra (s)	t1	t2	t(s)	$\delta$ (kg/m <sup>3</sup> )	K	$\mu$ (mPa*s)
Agua	--	--	1,14	1,14	74	998	1,381E-05	1,020
leche 0'	0	0	2,54	2,54	174	1027,94	1,381E-05	2,470
leche 2'	2	120	--	--	174	1027,94	1,381E-05	2,470
leche 4'	4	240	--	--	177	1027,94	1,381E-05	2,513
leche 6'	6	360	--	--	181	1027,94	1,381E-05	2,570
leche 8'	8	480	--	--	185	1027,94	1,381E-05	2,627
leche 10'	10	600	--	--	189	1027,94	1,381E-05	2,683
leche 12'	12	720	--	--	193	1027,94	1,381E-05	2,740
leche 14'	14	840	--	--	197	1027,94	1,381E-05	2,797
leche 16'	16	960	--	--	202	1027,94	1,381E-05	2,868
leche 18'	18	1080	--	--	202	1027,94	1,381E-05	2,868
leche 20'	20	1200	--	--	203	1027,94	1,381E-05	2,882

**Fuente:** Laboratorio de Físico Química de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Tabla A-12.** Promedio de la viscosidad de la muestra P2.

<b>Promedio Papaya Pintona</b>						
<b>T=</b>	<b>20°C</b>					
<b>muestra</b>	<b>t muestra (min)</b>	<b>t muestra (s)</b>	<b>t(s)</b>	<b>d (kg/m3)</b>	<b>k</b>	<b>u (mPa*s)</b>
<b>agua</b>	--	--	74	998	1,381E-05	1,020
<b>leche 0'</b>	0	0	174,00	1027,94	1,381E-05	2,470
<b>leche 2'</b>	2	120	174,00	1027,94	1,381E-05	2,470
<b>leche 4'</b>	4	240	176,50	1027,94	1,381E-05	2,506
<b>leche 6'</b>	6	360	180,50	1027,94	1,381E-05	2,563
<b>leche 8'</b>	8	480	184,50	1027,94	1,381E-05	2,619
<b>leche 10'</b>	10	600	189,50	1027,94	1,381E-05	2,690
<b>leche 12'</b>	12	720	193,00	1027,94	1,381E-05	2,740
<b>leche 14'</b>	14	840	197,00	1027,94	1,381E-05	2,797
<b>leche 16'</b>	16	960	202,00	1027,94	1,381E-05	2,868
<b>leche 18'</b>	18	1080	202,50	1027,94	1,381E-05	2,875
<b>leche 20'</b>	20	1200	203,00	1027,94	1,381E-05	2,882

**Fuente:** Laboratorio de Físico Química de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Tabla A-13.** Determinación de la viscosidad de la leche con la adición de la enzima papaína extraída de la papaya madura muestra P3, observación 1.

T= 20°C								
muestra	t muestra (min)	t muestra (s)	t1	t2	t(s)	$\delta$ (kg/m <sup>3</sup> )	k	$\mu$ (mPa*s)
Agua	--	--	1,14	1,14	74	998	1,381E-05	1,020
leche 0'	0	0	2,54	2,54	174	1027,94	1,381E-05	2,470
leche 2'	2	120	--	--	176	1027,94	1,381E-05	2,499
leche 4'	4	240	--	--	178	1027,94	1,381E-05	2,527
leche 6'	6	360	--	--	181	1027,94	1,381E-05	2,570
leche 8'	8	480	--	--	187	1027,94	1,381E-05	2,655
leche 10'	10	600	--	--	193	1027,94	1,381E-05	2,740
leche 12'	12	720	--	--	197	1027,94	1,381E-05	2,797
leche 14'	14	840	--	--	200	1027,94	1,381E-05	2,839
leche 16'	16	960	--	--	201	1027,94	1,381E-05	2,854
leche 18'	18	1080	--	--	201	1027,94	1,381E-05	2,854

Fuente: Laboratorio de Físico Química de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Elaborado por: Cristina Villavicencio.

**Tabla A-14.** Determinación de la viscosidad de la leche con la adición de la enzima papaína extraída de la papaya madura muestra P3, observación 2.

T= 20°C								
muestra	t muestra (min)	t muestra (s)	t1	t2	t(s)	$\delta$ (kg/m <sup>3</sup> )	k	$\mu$ (mPa*s)
agua	--	--	1,14	1,14	74	998	1,381E-05	1,020
leche 0'	0	0	2,54	2,54	174	1027,94	1,381E-05	2,470
leche 2'	2	120	--	--	178	1027,94	1,381E-05	2,527
leche 4'	4	240	--	--	180	1027,94	1,381E-05	2,556
leche 6'	6	360	--	--	184	1027,94	1,381E-05	2,612
leche 8'	8	480	--	--	189	1027,94	1,381E-05	2,683
leche 10'	10	600	--	--	194	1027,94	1,381E-05	2,754
leche 12'	12	720	--	--	199	1027,94	1,381E-05	2,825
leche 14'	14	840	--	--	202	1027,94	1,381E-05	2,868
leche 16'	16	960	--	--	204	1027,94	1,381E-05	2,896
leche 18'	18	1080	--	--	205	1027,94	1,381E-05	2,910

**Fuente:** Laboratorio de Físico Química de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**Tabla A-15.** Promedio de la viscosidad de la muestra P3.

<b>Promedio Papaya Madura</b>						
<b>T=</b>	<b>20°C</b>					
<b>muestra</b>	<b>t muestra (min)</b>	<b>t muestra (s)</b>	<b>t(s)</b>	<b><math>\delta</math> (kg/m<sup>3</sup>)</b>	<b>k</b>	<b><math>\mu</math> (mPa*s)</b>
<b>agua</b>	--	--	74	998	1,381E-05	1,020
<b>leche 0'</b>	0	0	174,00	1058,7782	1,381E-05	2,544
<b>leche 2'</b>	2	120	177,00	1058,7782	1,381E-05	2,588
<b>leche 4'</b>	4	240	179,00	1058,7782	1,381E-05	2,618
<b>leche 6'</b>	6	360	182,50	1058,7782	1,381E-05	2,669
<b>leche 8'</b>	8	480	188,00	1058,7782	1,381E-05	2,749
<b>leche 10'</b>	10	600	193,50	1058,7782	1,381E-05	2,830
<b>leche 12'</b>	12	720	198,00	1058,7782	1,381E-05	2,895
<b>leche 14'</b>	14	840	201,00	1058,7782	1,381E-05	2,939
<b>leche 16'</b>	16	960	202,50	1058,7782	1,381E-05	2,961
<b>leche 18'</b>	18	1080	203,00	1058,7782	1,381E-05	2,969

**Fuente:** Laboratorio de Físico Química de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Elaborado por:** Cristina Villavicencio.

**ANEXO B**

**ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**



**Tabla B-1.** Valores de la intersección en el eje y en la regresión exponencial que se ingresa en el programa estadístico InfoStat.

<b>Grados de Maduración</b>	<b>Observaciones</b>	<b>Respuesta</b>
P1	1	2,576490
P1	2	2,562420
P2	1	2,439088
P2	2	2,446424
P3	1	2,459665
P3	2	2,475100

**Tabla B-2.** Análisis de Varianza para los valores de la intersección.

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>CV</b>
Respuesta	6	0,99	0,43

**Tabla B-3.** Cuadro de análisis de varianza para los valores de la intersección.

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Grados de Maduración</b>	0,02	2	0,01	77,70	0,0127
<b>Observaciones</b>	1,2E-05	1	1,2E-05	0,11	0,7755
<b>Error</b>	2,3E-04	2	1,2E-04		
<b>Total</b>	0,02	5			

**Tabla B-4.** Prueba comparativa de Tukey al 5% para los grados de maduración de la papaya.

<b>Grados de Maduración</b>	<b>Medias</b>	<b>N</b>	<b>E.E.</b>	
<b>P1</b>	2,57	2	0,01	A
<b>P2</b>	2,47	2	0,01	B
<b>P3</b>	2,44	2	0,01	B

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**Tabla B-5.** Valores del exponente de la regresión exponencial a ingresar al programa estadístico InfoStat.

<b>Grados de Maduración</b>	<b>Observaciones</b>	<b>Respuesta</b>
P1	1	0,000244
P1	2	0,000250
P2	1	0,000154
P2	2	0,000150
P3	1	0,000156
P3	2	0,000165

**Tabla B-6.** Análisis de Varianza para los valores del exponente.

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>CV</b>
Respuesta	6	1	2,58

**Tabla B-7.** Cuadro de análisis de varianza para los valores del exponente.

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Grados de Maduración</b>	1,1E-08	2	5,5E-09	238,55	0,0042
<b>Observaciones</b>	2,0E-11	1	2,0E-11	0,87	0,4493
<b>Error</b>	4,6E-11	2	2,3E-11		
<b>Total</b>	1,1E-08	5			

**Tabla B-8.** Prueba comparativa de Tukey al 5% para los grados de maduración de la papaya.

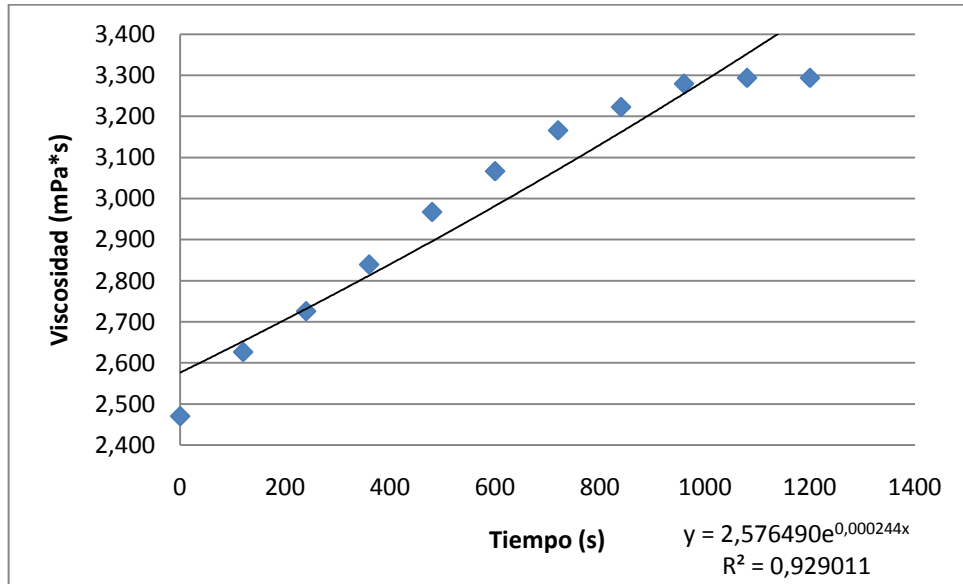
<b>Grados de Maduración</b>	<b>Medias</b>	<b>N</b>	<b>E.E.</b>	
<b>P1</b>	1,5E-04	2	3,4E-06	A
<b>P3</b>	1,6E-04	2	3,4E-06	B
<b>P2</b>	2,5E-04	2	3,4E-06	B

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

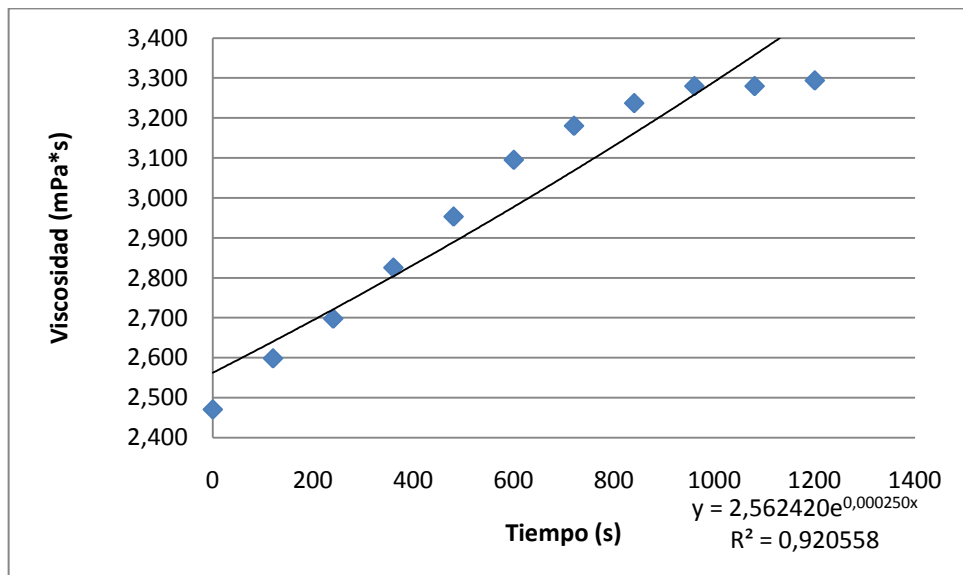
# **ANEXO C**

## **GRÁFICOS DE LOS DATOS EXPERIMENTALES**

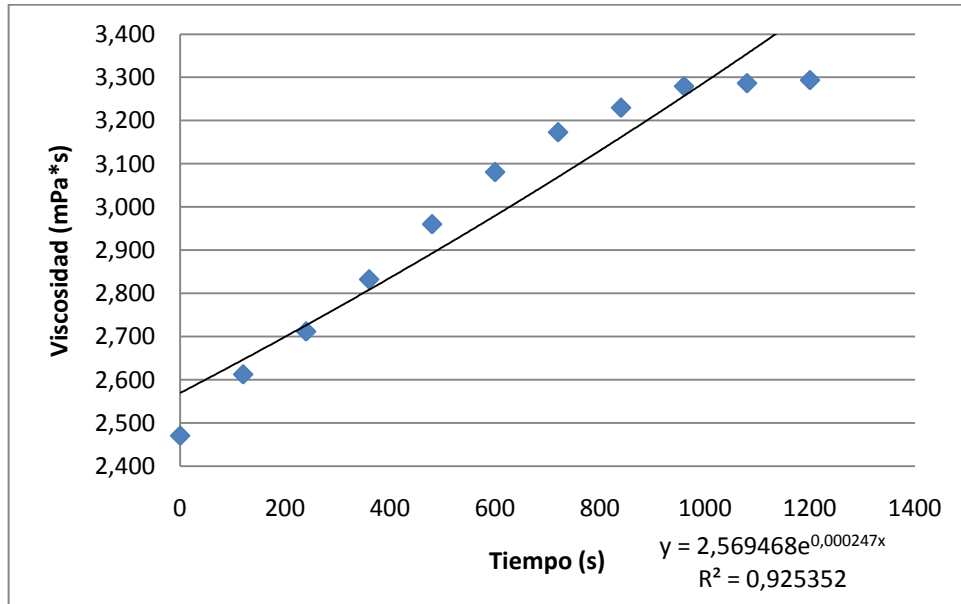
**Gráfico C-1.** Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para la muestra P1 (papaya verde) observación 1.



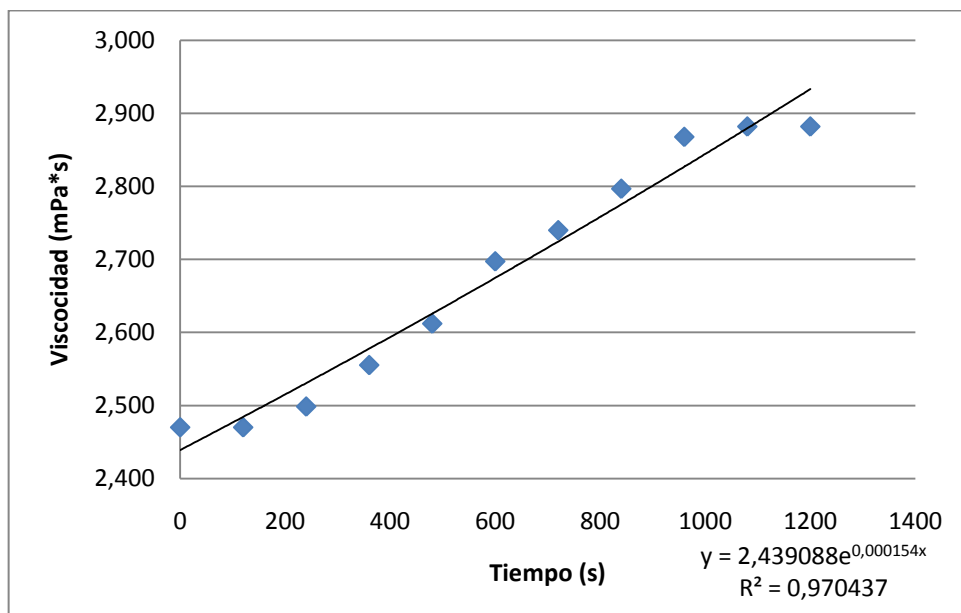
**Gráfico C-2.** Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para la muestra P1 (papaya verde) observación 2.



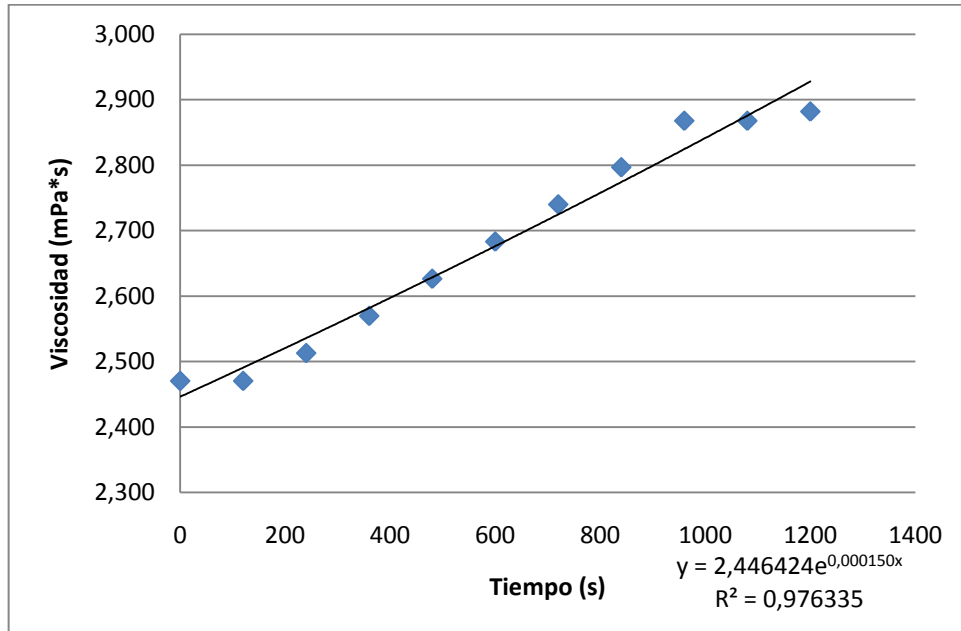
**Gráfico C-3.** Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para el promedio de la muestra P1 (papaya verde).



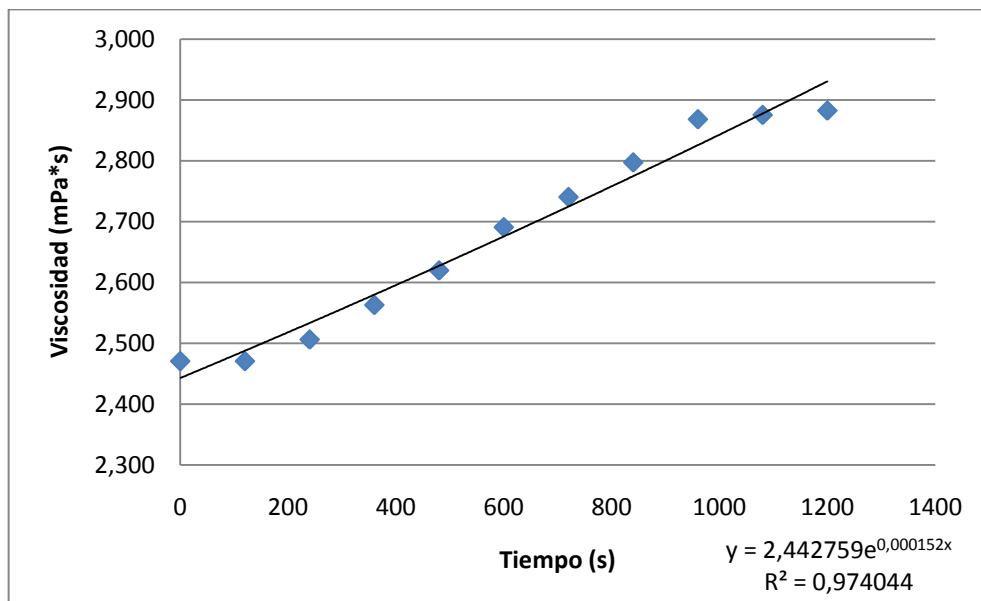
**Gráfico C-4.** Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para la muestra P2 (papaya pintona) observación 1.



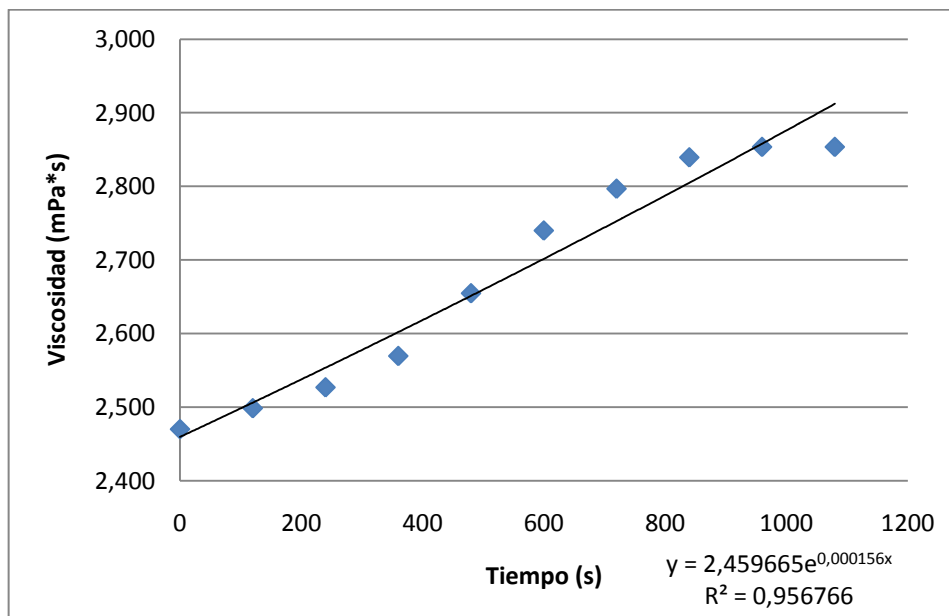
**Gráfico C-5.** Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para la muestra P2 (papaya pintona) observación 2.



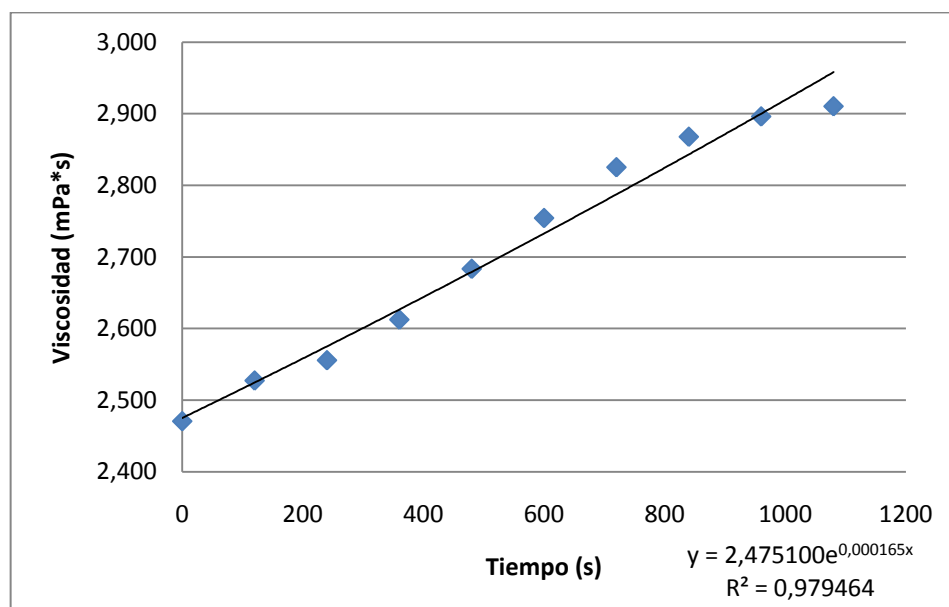
**Gráfico C-6.** Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para el promedio de la muestra P2 (papaya pintona).



**Gráfico C-7.** Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para la muestra P3 (papaya madura) observación 1.

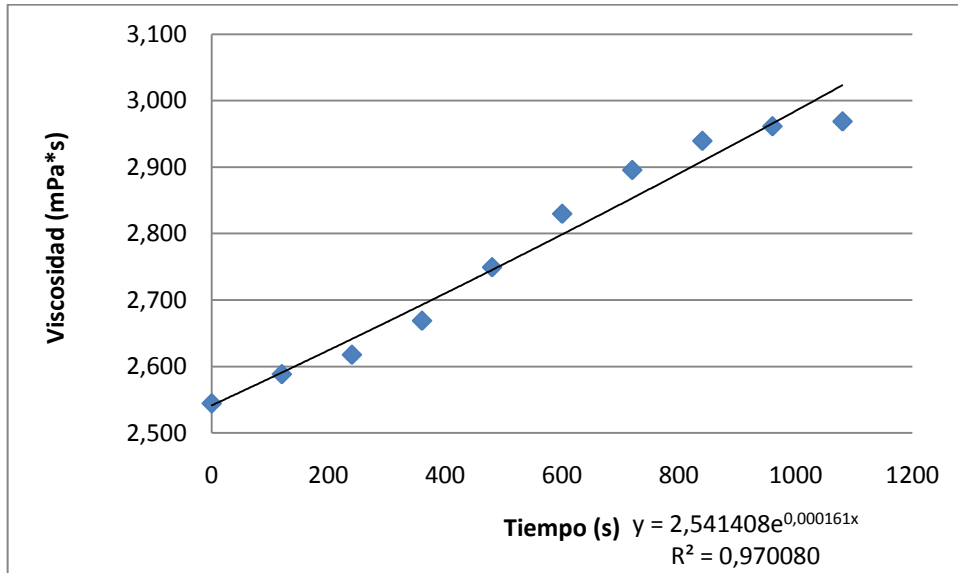


**Gráfico C-8.** Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para la muestra P3 (papaya madura) observación 2.

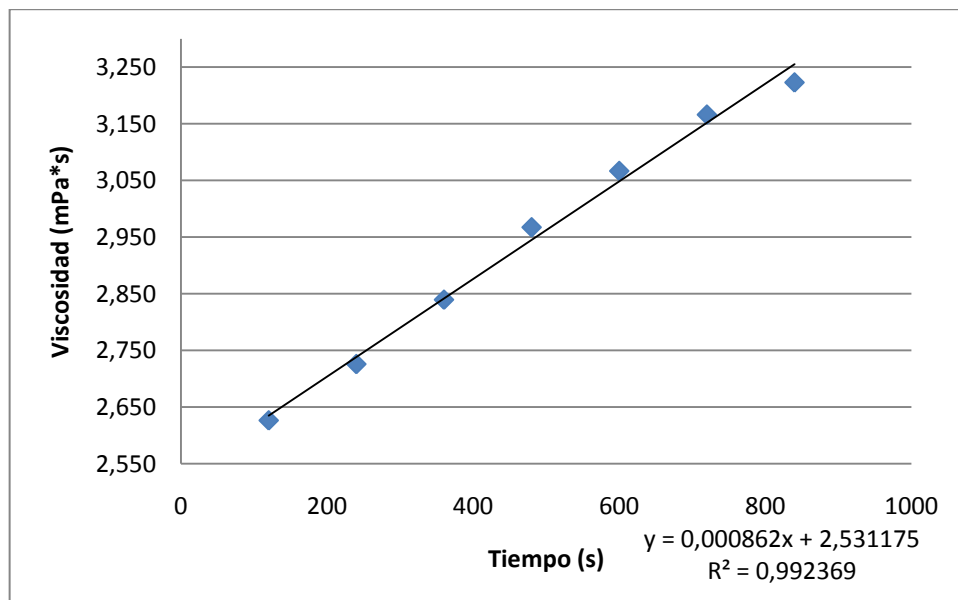




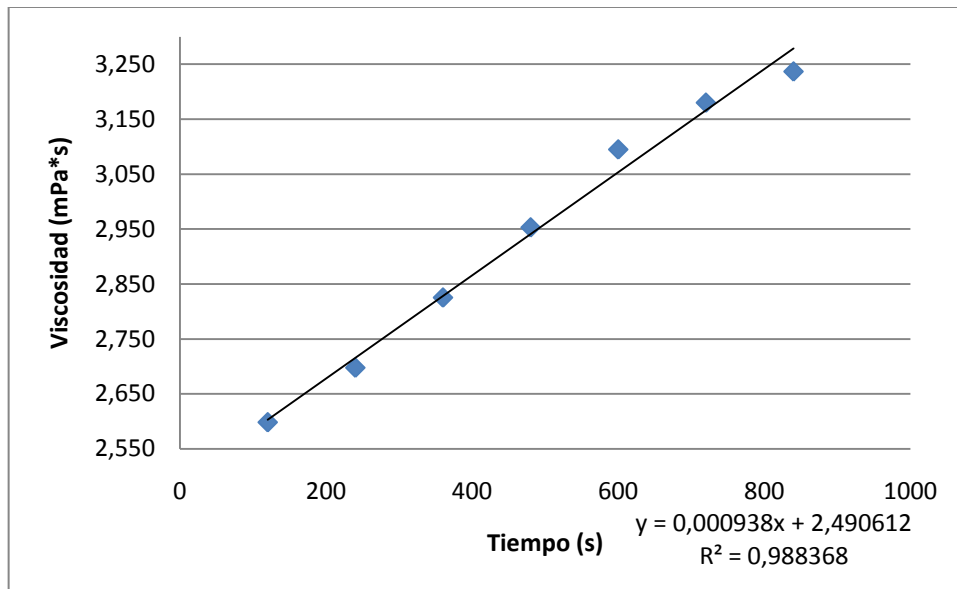
**Gráfico C-9.** Tiempo (s) vs. Viscosidad (mPa\*s), para el promedio de la muestra P3 (papaya madura).



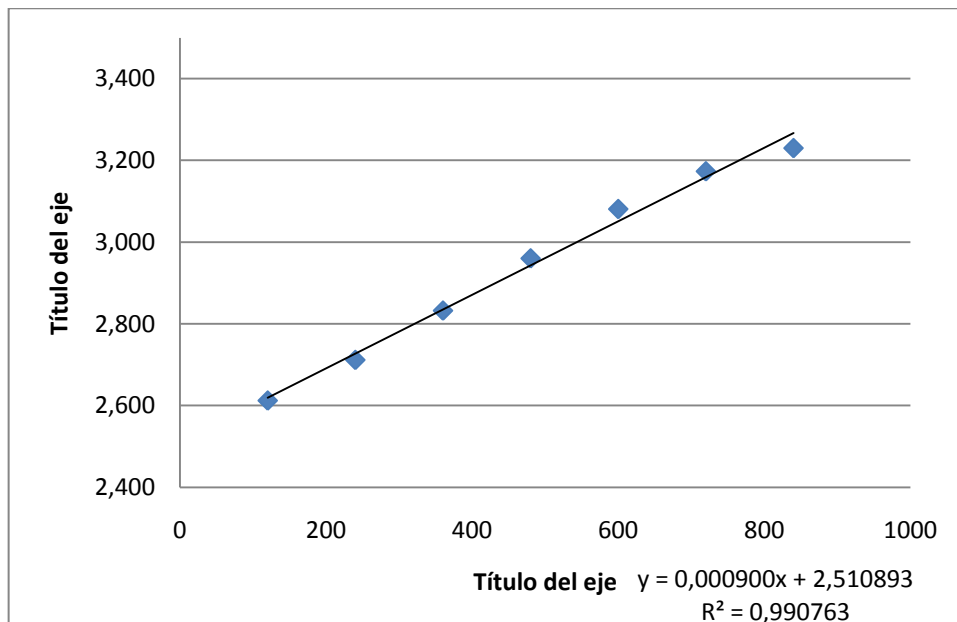
**Gráfico C-10.** Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-1 para papaya verde.



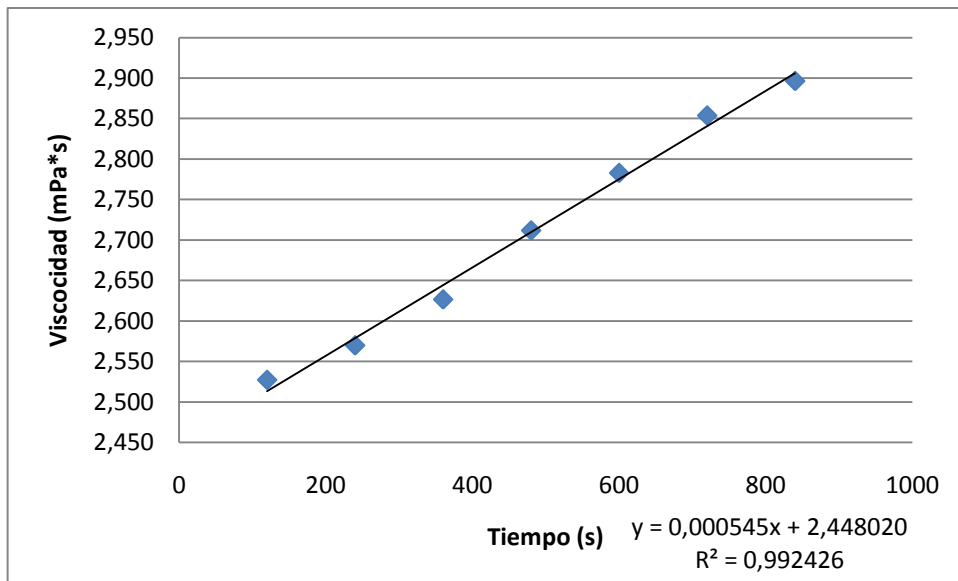
**Gráfico C-11.** Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-2 para papaya verde.



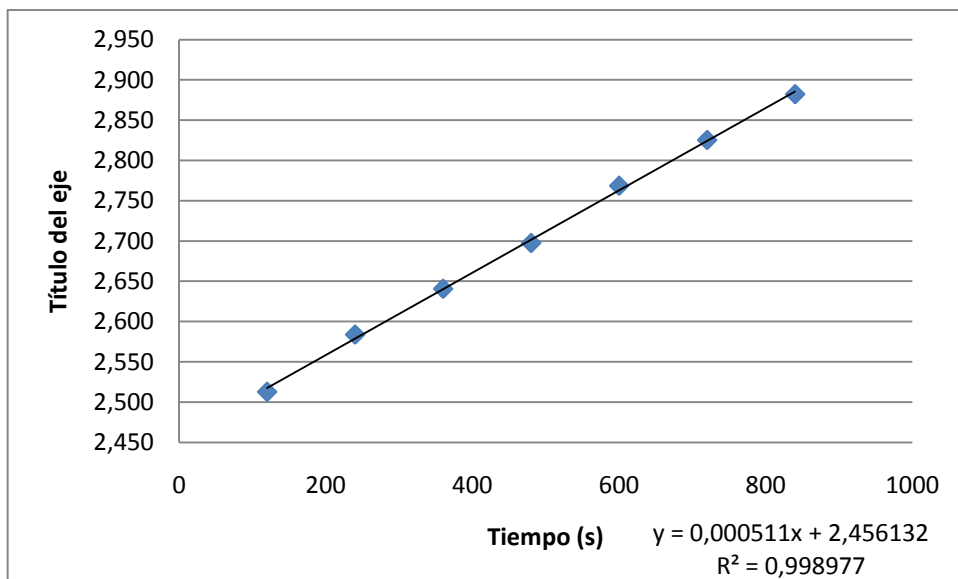
**Gráfico C-12.** Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-3 para papaya verde.



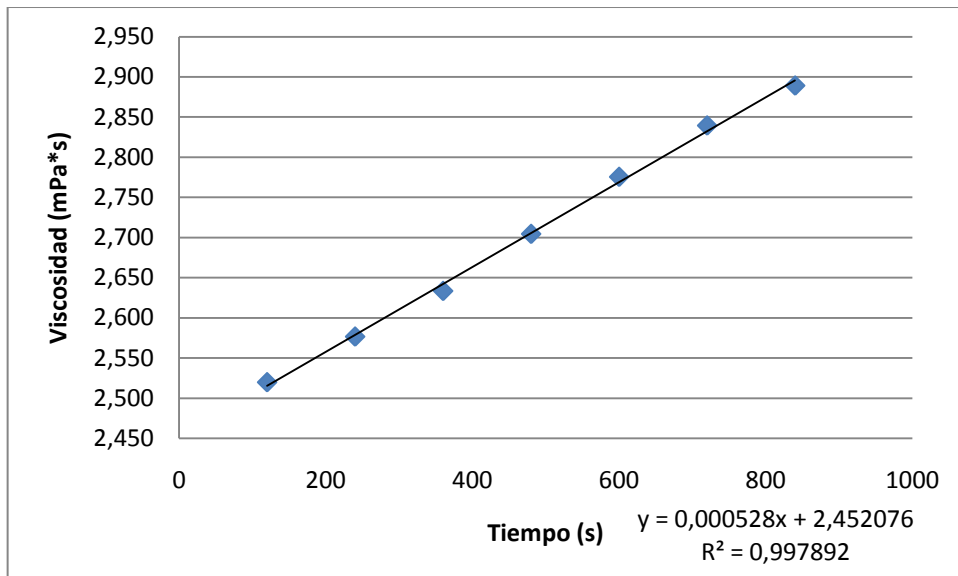
**Gráfico C-13.** Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-4 para papaya pintona.



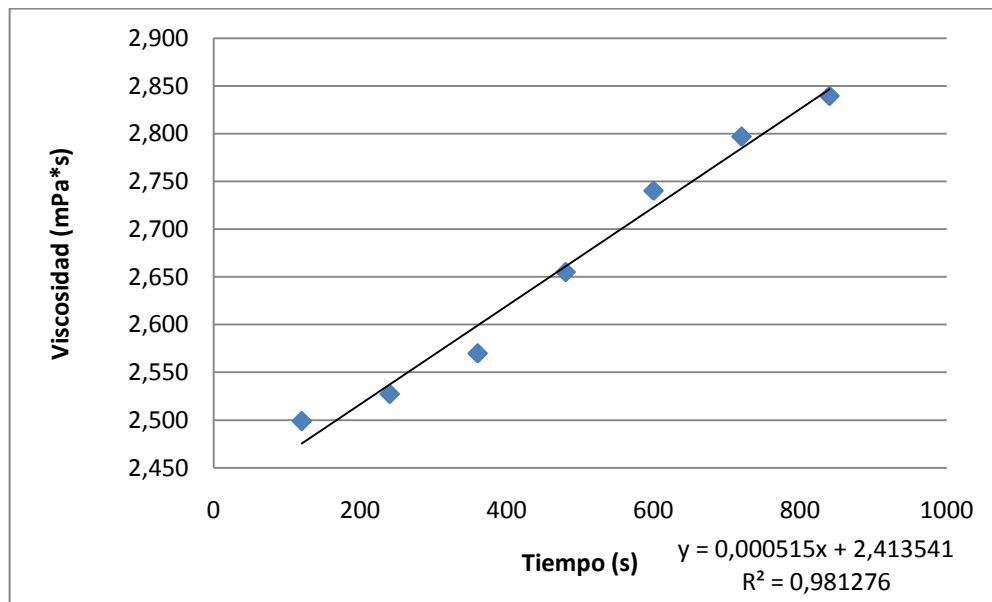
**Gráfico C-14.** Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-5 para papaya pintona.



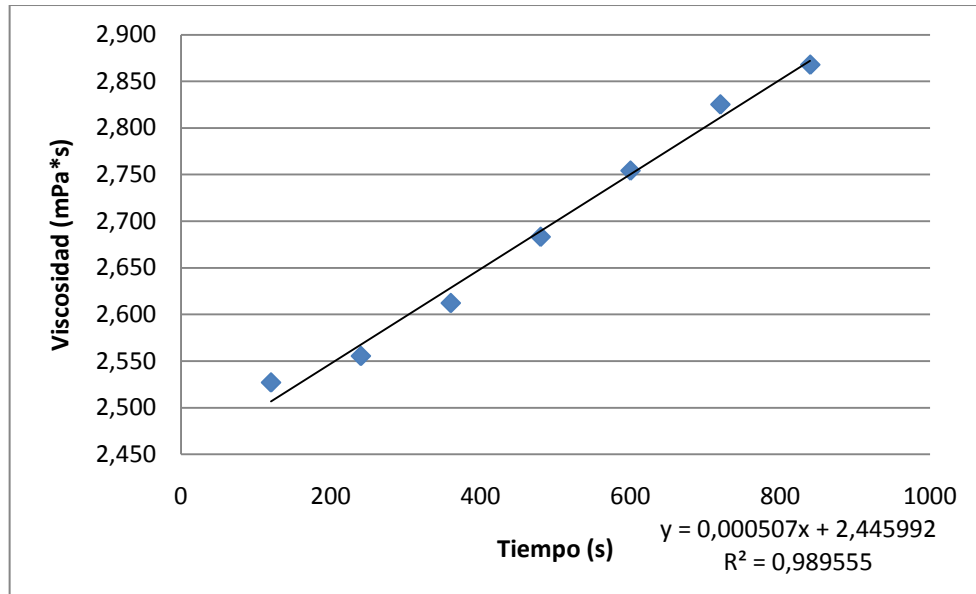
**Gráfico C-15.** Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-6 para papaya pintona.



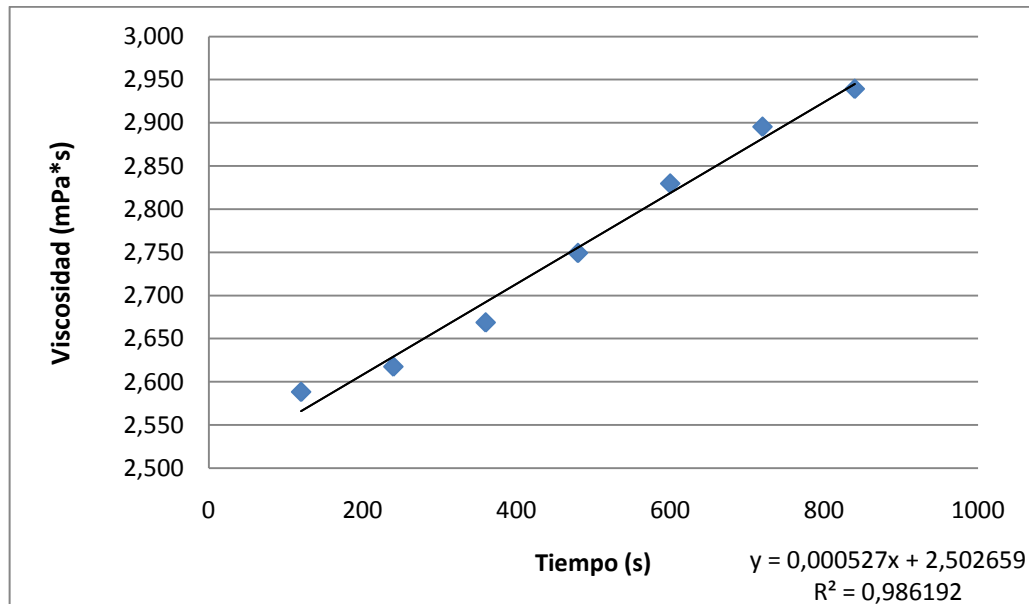
**Gráfico C-16.** Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-7 para papaya madura.



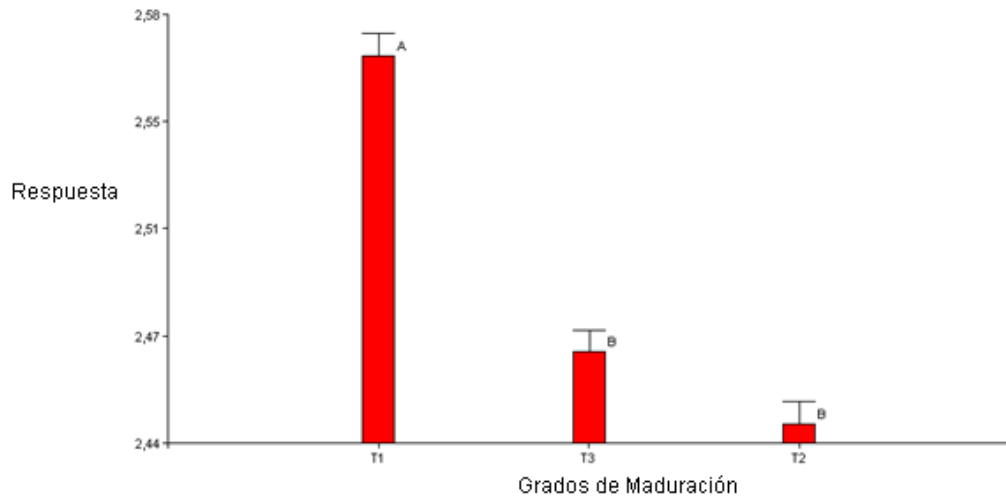
**Gráfico C-17.** Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-8 para papaya madura.



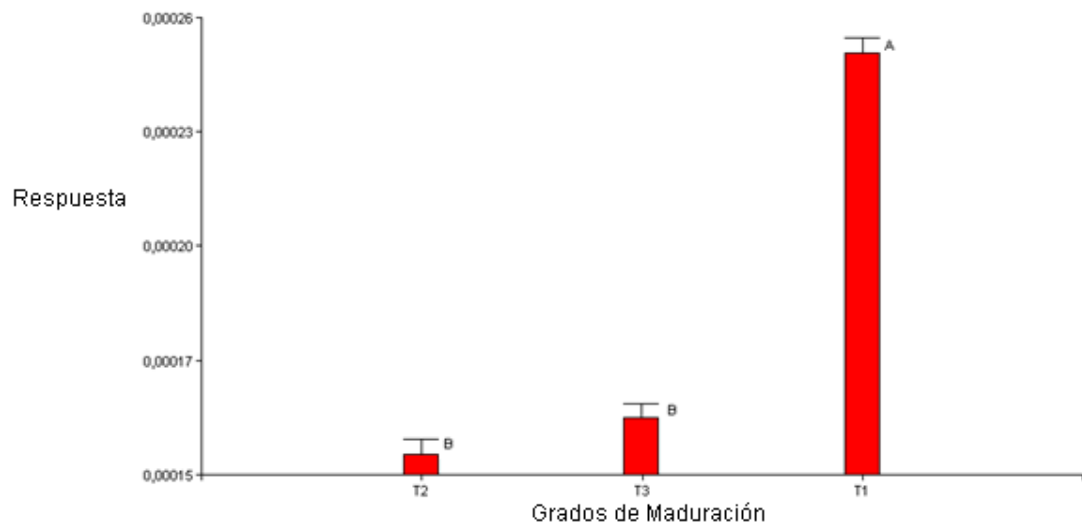
**Gráfico C-18.** Regresión lineal de la parte exponencial del Anexo C, Gráfico C-9 para papaya madura.



**Gráfico C-19.** Gráfico de barras del análisis estadístico de la prueba de Tukey al 5% del Anexo B- 4.



**Gráfico C-20.** Gráfico de barras del análisis estadístico de la prueba de Tukey al 5% del Anexo B- 8.



# **ANEXO D**

## **MÉTODOS UTILIZADOS PARA LOS ANÁLISIS**

## ANEXO D – 1.

### EXTRACCIÓN DE LA ENZIMA

#### **Fundamento:**

El látex que se extrae de la superficie de las papayas se encuentra la enzima papaína, que tiene la capacidad de digerir las proteínas de los alimentos.

La papaína, se caracteriza por ser un polvo amorfo, granuloso de color blanco, grisáceo o parduzco; ligeramente higroscópico e insoluble en agua.

#### **Materiales y equipos:**

Bisturí

Cápsulas de porcelana

Alcohol

Balanza analítica

Papel toalla

Agua destilada

#### **Procedimiento:**

- Limpiar y desinfectar el área de trabajo y los utensilios a utilizar para el proceso de extracción del látex.
- Lavar las frutas las papayas que van a ser utilizadas para el proceso, secarlas bien con papel toalla para evitar contaminaciones.



- El fruto puede recibir varias incisiones repetidamente, hasta que la aparición del látex comience a disminuir.
- Todas las incisiones deben ser hechas verticalmente y no más de 6 sangrías deben hacerse a un fruto al mismo tiempo, de 1 a 2 mm de espesor cada incisión.

**Referencia:**

Barahona, J. (1983). Proyecto de Producción de fruta y látex de papaya.

## ANEXO D – 3

### DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD

#### **Fundamento:**

En los líquidos, el pequeño rozamiento existente entre capas adyacentes se denomina viscosidad. Es su pequeña magnitud la que le confiere al fluido sus peculiares características.

Se utiliza el método de coagulación de leche (Balls and Hoover) con sus adecuaciones.

Método de Balls y Hoover es conocido como el método de coagulación de la leche, es, sin duda, uno de los métodos más expeditos para determinar actividad enzimática de una proteínasa. Se toma como índice de actividad proteolítica, el tiempo necesario para que una cantidad conocida de enzima coagule un determinado volumen de solución de leche. La actividad se expresa en términos de unidades de leche coagulada por g de preparado enzimático. La unidad de leche coagulada se la define como la cantidad en peso de un preparado enzimático necesario para coagular 5 ml de solución de leche estándar por minuto, cuando la temperatura es de 40°C y el pH 6. La principal desventaja de este método radica en el hecho de no medir la proteólisis total, es decir, la hidrólisis de un sustrato de proteína, pero, por el contrario, mide la actividad de la coagulación de la leche. Afortunadamente, sin embargo, la coagulación de la leche parece ser una propiedad característica de los componentes proteolíticos de este grupo de enzimas y puede ser usada con seguridad en la medición proteolítica. (Balls y Hoover).

#### **Materiales y equipos:**

- Viscosímetro Cannon
- Agua destilada
- Leche en polvo

- Ácido acético
- Enzima extraída
- Agitador magnético
- Plancha de agitación
- Cronómetro
- Termómetro
- Vasos de precipitación
- Probetas
- Pipetas
- Pera

**Procedimiento:**

- Pesar 15,5 gramos de leche en polvo.
- Colocar 108 mililitros de agua en un vaso de precipitación.
- Diluir la leche en el agua y calentarla a 30°C en un baño de agua y mantener esta temperatura, en una cocineta eléctrica.
- Pesar 0,1 g de látex seco gramos y añadir a 100 ml de ácido acético.
- A una cantidad determinada de leche (108 ml), agregar 10ml la solución de látex seco diluido en ácido acético.
- Mezclar el contenido a fondo y controlar el tiempo
- Medir la viscosidad con el viscosímetro de Cannon

**Referencia:**

- Aguirre, E. Extracción y Estudio Comparativo de las Enzimas Proteolíticas del Fruto Toronche (*Carica-Stipulata*) y de la Papaya (*Carica-Papaya*) y su Aplicación en la Industria Alimenticia.
- Balls y Hoover, Determinación de Actividad de Enzimas Proteolíticas. Biblioteca Digital de la Universidad de Chile. Disponible en:  
[http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias\\_quimicas\\_y\\_farmaceuticas/schmidth02/parte08/08.html](http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/schmidth02/parte08/08.html)

**ANEXO E**

**FOTOGRAFÍAS**



**Fotografía E-1.** Materia prima: papayas vedes.



**Fotografía E-2.** Materia prima: papayas pintonas.



**Fotografía E-3.** Materia prima: papaya madura.



**Fotografía E-4.** Lavado de la materia prima.



**Fotografía E-5.** Desinfección de la materia prima.



**Fotografía E-6.** Extracción del látex.





**Fotografía E-7.** Extracción de látex de las papayas.

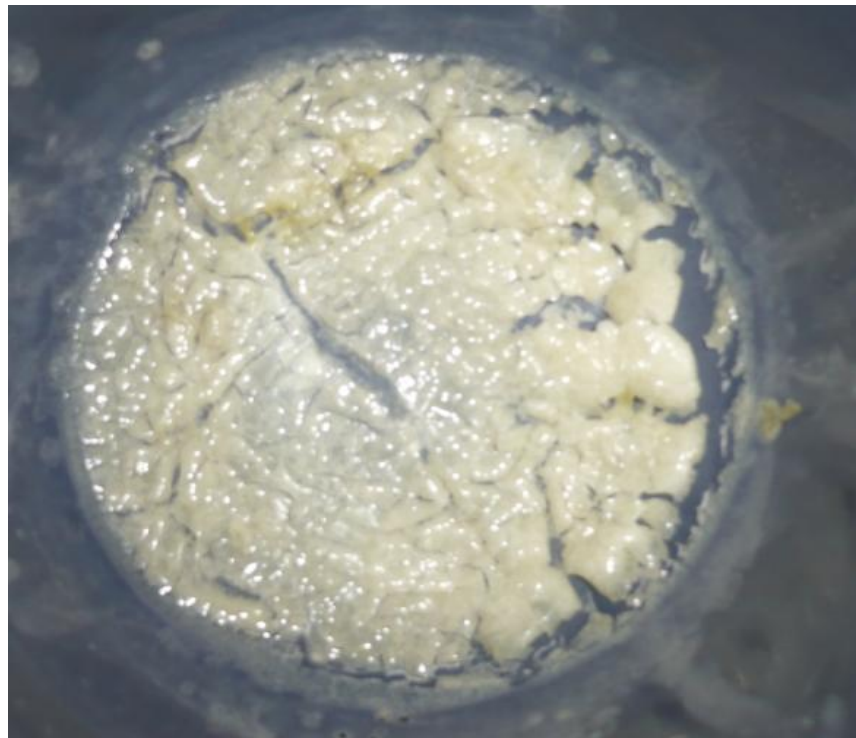


**Fotografía E-8.** Secado de látex a 40°C.





**Fotografía E-9.** Látex seco, papaya verde primera extracción.



**Fotografía E-10.** Látex seco, papaya verde segunda extracción.



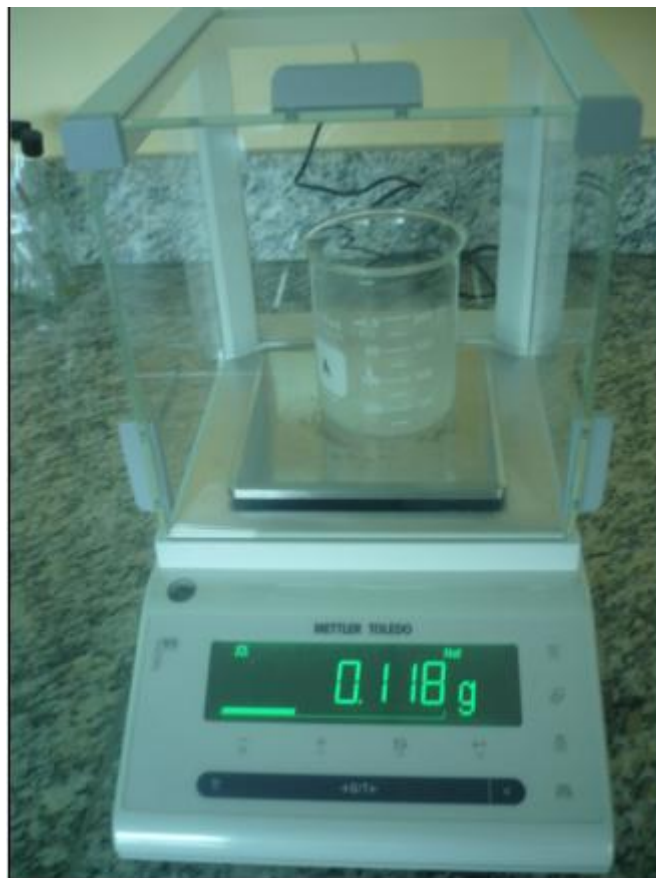
**Fotografía E-11.** Látex seco molido convertido en polvo.



**Fotografía E-12.** Conservación de la enzima.

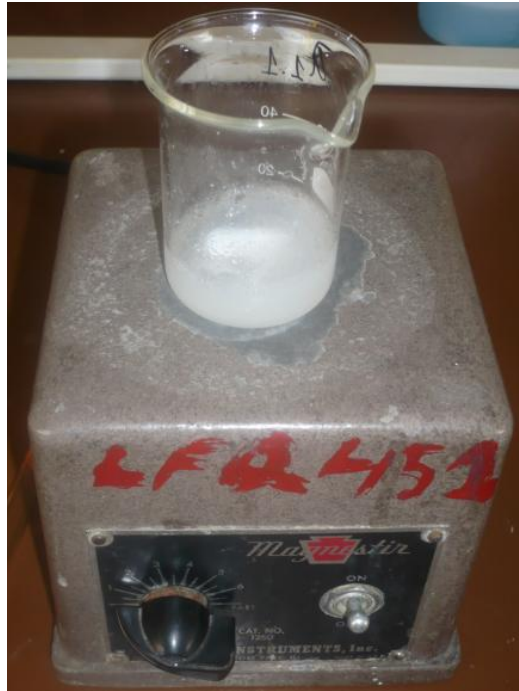


**Fotografía E-13.** Pesado de la leche en polvo.



**Fotografía E-14.** Pesado de la enzima.

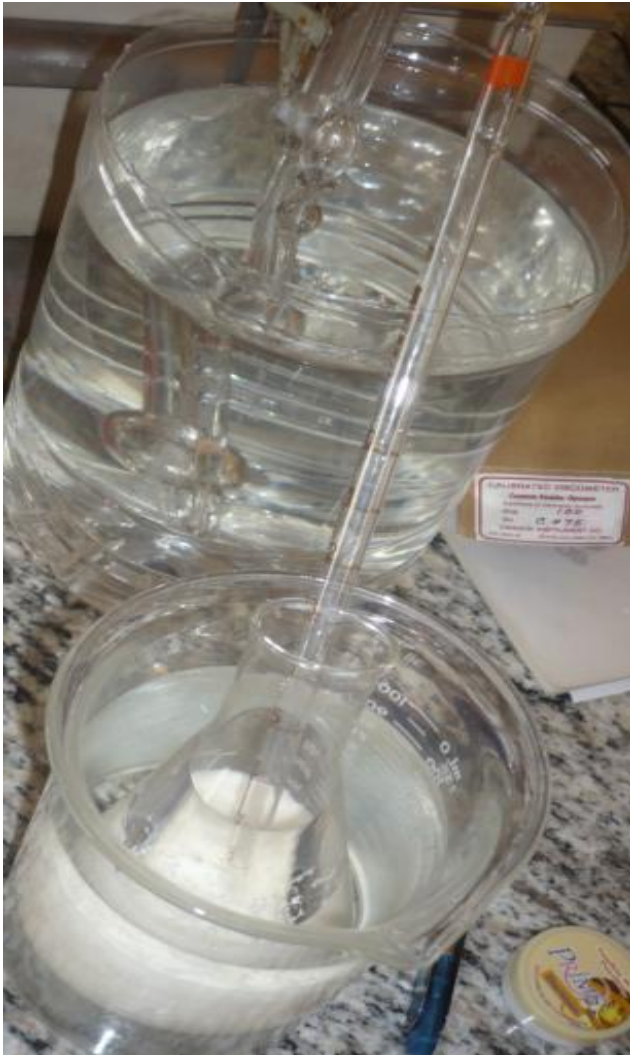




**Fotografía E-15.** Disolución de la enzima en ácido acético.



**Fotografía E-16.** Disolución de la leche en polvo en agua a 30°C.



**Fotografía E-17.**  
Determinación de la  
viscosidad.



## ANEXO D- 2

### CONCENTRACIÓN DE LA ENZIMA

#### **Fundamento:**

El secado es una operación unitaria física regida por la transferencia simultánea. Su objetivo es reducir el contenido de agua. En algunas ocasiones es el punto final para conseguir un producto listo para el envasado. El término secado indica la disminución de la humedad del producto a secarse.

#### **Materiales y equipos:**

- Estufa
- Cápsulas de porcelana
- Balanza analítica
- Pistilo
- Recipientes
- Papel aluminio
- Refrigeradora

#### **Procedimiento:**

- Prender la estufa a una temperatura de 40 °C.
- Pesar la cápsula de porcelana.
- Una vez el látex extraído en la cápsula de porcelana, colocarlo en la estufa por aproximadamente 3 a 4 horas y media dependiendo de la cantidad de látex.
- Chequear cada determinado tiempo el látex dentro de la estufa.

- En el momento en el que el látex no se pegue y este en forma granulada, esto quiere decir que el proceso de secado ha finalizado.
- Pesar la cápsula de porcelana con el látex ya seco.
- Con un pistilo moler el látex hasta que los gránulos secos se pulvericen.
- Colocar el polvo en un recipiente de vidrio oscuro bien sellado y cubrirlo con papel aluminio.
- Colocar el recipiente en la refrigeradora, para un mejor mantenimiento de la enzima.

**Referencia:**

Aguirre, E. Extracción y Estudio Comparativo de las Enzimas Proteolíticas del Fruto Toronche (*Carica-Stipulata*) y de la Papaya (*Carica-Papaya*) y su Aplicación en la Industria Alimenticia.