



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE POSGRADO Y FORMACIÓN CONTINUA

INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGÍSTER EN AGROINDUSTRIA

MODALIDAD:

INFORME DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**INFLUENCIA DEL TIEMPO DE INMERSIÓN EN SOLUCIONES DE
ENZIMAS PROTEOLÍCAS DE PITAHAYA (*Hylocereus undatus*)
SOBRE LA TEXTURA DE LA CARNE BOVINA**

AUTOR:

FREDDY MIGUEL ZAMBRANO FLORES

TUTOR:

ING. PABLO ISRAEL GAVILANES LÓPEZ, M. Sc

CALCETA, NOVIEMBRE 2019

DERECHOS DE AUTORÍA

FREDDY MIGUEL ZAMBRANO FLORES declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

FREDDY MIGUEL ZAMBRANO FLORES

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

ING. PABLO GAVILANES LÓPEZ, M. Sc., certifica haber tutelado el trabajo de titulación **INFLUENCIA DEL TIEMPO DE INMERSIÓN EN SOLUCIONES DE ENZIMAS PROTEOLÍCAS DE PITAHAYA (*Hylocereus undatus*) SOBRE LA TEXTURA DE LA CARNE BOVINA**, que ha sido desarrollado por **FREDDY MIGUEL ZAMBRANO FLORES**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. PABLO GAVILANES LÓPEZ, M. Sc

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **INFLUENCIA DEL TIEMPO DE INMERSIÓN EN SOLUCIONES DE ENZIMAS PROTEOLÍCAS DE PITAHAYA (*Hylocereus undatus*) SOBRE LA TEXTURA DE LA CARNE BOVINA**, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por **FREDDY MIGUEL ZAMBRANO FLORES**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustria de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. SOFÍA VELASQUEZ CEDEÑO, M.Sc

MIEMBRO

ING. EDUARDO VALAREZO VÁLDEZ, PhD

MIEMBRO

ING. ELY SACÓN VERA, PhD

PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A Dios fuente de vida por la oportunidad que me da para continuar; a mí familia fortaleza y motor de superación, a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día, a las personas e instituciones que recibí apoyo en el trascurso de la maestría y el desarrollo de la tesis.

FREDDY MIGUEL ZAMBRANO FLORES

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA.....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
CONTENIDO GENERAL.....	vi
CONTENIDO DE TABLA	vii
CONTENIDO DE FIGURAS.....	vii
CONTENIDO DE ANEXOS.....	vii
RESUMEN.....	viii
PALABRAS CLAVE.....	viii
ABSTRACT.....	ix
KEYWORDS.....	ix
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	1
1.1. Planteamiento y Formulación del Problema.....	1
1.2. Justificación.....	2
1.3. Objetivos.....	3
1.3.1. Objetivo General.....	3
1.3.2. Objetivos Específicos.....	3
1.4. Hipótesis.....	3
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Carne bovina.....	4
2.1.1. Dureza de la carne.....	4
2.1.2. Calidad de la materia prima en la terneza.....	5
2.2. Enzimas proteolíticas.....	6
2.2.1 Clasificación de las enzimas.....	7
2.2.2. Aplicaciones de enzimas proteolíticas.....	7
2.2.3. Aplicación de enzimas.....	8
2.3. Extracción y purificación de proteínas.....	9
2.3.1. Métodos para extracción de enzimas.....	9
2.3.2 Métodos de purificación de proteínas.....	12
2.3.3. Métodos para determinar la actividad proteolítica.....	16
2.4. Materiales experimentales a utilizar en la investigación.....	17
2.4.1. Pitahaya roja con pulpa blanca.....	17
2.4.2. Carne bovina.....	18
2.4.3. Texturómetro.....	19
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLOGICO.....	20
3.1. Ubicación de la investigación.....	20
3.2. Duración de la investigación.....	20
3.3. Tipo de investigación.....	20
3.4. Factores en estudio.....	20
3.4.1. Niveles.....	20
3.4.2. Tratamientos.....	21
3.5. Diseño experimental.....	21
3.6 Unidad experimental.....	21
3.7 Manejo del experimento.....	22
3.7.1. Técnica para la extracción de enzimas proteolíticas.	22
3.7.2 Caracterización de la enzima proteolítica.....	25
3.7.3 Proceso para la inmersión en solución de enzimas de la cáscara de la pitahaya en carne.....	25

3.8 Variables respuestas.....	25
3.9. Estimación económica.....	26
3.10 Análisis estadístico.....	26
3.11 Métodos de análisis.....	27
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
4.1. Caracterización de la pitahaya.....	31
4.1.1. Factores fisicoquímicos.....	31
4.1.2 Factores organolépticos sobre concentrado con enzimas proteolíticas.....	32
4.2. Análisis del perfil de textura en carne bovina.....	33
4.3. Estimación económica.....	35
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	38
5.1. Conclusiones.....	38
5.2. Recomendaciones.....	38
BIBLIOGRAFÍA.....	39
ANEXOS.....	47

CONTENIDO DE TABLA

1 Tratamiento en estudio con su respectiva combinación.....	21
2 Factores fisicoquímicos de la pitahaya.....	31
3 Resultados del perfil de textura de la carne bovina	33
4 Costos variables de los tratamientos.....	36

CONTENIDO DE FIGURAS

1. Hidrólisis de materiales lignocelulósicos mediante el uso de cocteles enzimáticos.....	11
2. Diagrama de proceso de extracción de enzimas proteolíticas a partir de la cáscara de la pitahaya roja.....	24
3. Diagrama de proceso sobre caracterización enzimas proteolíticas, inmersión y evaluación de la carne bovina tratada con enzimas proteolíticas de la cáscara pitahaya roja.....	26
4. Concentrado con enzimas proteolíticas de pitahaya.....	33
5. Proceso de extracción enzimas proteolíticas cáscara pitahaya.....	35

CONTENIDO DE ANEXOS

1 Resultados estadísticos.....	48
2 Proceso de obtención enzimas proteolíticas.....	67
3 Manejo experimental del experimento con el corte de la carne bovina.....	69
4 Análisis fisicoquímicos.....	70

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la aplicación de soluciones enzimáticas de la cáscara de la pitahaya roja para mejorar la textura de la carne bovina en corte de alta ternera. El concentrado de enzimas proteolíticas se lo extrajo, purificó parcialmente y se secó para hacer la caracterización fisicoquímica en pH, humedad, proteína y actividad enzimática. Las enzimas obtenidas se aplicaron a diferentes concentraciones en agua 14; 28 y 42 g/L que corresponde al factor A, y el tiempo por inmersión de la carne por 1 y 2 horas que pertenecen al factor B, dando como resultado seis tratamientos. Para el ensayo se empleó el Diseño Completamente al Azar más un testigo en tres réplicas. La unidad experimental fue el corte sobrecostillar en trozos uniformes de 20 a 25 g. A la carne se le determinó el Perfil de Textura Alimentos (TPA) y se realizó una estimación económica de todos los tratamientos. De acuerdo con los resultados el concentrado con enzimas proteolíticas presentó 7,78 de pH; 11,98% de humedad; 7,81% de proteína y actividad enzimática de 1,386 mol/m³s. Las variables TPA en el corte de carne lograron establecer que el mejor tratamiento fue el 42 g concentración enzimática y dos horas de inmersión, éste con un costo estimado de \$13,37.

PALABRAS CLAVE: *Hylocereus triangularis*, proteasas, ablandamiento de carne, TPA.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate the application of enzymatic solutions of the red pitahaya husk to improve the texture of bovine meat in high tenderness cut. The proteolytic enzyme concentrate was extracted, partially purified and dried to make the physicochemical characterization in pH, humidity, protein and enzymatic activity. The enzymes obtained were applied at different concentrations in water 14; 28 and 42 g / L corresponding to factor A, and the time per immersion of the meat for 1 and 2 hours belonging to factor B, resulting in six treatments. For the essay, the Design was completely Randomized plus a witness in three replicas. The experimental unit was the over-rib cutting into uniform pieces of 20 to 25 g. The Meat Texture Profile (TPA) was determined for the meat and an economic estimate was made of all treatments. According to the results, the concentrate with proteolytic enzymes presented 7,78 pH; 11,98% humidity; 7,81% protein and enzymatic activity of 1,386 mol/m³. The variables TPA in the cut of meat managed to establish that the best treatment was the 42 g enzymatic concentration and two hours of immersion, this with an estimated cost of \$ 13,37.

KEYWORDS: *Hylocereus triangularis*, proteases, meat softening, TPA.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1 PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Las crecientes exigencias por productos de calidad han llevado a los productores cárnicos a diagnosticar y determinar que la blandura es la característica más deseable por parte del consumidor (Andrighetto et al., 2006); éste atributo está relacionado con la textura (dureza o suavidad) y la succulencia (capacidad de retención de agua). Las variables que influyen en la calidad de los cortes bovino son edad, raza, sexo, tratamiento *ante mortem* y *post mortem*, el enfriamiento, almacenamiento, pH final del músculo, cantidad de tejido conectivo, grasa y métodos de cocción (Carvajal et al., 2008). Es importante mencionar que la carne de res presenta alta rigidez en comparación con las de otras especies de abasto.

A partir de esta realidad en Ecuador las condiciones de la carne bovina de venta en los mercados municipales, tercenas y quioscos provisionales no son las adecuadas por las características físicas del producto presentando rigidez muscular por el incumplimiento del proceso de maduración de las canales bovinas en tiempos y temperaturas adecuadas, y la falta de tenderización con enzimas proteolíticas que aceleren el proceso bioquímico del ablandamiento de la carne, todas estas operaciones no se realizan por el desconocimiento de los catalizadores bioquímicos y por los elevados costos de refrigeración que se refleja en el precio final del producto.

En Manabí no se utilizan enzimas proteolíticas para mejorar la textura de la carne bovina y se conoce poca diversidad de frutas tropicales que contengan estas biomoléculas, literatura científica evidencia que vegetales como piña, papaya e higo son las mayores fuentes de enzimas proteolíticas (Sun, Zhang, Qiao, & Jiang, 2016), sin embargo no se ha logrado encontrar información en relación a la pitahaya roja como fuente de extracción de enzimas proteolíticas con fines de aplicación para ablandamiento de carne, tomando en consideración a la cáscara de la pitahaya como fuente de proteínas, siendo material de rechazo y de investigación. En relación a lo mencionado anteriormente, se plantea la siguiente pregunta científica ¿Cuáles son las dosis de enzimas proteolíticas extraídas de

la cáscara de la pitahaya roja y los tiempos de inmersión adecuados para mejorar la textura en cortes de carne bovina?

1.2 JUSTIFICACIÓN

La carne bovina es el alimento con la mayor fuente de proteínas y minerales de origen animal, pero contiene el menor contenido de humedad y grasa en relación a otras especies (Arenas et al., 2000), por estos motivos este alimento presenta alta rigidez; los cortes en el animal con mayor dureza se encuentran a los miembros anteriores y abdominal debido al movimiento motriz, y el alto contenido de colágeno (Moloney, Allen, Ross, Olson, & Convey, 1990; Fuenmayor, Méndez, & Ortiz 2004); por lo que la presente investigación está direccionada a mejorar la textura de la carne bovina aplicando soluciones de enzimas proteolíticas de origen vegetal.

En el presente estudio se pretende extraer enzimas proteolíticas de la de la cáscara de la pitahaya roja adaptando metodología ya establecida en la obtención de enzimas obtenidas de la cáscara de la piña para su posterior aplicación mediante inmersión del corte de carne bovina con textura rígida en soluciones enzimáticas, de esta manera mejorar la textura de este tipo de carne que por su condición física no son apetecidos ya que son considerados de tercera o de baja calidad y consecuentemente elevando el precio de los cortes.

Los resultados de la presente investigación permitirán conocer la efectividad de la enzima proteolítica obtenida de la cáscara de la pitahaya roja como ablandadora de carne, se evidencia una investigación en donde se señala que la proteasa, enzima de la cáscara de la pitahaya roja tiene una amplia especificidad hacia la azocaseína, la caseína, la hemoglobina y la gelatina. (Amid, Manap, Yazid & Zohdí, 2014), por lo que esta investigación permitirá generar nuevos conocimientos sobre las propiedades bioquímicas de la cáscara de la pitahaya producida en Manabí, en el caso de obtenerse resultados positivos se lograría ampliar la diversidad de vegetales que sirvan de fuentes de enzimas proteolíticas para ablandamiento de carnes.

Los beneficiarios del presente estudio serían los productores y las empresas dedicados a cultivos o procesamiento de pitahaya roja con pulpa blanca, dando valor agregado a la cáscara que habitualmente son desechada por las empresas procesadoras o los frutos de rechazos por el mercado al no cumplir parámetros como peso, presencia de daños físicos por insectos o manipulación, y por maduración en estado acentuado de degradación; es así como se aprovecharía de la cáscara.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la aplicación de soluciones enzimáticas de la cáscara de la pitahaya roja para mejorar la textura de la carne bovina

1.3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar la caracterización fisicoquímica de las enzimas proteolíticas aisladas de la cáscara de pitahaya roja.
- Determinar la concentración adecuada de enzimas proteolíticas para mejorar la textura de la carne bovina.
- Establecer el tiempo óptimo de inmersión en las enzimas proteolíticas que contribuya en el ablandamiento de la carne bovina.
- Realizar la estimación económica de los tratamientos en estudio.

1.4 HIPÓTESIS

El tiempo de inmersión y la concentración de enzimas proteolíticas de la pitahaya roja mejora la textura de la carne bovina.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 CARNE BOVINA

La carne es el tejido estriado en fase posterior a su rigidez cadavérica (post-rigor) comestible, sano y limpio de animales de abasto que mediante la inspección veterinaria oficial antes y después del faenamiento son declarados aptos para consumo humano (Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización [INEN], 2006).

2.1.1 DUREZA DE LA CARNE

La dureza de la carne está determinada por la cantidad y la solubilidad del tejido conectivo, el acortamiento del sarcómero durante el desarrollo del rigor, y la proteólisis *post mortem* de proteínas miofibrilares en el músculo (Koochmaraie & Geesink, 2006). Los cortes procedentes de las espaldas, pecho, sobrecostillas, y chamberetes son menos tiernos y se debe mejorar la terneza (Desdémona, 2012).

Las proteínas musculares pueden dividirse en tres clases: miofibrilar, sarcoplásmico y estromal. Las proteínas miofibrilares están representadas por miosina, actina, proteína C, proteína M, tropomiosina, α -actina y β -actina. Estas proteínas forman los miofilamentos gruesos y delgados que forman el miofibril, el orgánulo que realiza la función de contracción muscular. Estos representan del 52% al 56% de las proteínas musculares. (Sgarbieri, 1996; Alves, de Tonissi, de Goes, & Mancio; 2005).

En la compra de carne fresca, los consumidores le dan mucha importancia a la terneza. Los factores que afectan la terneza son: variaciones genéticas, físicas y biológicas que, a su vez, son afectadas por factores *ante mortem* y *post mortem* y por el porcentaje de proteína, grasa, humedad y colágeno (Carvajal et al., 2008).

En general, la terneza del músculo en *prerigor* es tierna, pero a medida que se va instaurando el rigor mortis pierde la blandura por efectos del acortamiento

de la actina y la miosina y la pérdida de adenosin trifosfato (ATP) (Carvajal et al., 2008).

Las estimaciones indican que dentro de una misma raza, la genética controla cerca del 30% de la variación de la ternera y el 70% es explicado por el medio ambiente; alimentación, uso de aditivos, estrés, enfriamiento de las canales, tiempo de maduración postmortem, estimulación eléctrica y ternizado enzimático y mecánico (Desdémona, 2012).

El tiempo y temperatura en el proceso de maduración crea algunos inconvenientes al aumentar los costos de almacenamiento, tanto a la industria como al mercado minorista (Franco et al., 2013).

2.1.2 CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA EN LA TERNEZA

La calidad se define como la capacidad de un producto para satisfacer las necesidades o expectativas del consumidor. En el caso de la carne de vacuno, la calidad a nivel organoléptico, viene determinada principalmente por el nivel de ternera, jugosidad y sabor de la carne y son varios los factores biológicos (Caballero et al., 2006).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, (FAO, 2017), la calidad de la carne se define generalmente en función de su calidad composicional (coeficiente magro-graso) y de factores de palatabilidad tales como su aspecto, olor, firmeza, jugosidad, ternura y sabor. La calidad nutritiva de la carne es objetiva, mientras que la calidad “como producto comestible”, tal y como es percibida por el consumidor, es altamente subjetiva, la calidad de la carne de res se ve afectada a partir del deterioro en su comercialización.

La calidad de la carne puede estudiarse utilizando métodos instrumentales o sensoriales. En estos ensayos, es muy importante estandarizar lo máximo posible las condiciones del análisis: método de maduración, tiempo de maduración, geometría de la muestra, temperatura de cocinado, y tiempo de cocinado (Panea, Sañudo, Olleta, & Civil, 2008).

- **Identificación visual:** La identificación visual de la carne de calidad se basa en su color, veteado y capacidad de retención de agua. El veteado consiste en pequeñas vetas de grasa intramuscular visibles en el corte de carne. El veteado tiene un efecto positivo en la jugosidad y el sabor de la carne. La carne debe presentar un color normal y uniforme a lo largo de todo el corte. Las carnes de vacuno, cordero y cerdo deberían además estar veteadas (Braña, Ramírez, & Rubio, 2011).
- **Firmeza:** La carne debe aparecer más firme que blanda. Cuando se maneja el envase para uso y distribución al por menor, debe tener una consistencia firme pero no dura. Debe ceder a la presión, pero no estar blanda (San Román, 2015).
- **Ternura:** Está relacionada con diversos factores como la edad y el sexo del animal o la posición de los músculos. Un factor que incide positivamente en la ternura de la carne es el envejecimiento pos mortem. Las canales se envejecen almacenándolas a temperaturas de refrigeración durante un cierto período de tiempo después de la matanza y el enfriamiento inicial. La composición y organización estructural sumadas a los cambios bioquímicos pos mortem son elementos importantes al describir el mecanismo que define la textura final de un corte de carne (Chacón, 2004).

Múltiples factores, incluyendo la palatabilidad, la retención de agua, la capacidad, el color, el valor nutricional y la seguridad, determinan la calidad de la carne. La importancia de estos rasgos varía según el producto final y el perfil del consumidor. El sabor, la jugosidad y la ternura influyen en la palatabilidad de la carne. Entre estos rasgos, la ternura está clasificada como la más importante (Miller, Carr, Ramsey, Crockett, & Hoover, 2001).

2.2 ENZIMAS PROTEOLÍTICAS

Las enzimas proteolíticas catalizan la hidrólisis de los enlaces peptídicos de proteínas y participan en variados procesos fisiológicos, al estar involucradas en todo el ciclo de vida de las proteínas desde su biosíntesis, control de destino y activación, hasta su degradación (Hernández, Carvajal, Márquez, & Chavéz, 2004).

2.2.1 CLASIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS

Se clasifican en clases y familias que están ampliamente distribuidas en animales, plantas y microorganismos.

Las primeras enzimas proteolíticas utilizadas en la industria alimentaria eran proteasas pancreáticas de origen animal. Actualmente, se está dando la investigación de proteasas de origen bacteriano, vegetal y fúngico (Elizondo & Campos, 2014).

Además, se pueden encontrar enzimas proteolíticas sintetizadas de diferentes maneras:

- **Origen animal:** Son proteínas obtenidas a partir de los tejidos de diferentes organismos como el estómago o el páncreas. Las principales enzimas dentro de esta clasificación son la tripsina, pepsina, pancreatina, colagenasa y pronasa. Estas enzimas trabajan a pH ácido (Benítez, Ibarz & Pagan, 2008).
- **Origen vegetal:** Extraída a partir de especies de frutos y plantas, principalmente de la familia Bromeliaceae (bromelina), Caricaceae (papaína) y Moraceae (ficina) a partir de la piña, papaya e higo, respectivamente mediante procesos de ruptura celular, precipitación y purificación (Andrade, Morales & Martinez, 2011).
- **Origen fúngico:** Los productores de enzimas proteolíticas a partir de cepas de origen fúngico son productoras de enzimas proteolíticas extracelulares mediante fermentación en medio líquido, una tecnología ambientalmente sustentable, pues se pueden utilizar sustratos biodegradables. Al ser componentes extracelulares, son de fácil recuperación. Entre los principales productores de proteasas de origen fúngico, se encuentran especies de los géneros *Mucor*, *Aspergillus* y *Rhizopus* (Corzo, Waliszewski, & Welti, 2012).

2.2.2 APLICACIÓN DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS

▪ Bromelina

Es una glicoproteína del grupo de las cisteínproteasas derivada del tallo y el fruto de la piña (*Ananas comosus*). La bromelina (EC 3.4.22.33), ananaina (EC 3.4.22.31) y la comasaína se extraen de los tallos de piña, mientras que la bromelina (EC 3.4.22.33) proviene principalmente del zumo de fruta (Liang, Li, Shi, Liao, & Wu, 2012).

▪ Ficina

La ficina, al igual que la bromelina y la papaína es una cisteína proteasa que se obtiene del látex de las plantas del género *Ficus*. Presenta hidrólisis preferencial por los aminoácidos aromáticos. El pH óptimo varía con el sustrato y se encuentra en el rango de 5 a 8. La temperatura óptima está alrededor de 60 °C, inactivándose completamente a los 80 °C (Ortiz, Valdez, López, Mendoza, & Mochán; 2012).

▪ Papaína

Es el término que se aplica tanto a las preparaciones enzimáticas crudas obtenidas del látex de papaya como a las distintas fracciones proteicas del mismo. Es una cisteinproteasa perteneciente a la misma familia de la bromelina. Las enzimas papaína y quimopapaína son las principales proteasas del látex (10 y 45 % de la proteína soluble). Junto con la ficina han sido denominadas como pepsina vegetal (Deulgaonkar & Thorat, 2008). Las aplicaciones de la papaína son las mismas que tiene la bromelina.

2.2.3 APLICACIÓN DE ENZIMAS

La ternura es un parámetro de calidad muy importante en la carne de vacuno, que dependerá en parte de la acción de distintos sistemas proteolíticos sobre proteínas estructurales clave. Diversos estudios apuntan a la μ -calpaína como la principal responsable de la tenderización post-mortem de la carne (Koohmaraie

y Geesink, 2006). La mayor y más antigua aplicación de la bromelina es como ablandador de carnes (Hernández et al., 2004).

Los estudios clínicos del uso de enzimas proteolíticas en oncología se han llevado a cabo principalmente en una preparación enzimática que consiste en una combinación de papaína, tripsina y quimotripsina. La terapia enzimática puede reducir los efectos adversos causados por la radioterapia y la quimioterapia (Leipner & Saller, 2000).

2.3 EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE PROTEÍNAS

En la hidrólisis enzimática de proteínas, por acción de enzimas proteolíticas, la composición final y, por tanto, los usos de los hidrolizados dependerán principalmente de la fuente proteica, del tipo de proteasa usada, de las condiciones de hidrólisis y del grado de hidrólisis alcanzado en la reacción (Benítez et al., 2008).

Las proteínas presentes en los residuos de procesamiento de frutas y vegetales son de tipo intracelular, por lo que es necesario la aplicación de técnicas para la ruptura de las paredes celulares y así recuperar la mayor cantidad de los compuestos de interés (Balasundaram, Harrison y Bracewell, 2009).

2.3.1 MÉTODOS PARA EXTRACCIÓN DE ENZIMAS

- **Métodos mecánicos**

Son métodos basados en el uso de la fricción y de fuerzas de corte cuyo objetivo es deformar la célula hasta su ruptura (De Lencastre, De Carvalho, Faustino & Gava). Dentro de los principales métodos se encuentran el uso de molinos y equipos de ultrasonido. Estos métodos resultan ser agresivos con las proteínas de interés, debido a la generación de calor (Robles & Ochoa, 2012).

Molienda: Método basado en la reducción del tamaño de partícula mediante el uso de cuchillas, discos, bolas o martillos (Bedolla, Dueñas, Esquivel & Favela, 2004).

Dos de los tipos de molinos usados en la industria de alimentos son descritos a continuación:

Molino de cuchillas: Equipo formado por una cámara de molienda y cuchillas afiladas que realizan un movimiento rotatorio y por el efecto de corte se usa para la trituración y homogeneización de alimentos blandos y semiduros (Nor, Ramchandran, Duke & Vasiljevic, 2015).

Molino coloidal: Equipo formado por una superficie estacionaria (estator) y una rotativa (rotor) entre las cuales existe una separación ajustable. Por esta cavidad una solución es forzada a ingresar generando una fuerza centrífuga que la somete a fuerzas de cizalla y turbulencia produciéndose la molienda y homogeneización de la solución (Nor, Norsyalieza & Illias, 2016).

Equipo ultrasónico: Equipo cuyo principio de funcionamiento es el uso de ondas acústicas de una frecuencia generalmente superior a los 20 kHz (Ozuna & Ochoa, 2012).

Las microburbujas alcanzan un tamaño crítico e implosionan o colapsan violentamente para volver al tamaño original, la cual libera toda la energía acumulada. La energía liberada y el choque mecánico afectan la estructura celular, lo que provoca la ruptura de la pared celular y permite la salida de los compuestos intracelulares (Vilkhu, Mawson, Simons y Bates 2008).

- **Métodos no mecánicos**

Se basan en tratamientos de separación de componentes e hidrólisis de las paredes celulares mediante el uso de métodos químicos o enzimáticos. Por lo general, son menos severos comparados con los métodos mecánicos, lo que facilita la purificación del producto de interés (Gautam, Mishra, Dash, Goyal y Rath, 2010).

Métodos químicos: Implican el uso de solventes orgánicos, álcalis y detergentes que modifican las características de la pared celular. Estos componentes afectan la estructura de las membranas celulares primarias y secundarias (Gautam et al., 2010).

Los solventes orgánicos atacan los compuestos hidrofóbicos de las membranas celulares, y las hacen permeables; al realizar un tratamiento con álcalis se saponifican los lípidos presentes en la membrana celular. El uso de este tipo de solventes se da cuando el compuesto de interés es resistente al pH; el uso de detergentes forma micelas con los lípidos de las membranas celulares (Aguilar, 2010).

Cosgrove (2000) extrajo proteínas mediante la aplicación de diferentes agentes de origen químico. El resultado mostró que el uso de solventes no produce daños en toda la estructura de la membrana, por lo que debe complementarse con el uso de métodos mecánicos.

Métodos enzimáticos: Implica el uso de cocteles enzimáticos compuestos de celulasas, pectinasas y alfa amilasas, es una alternativa potencial al uso de métodos de extracción tradicionales. Este método se basa en la capacidad inherente de las enzimas para catalizar reacciones mediante la degradación o alteración de las paredes celulares permitiendo así una mejor liberación y extracción de compuestos intracelulares con una alta especificidad y selectividad (Puri, Sharma, Barrow, 2012), como se observa en la figura 2.1.

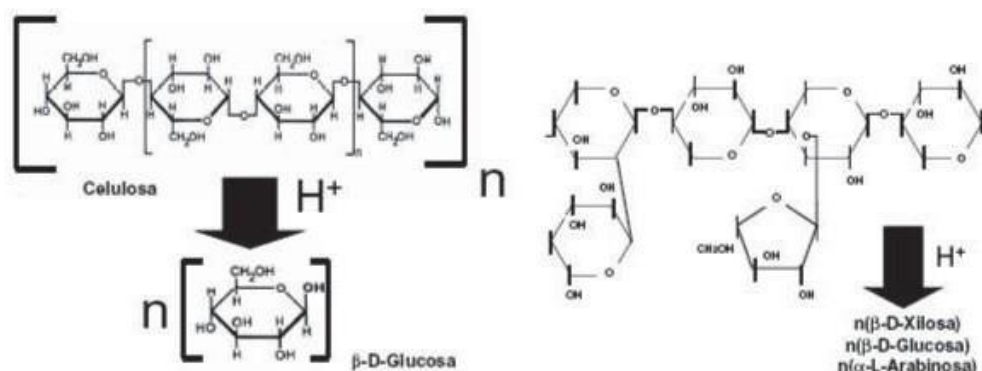


Figura 1. Hidrólisis de materiales lignocelulósicos mediante el uso de cocteles enzimáticos

Este procedimiento permite la generación de métodos de extracción amigables con el medio ambiente, ya que el uso de enzimas reduce el

porcentaje de solvente utilizada, y aumenta el rendimiento de extracción en comparación con los métodos no enzimáticos (Coelho et al., 2012).

El uso de tratamientos enzimáticos no solo se da en la industria alimentaria, sino también en la industria de pulpa y papel, curtiembre, farmacéutica, de aceites y otras (Hernández et al., 2004).

Es necesario complementar la extracción enzimática con métodos mecánicos para la separación del compuesto de interés (Demir, Acar, Saron y Mutlu, 2001).

2.3.2 Métodos de purificación de proteínas

El continuo interés de las proteínas en varias aplicaciones ha hecho que se desarrollen nuevas metodologías acerca de la obtención y purificación de estos componentes, tanto en las frutas como en los residuos del procesamiento. La selección del método es importante y está dada en función del tipo de proteína que se desea obtener y su aplicación (De Lencastre et al., 2015).

Algunas proteínas precipitan en condiciones en que otras todavía se encuentran solubilizadas. Este efecto se utiliza como base para la aplicación de diferentes métodos de extracción y purificación proteica (Stepankova et al., 2013).

Los parámetros más importantes para elegir el mejor método son maximizar la eficiencia de extracción, minimizar la oxidación, evitar la denaturación e incrementar el porcentaje de proteína recuperada (Devakate, Patil, Waje y Thorat, 2009). Los métodos comúnmente usados son:

- **Microfiltración y ultrafiltración**

La microfiltración es el proceso de separación de partículas de tamaño inferior a 10 μm en un fluido mediante el uso de membranas poliméricas, termoplásticas o tipo tamiz. La presión de trabajo se encuentra en el rango de 0,5 a 4 atm (Nadzirah, Zainal, Noriham y Normah, 2013).

Continúan manifestando que antes de realizar el proceso de microfiltración se deben tomar en cuenta las características del flujo de alimentación, tamaño de partícula a separar y temperatura para a partir de estas características elegir el diámetro de poro de la membrana, velocidad de flujo y presión de trabajo, como se describe a continuación:

Selección del diámetro de poro: Para una suspensión y un tipo de membrana dada, existe un diámetro de poro óptimo que conserva la calidad de filtración deseada.

Influencia de la velocidad de flujo: La influencia de la velocidad de flujo se debe al aumento del gradiente de velocidad en la capa límite, que aumenta el cizallamiento, y mantiene el filtro "limpio".

Influencia de la presión: El caudal de filtrado aumenta con la presión hasta un cierto valor límite, a partir del cual el caudal se estabiliza o disminuye.

La microfiltración se basa en impulsar el flujo a una velocidad relativa de la suspensión, bien sea en movimiento lineal o rotativo respecto a la superficie del medio filtrante. En este proceso, se alcanzan grandes velocidades de fluido en flujo cruzado a través de la superficie del filtro, mientras que la velocidad perpendicular a la superficie es relativamente pequeña. De esta manera se evita la formación de la torta filtrante y los problemas debido a la elevada resistencia de la torta (Guizard, 2007).

Además manifiesta que pese a que no se produce una torta filtrante, la membrana sufre un fenómeno denominado mecanismo de colmatación o ensuciamiento de la membrana que ocurre debido al taponamiento o bloqueo de los poros de la membrana. Los tres fenómenos que ocurren para que se dé el ensuciamiento de la membrana son:

- Polarización de la concentración de la solución
- Formación coloidal de la capa de sólidos en la membrana
- Formación de agregados que crean resistencia a la filtración y por lo tanto reducen la permeabilidad de la membrana disminuyendo el flujo

de permeado

El objetivo de este proceso es la eliminación de sólidos en suspensión, sin embargo, no retiene el paso de sales disueltas. La microfiltración no altera las propiedades químicas de la solución (Gallego, 2011).

La ultrafiltración es la continuación de la microfiltración, se utiliza cuando se quiere detener fragmentos de materia con tamaño menor a $0,1 \mu\text{m}$. Las diferencias principales con la microfiltración son las siguientes: la presión de trabajo es más elevada, típicamente entre 4 y 8 atm, por el hecho de que el tamaño de poros de la membrana de ultrafiltración es más pequeño; las especies a separar no son en realidad partículas en suspensión sino compuestos de tipo macromolecular o coloidal susceptibles de poseer fuertes interacciones fisicoquímicas con el material de la membrana (Le Gnoc & Van, 2009). Al aplicar estos dos procedimientos se espera separar las especies en función de sus tamaños.

▪ **Precipitación de proteínas**

La precipitación de proteínas involucra la adición de sales, solventes polares, no polares o la variación de la temperatura y pH. Si en una disolución de proteínas intervienen estos factores, la solubilidad de las proteínas puede verse reducida hasta el punto de producirse su precipitación (Voet & Voet, 2004).

Voet & Voet (2004) indica que la reacción bioquímica se debe a que los enlaces que mantienen la conformación globular se rompen y la proteína adopta una conformación filamentosa, produciéndose la desnaturalización, fenómeno que no afecta a los enlaces peptídicos por lo que la proteína puede volver a su conformación inicial.

- **Adición de sales:** La solubilidad de una proteína en una solución acuosa es sensible a la concentración de sales disueltas; esta concentración se traduce como la fuerza iónica. A fuerzas iónicas elevadas se reduce la solubilidad de las proteínas, produciéndose un efecto conocido como “salting out” (reducción de la solubilidad por

sales) (Mohd & Amir, 2014)

A concentraciones salinas elevadas las interacciones entre solutos se vuelven más fuertes que las que se producen entre los solutos y el solvente, lo que conduce a la precipitación del soluto. El sulfato de amonio es el reactivo más usado en este proceso (Soares et al., 2013).

- **Adición de solventes polares:** Los solventes solubles en agua como la acetona y el etanol son buenos precipitantes de las proteínas porque sus constantes dieléctricas bajas reducen el poder de solvatación de las soluciones hacia los iones disueltos, como las proteínas, produciendo su precipitación. Este procedimiento suele llevarse a cabo a temperaturas cercanas a los 4°C, ya que a temperaturas más elevadas, los solventes orgánicos tienden a desnaturalizar las proteínas (Martins et al., 2014).
- **Efecto de la variación del pH:** Por lo general, las proteínas contienen numerosos grupos ionizables con distintos valores de pH. A un pH característico para la proteína de interés las cargas positivas y negativas se equilibran con exactitud, este punto es denominado como isoeléctrico, donde la molécula proteica no tiene carga neta y es inmóvil en un campo eléctrico (Hebbar, Sumana y Raghavarao, 2008).
En este punto, el fenómeno conocido como “salting in” (aumento en la solubilidad de la proteína por la concentración de sal) no tiene influencia; a medida que la muestra varía su pH, la proteína se ve más influenciada por este fenómeno, por lo que se espera que la solubilidad de la proteína sea menor en el punto isoeléctrico (Martins et al., 2014).
La presencia de sales o solventes orgánicos en las muestras con proteína pueden influir en la actividad enzimática. La presencia de estos componentes desnatura la bromelina mediante la ruptura de los enlaces intramoleculares de las cadenas de hidrógeno. A medida que el porcentaje de sales o alcohol en las muestras de proteína aumenta, la actividad enzimática disminuye significativamente (Benucci, Liburdi, Garzillo & Esti, 2011).
- **Sistema acuoso de dos fases:** El sistema acuoso de dos fases (ATP) es un sistema de extracción comúnmente usado para la separación y purificación de biomoléculas en soluciones cuyas fases presentan de

70 a 80% de agua. Esta extracción remueve componentes no deseados como polisacáridos no identificados, pigmentos y proteínas que interfieren con la actividad enzimática de la proteína de interés. Al no usar solventes orgánicos se reduce la desnaturalización enzimática (Voet & Voet, 2004).

El ATP se basa en la transferencia de masa entre dos fases líquidas inmiscibles que ocurre cuando dos polímeros o dos polímeros y una sal son añadidos y resulta en la partición de un específico grupo de moléculas formando dos fases inmiscibles. Las sustancias comúnmente usadas para la formación de estas dos fases son polietilenglicol (PEG) y sulfato de amonio (Li, Yang, Yang, Zhu & Wang, 2012).

La ubicación del compuesto de interés en las muestras está influenciada por los enlaces iónicos, pH, temperatura, peso molecular del polímero y tipo de sal. Al existir las mejores condiciones de estos factores se separa en dos fases, situando el compuesto de interés en la parte superior de la muestra para posteriormente ser separada mediante centrifugación (Bala, Ismail, Mel & Jami, 2012).

Probablemente la fuerza iónica y por tanto la conductividad sea el factor que más influya en el proceso. Como la conductividad define la resistencia de las cámaras de tratamiento, al disminuir la conductividad se reduce el incremento de la temperatura y la energía aplicada, incrementándose así la energía de campo eléctrico y la efectividad. Sin embargo, hay que tener en cuenta que se requiere una cantidad mínima de iones para establecer el potencial transmembrana. (Mercado, 1996; Changoluisa & Italia, 2013)

2.3.3 MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA

El primer requerimiento para aislar una enzima es encontrar un ensayo cuantitativo de actividad, mediante el cual pueda valorarse convenientes. Para decidir si un paso de la purificación tiene sentido, es necesario medir la cantidad de enzima y la cantidad de impurezas antes y después de ese paso,

y comparar los resultados de varios procedimientos posibles (Calvo, 2003).

Además, manifiesta que la naturaleza del ensayo dependerá del tipo de reacción que cataliza la enzima. A veces resultará conveniente la medición de la aparición de un producto y otras la medición de la desaparición de sustrato.

El método Anson se basa en la hidrólisis de proteínas para cuantificar la cantidad de producto formado por la proteólisis enzimática de un sustrato proteico, como la caseína y la hemoglobina. En esta técnica, se define la reacción de hidrólisis, mediante la adición de una solución de ácido tricloroacético (TCA) a la mezcla de reacción, de modo que precipitan el sustrato aun sin degradar, con la enzima mientras que los péptidos resultantes se mantienen estables en la solución (Sinche, 2009).

El sustrato utilizado es diferente en cada método siendo imposible la comparación de resultados de diferentes laboratorios y trabajos realizados. En este grupo, se incluye el utilizado en esta investigación, el cual consiste en medir la cantidad de tirosina liberada por minuto, a partir de un sustrato de caseína. Es uno de los métodos más utilizados, por su reproductividad y precisión (Sinche, 2009).

2.4 MATERIALES EXPERIMENTALES A UTILIZAR EN LA INVESTIGACIÓN

2.4.1 PITAHAYA ROJA CON PULPA BLANCA

Según la norma INEN 2003 señala que la pitahaya (*Hylocereus triangularis*) es una planta de la familia de las cactáceas de tallos triangulares. El fruto es una baya de forma ovoide, está cubierto con escamas de color amarillo o rojo, la pulpa es carnosa de color crema o rojo pálido, con gran cantidad de semillas, de sabor agradable; es consumido en fresco o preparado (INEN, 2015).

El nombre científico de la pitahaya roja variedad pulpa blanca es *Hylocereus undatus britt*. El fruto es no climatérico, sus tasas de producción de etileno es 0,025 a 0,091 uL/Kg. El tratamiento con etileno en los frutos de pitahaya

no induce el desarrollo de color, la máxima tasa de respiración se presenta tempranas del crecimiento del fruto (a los 19 días después de la floración y disminuye conforme el fruto madura) (Alvarado, 2014)

La producción de esta variedad de pitahaya en el Ecuador es variable en cada año dado que tiene marcadamente dos épocas en las que se obtiene su cosecha, una es entre febrero y marzo y la otra entre julio y agosto (Verdesoto, 2018).

A partir del 2015 este cultivo se ha incrementado en el litoral ecuatoriano, debido a que la fruta es muy apetecida en el mercado nacional e internacional siendo comercializada mayormente en países europeos como Alemania, Bélgica y Reino Unido (Verdesoto et al., 2018); según el Instituto Nacional de Estadística (INEC) en el año 2000 la superficie cosechada alcanzó las 110 hectáreas. (Instituto Nacional de Estadística y Censos [INEC], 2000).

La cáscara de pitahaya contiene aproximadamente el 22% del peso total de la fruta, se desecha durante el procesamiento. Las propiedades fisicoquímicas de la cáscara de pitahaya desechada se determinaron como material de valor agregado. El contenido de humedad de la cáscara fue de aproximadamente el 92,7% y fue bajo en contenido de sólidos solubles, proteínas, cenizas y grasa.

El pigmento de betacianina ($150,46 \pm 2,19$ mg / 100 g) y la pectina (10,8%) fueron altos en la exfoliación. Se detectaron glucosa, maltosa y fructosa en la piel, pero no en sacarosa y galactosa. La cáscara también tenía una fibra dietética soluble e insoluble muy alta que había exhibido una buena proporción de fibra dietética insoluble a fibra dietética soluble (Jamilah, 2011).

Las responsables del color roja purpura de la cáscara de la pitahaya son las betacianinas, que consisten principalmente en monoacilglicosidos casi estable sobre todo el rango de pH investigado, con sólo una ligera cambio del ángulo de tono a azul purpúreo a pH 1,0 a 1,5 y pH 7,0 a 8,0 (Stintzing, Schieber & Carle; 2003).

2.4.2 CARNE BOVINA

El instituto Ecuatoriano de Normalización describe en la NTE INEN 1217 a la

carne como el tejido estriado en fase posterior a su rigidez cadavérica (post rigor) comestible, sano, limpio de animales de abasto que mediante la inspección veterinaria oficial antes y después del faenamiento son declarados aptos para consumo humano (INEN, 2006).

La terneza de la carne de res es afectada por un gran número de factores, entre ellos la genética, la edad, el sexo, la alimentación y el manejo pre y post faena de los animales, como ser presencia de situaciones estresantes durante la carga, el viaje o previos al sacrificio, como también factores relacionados con el manejo del frío durante la transformación del músculo en carne y maduración de la misma (Ynsaurralde, Rébak, Sánchez, & Capellari, 2013)

2.4.3 TEXTURÓMETRO

Esta técnica permitirá tener una visión objetiva de la terneza de la carne mediante el texturómetro (TShimadzu Z-LX, Japón) y analizados por el software TRAPEZIUM X.

Las medidas se realizarán en la misma sección para todas las muestras. Se utilizará una placa circular de 12 cm de diámetro y el ensayo de penetración se realizó con un punzón de 8 cm de longitud y 2 mm de diámetro, y la simulación de masticación se realizará con un punzón circular de 1 cm de diámetro, 8 cm de longitud a una velocidad 10 mm/min, con una penetración en la muestra de 15 mm. Los resultados se expresaron como la fuerza máxima (N) necesaria para penetrar en el cuerpo de la muestra dos veces sucesivas en las muestras, con el fin de simular la masticación humana, obteniendo la curva fuerza/tiempo y calculados los parámetros: cohesividad, dureza, gomosidad y elasticidad (Sinche, 2009).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1 UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La extracción, purificación parcial y caracterización de la enzima proteolítica a partir de la cáscara de la pitahaya roja pulpa blanca se la realizó en los laboratorios de Procesamiento de Alimentos y Química de la Facultad de Ciencias Zootécnicas de la Universidad Técnica de Manabí, extensión Chone. La ejecución de los tratamientos y el análisis del perfil de textura se desarrollaron en el Laboratorio de Investigación de Ciencias de Alimentos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Manta.

3.2 DURACIÓN LA INVESTIGACIÓN

Esta investigación tuvo una duración de seis meses, donde se cumplieron todos los objetivos propuestos.

3.3 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación fue experimental; se la realizó bajo ambiente controlado con el fin de obtener resultados confiables.

3.4 FACTORES EN ESTUDIO

Los factores en estudio fueron:

FACTOR A: Concentraciones de enzimas proteolíticas de pitahaya roja

FACTOR B: Tiempo de inmersión

3.4.1 NIVELES

Para el factor concentraciones de enzimas proteolíticas de pitahaya roja se manipularon los siguientes niveles:

$a_1 = 14 \text{ g/L H}_2\text{O}$

$a_2 = 28 \text{ g/L H}_2\text{O}$

$a_3 = 42 \text{ g/L H}_2\text{O}$

Para el factor tiempo de inmersión se manipularon los siguientes niveles:

$b_1 = 1 \text{ hora}$

$b_2 = 2 \text{ horas}$

3.4.2 TRATAMIENTOS

De las combinaciones de los diferentes niveles de cada factor se obtuvieron como resultados seis tratamientos más el testigo como se detalla en la tabla 1.

Tabla 1 Tratamientos en estudio con su respectiva combinación

TRATAMIENTOS	CÓDIGOS	DESCRIPCIÓN	
		CONCENTRACIONES DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS DE PITAHAYA ROJA (g/L H ₂ O)	TIEMPO DE INMERSIÓN (horas)
T ₁	a_1*b_1	14	1
T ₂	a_1*b_2	14	2
T ₃	a_2*b_1	28	1
T ₄	a_2*b_2	28	2
T ₅	a_3*b_1	42	1
T ₆	a_3*b_2	42	2
Testigo	a_0*b_0	No aplica	No aplica

3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño aplicado fue el Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial A*B más un tratamiento testigo, se dispusieron tres réplicas por tratamiento.

3.6 UNIDAD EXPERIMENTAL

De la combinación de los factores en estudio y el testigo resultaron 21 unidades experimentales, obtenidas del corte de carne sobrecostillar de un toro raza mestizo cruzado de Brahman con Brown Swiss de cinco años con 24 horas *post mortem*; cada unidad experimental fue cortada con la mayor uniformidad: largo $4,25 \pm 0,25$ cm; ancho $2,25 \pm 0,25$ cm; profundidad de $2,25 \pm 0,25$ cm y con una masa entre 20 a 25 g.

3.7 MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.7.1 TÉCNICA PARA LA EXTRACCIÓN DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS

El protocolo establecido por Vega (2017) en la extracción de bromelina obtenida a partir de residuos del procesamiento de piña (*Ananas comosus*), se adaptó para la extracción, purificación parcial y caracterización de la enzima de la cáscara de la pitahaya roja.

DESCRIPCIÓN DE PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS DE LA CÁSCARA DE PITAHAYA

- **Recepción:** Se escogió la pitahaya fresca madura con 24 horas de ser cosechadas, según la NTE INEN 2003 pitahaya fruta fresca color 2 (madura) de 41 al 80% color uniforme (INEN, 2015) precisamente las frutas del 75% de maduración provenientes de la hacienda El Okaso del cantón Rocafuerte, se seleccionó la de buen estado.
- **Lavado y cortado:** Se lavó las frutas con agua, con la ayuda de un cuchillo se retiró la cáscara con cuidado para no retirar pulpa, se pesó la cantidad de cáscaras, luego fueron ubicadas en fundas para ser almacenadas en refrigeración a 4°C.
- **Evaluación:** A la cáscara se la llevo a temperatura ambiente, se la trituro y se le realizó análisis de proteína (AOAC 920.105), actividad enzimática (Banchón, 2015), acidez titulable (AOAC 395.05), humedad y materia seca (AOAC 934.01), contenido de pulpa adaptado para contenido de cáscara

según la NTE INEN 2003 para fruta fresca pitahaya (INEN 2003:2015); pH (AOAC 981.12), sólidos solubles (AOAC 932.14) y conductividad eléctrica (Changoluisa & Italia; 2013).

- **Triturado:** Para reducir el tamaño se llevó las cáscaras a la cortadora de vegetales METVISAR, posteriormente al cúter para la obtención de una pasta homogénea donde se adicionó agua en proporción másica 2:1 (muestra: agua) a 15°C de temperatura
- **Prensado:** La pasta de cáscara se colocó en tela de liencillo para prensar de forma manual obtenida materia retenida y un permeado. Ambos fueron pesados y se determinó el rendimiento en esta operación, el retenido fue desechado, este contiene fibras dietéticas insolubles.
- **Precipitado:** Para precipitar la proteína a la muestra permeada se añadió etanol potable al 98% en proporción másica 1:2 (permeado: etanol), se agitó llevado a pH de 8 que corresponde al punto isoeléctrico de la proteína mediante la adición de NaOH 1N y se mantuvo en reposo por 7 días a 4°C para posteriormente aspirar con una manguera la mayor parte del sobrenadante de la muestra, está se desechó y se determinó el rendimiento.
- **Decantado:** Se llevó la solución concentrada de proteína a 40°C agitándole hasta poder concentrar el alcohol en la superficie de la solución realizado durante 4 horas y se retiró la solución sobrenadante que es alcohol.
- **Encapsulado:** Previo al secado se prepararon soluciones encapsulantes con 12% de sólidos en las que se utilizaron goma arábiga (GA) y maltodextrina (MD) con proporción GA: MD 30:70 w:w (peso: peso). Primero se disolvió en agua con la GA en proporción 1:2 w:w respectivamente y en otro recipiente se disolvió maltodextrina con el agua restante. A la solución concentrada de proteínas se adicionó a la GA y se agitó durante 5 min, posteriormente se adicionó la MD y se volvió a agitar durante 5 min hasta obtener una emulsión uniforme. La emulsión final se realizó para obtener una proporción 1:1 w: w (solución encapsulante: solución concentrada de enzimas).
- **Secado:** La mezcla se la envasó en recipientes de 2 onzas para luego ser congeladas a -18°C por 12 horas y posteriormente trasladada al liofilizador para el secado. Se pesó el resultado para obtener rendimiento.

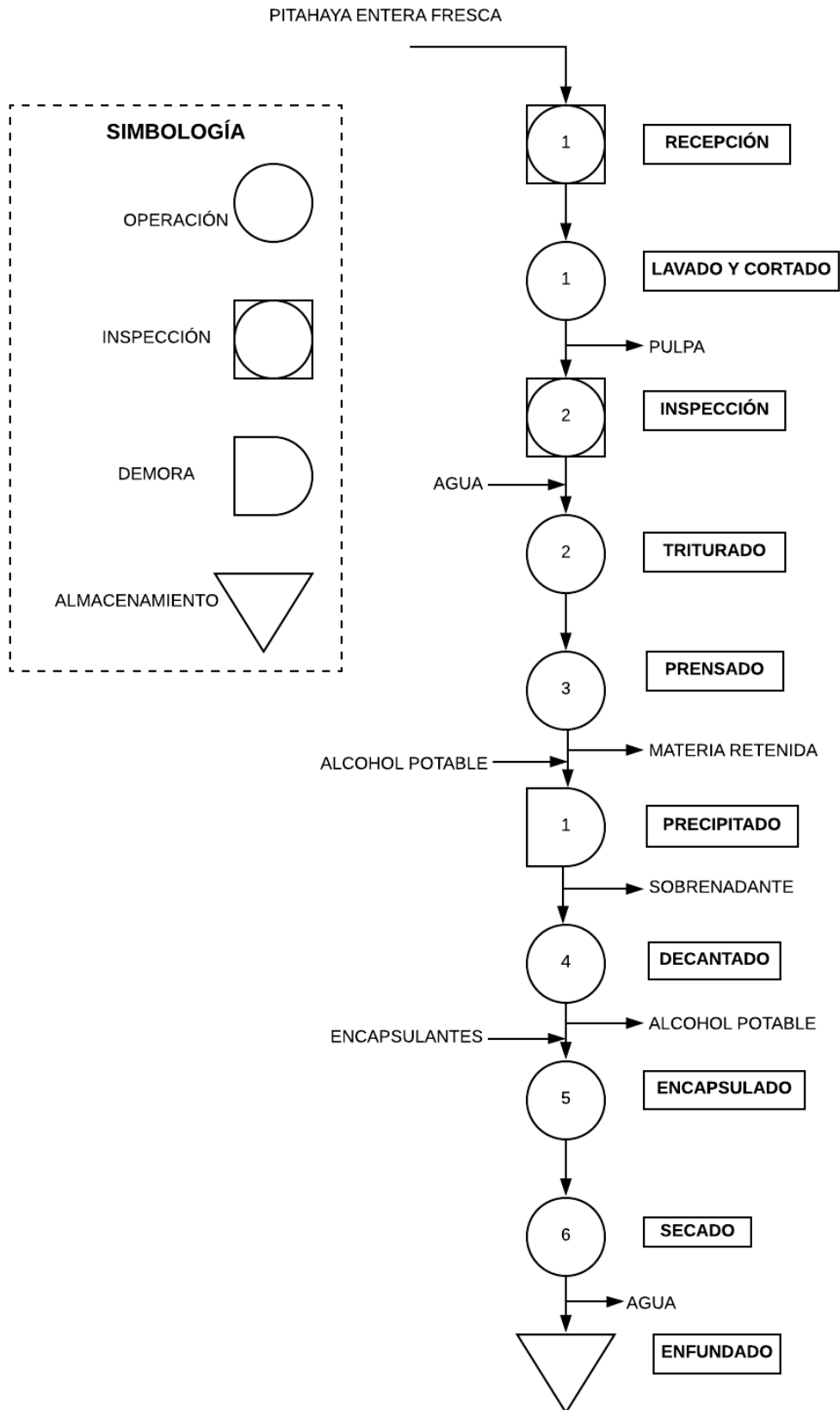


Figura 2 Diagrama de proceso de extracción de enzimas proteolíticas a partir de la cáscara de la pitahaya roja.

3.7.2 CARACTERIZACIÓN DE LA ENZIMA PROTEOLÍTICA

Al concentrado enzimático en polvo se le realizó los mismos análisis fisicoquímicos que de la materia prima (cáscara), además se incluyó las características organolépticas de apariencia, color y aroma.

3.7.3 PROCESO PARA LA INMERSIÓN EN SOLUCIÓN CON ENZIMAS DE LA CÁSCARA DE LA PITAHAYA EN CARNE.

- **Disolución:** Las diferentes dosis de concentración proteolíticas fueron disueltas con agua destilada a 70°C y pH 8, condiciones óptimas de activación de enzimas proteolíticas de la cáscara de pitahaya; colocada en bandejas de aluminio con tapas por cada concentración, en cada envase se colocó 350 mL de agua.
- **Inmersión:** Se colocaron los cortes de carne por inmersión dejados en reposo el tiempo establecido por tratamiento.
- **Escurreido:** Mediante un cedazo se escurrió la muestra y se llevó a refrigeración hasta ser llevadas inmediatamente a las evaluaciones de textura.

3.8 VARIABLES EVALUADAS

A través del el texturómetro marca TShimadzu Z-LX, Japón se realizó el análisis de perfil textura en los alimentos (TPA), procesados por el software Trapezium X. Las variables de estudio para los diversos tratamientos con sus unidades de medidas son:

- Dureza (Kgms⁻²)
- Elasticidad (adimensional)
- Cohesividad (adimensional)
- Gomosidad (Kgms⁻²)
- Masticabilidad (Kgf)

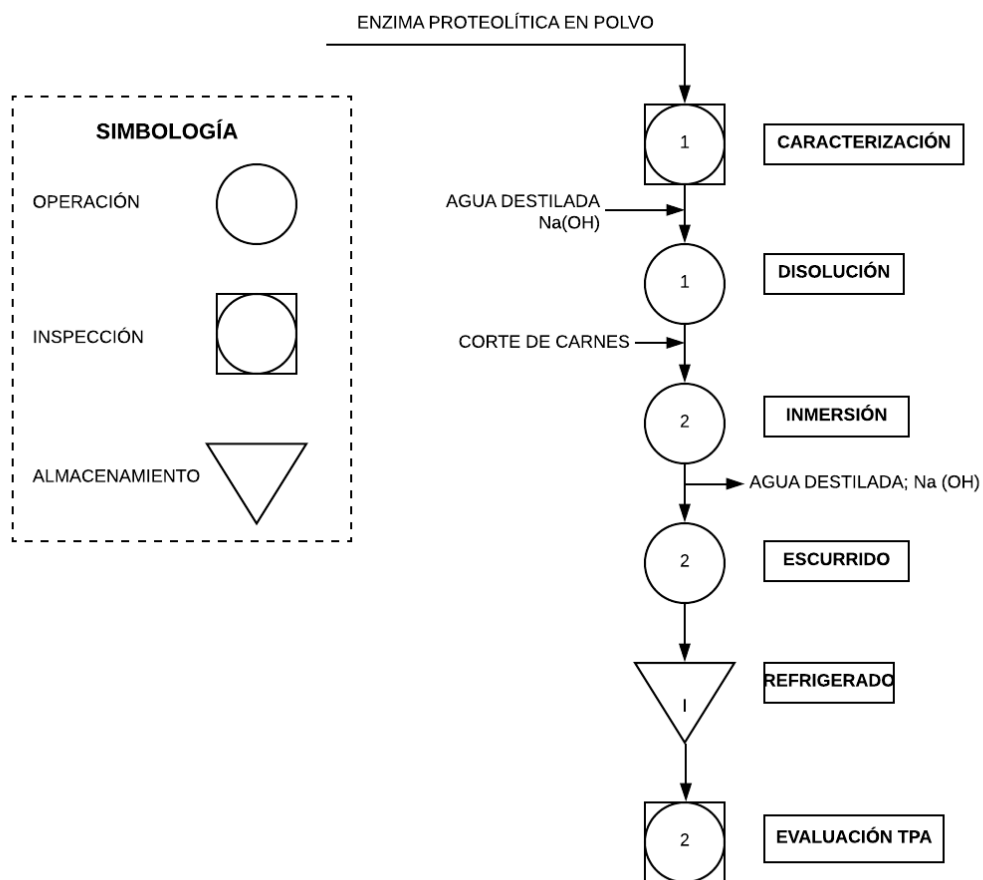


Figura 3 Diagrama de proceso sobre caracterización enzimas proteolíticas, inmersión y evaluación de la carne bovina tratada con enzimas proteolíticas de la cáscara pitahaya roja.

3.9 ESTIMACIÓN ECONÓMICA

Se evaluaron los costos variables de los tratamientos en la obtención de la concentración de enzima proteolítica y la aplicación en carne de bovina.

3.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos del perfil de textura fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) de un factor, los parámetros con diferencias significativas se aplicó la prueba de contraste de medias de Dunnett. Se empleó un nivel de confianza del 95%, procesados en el software SPSS Statistics versión 20 (Stallman, 2017). (Anexo 1)

3.11 MÉTODOS DE ANÁLISIS

- **Determinación de proteínas**

Se determinó el porcentaje de proteínas mediante el método Kjeldahl AOAC 920.105 donde se aplicó la siguiente ecuación matemática:

$$\% \text{ Proteína} = \frac{N * V * 14}{P0 * 100 * F}$$

Donde:

N = Normalidad del ácido de valoración

V = Volumen de ácido consumido

14 = Peso atómico del nitrógeno

P0: Peso de la muestra (mg).

F: Factor proteínico. (6,25 por defecto)

- **Actividad enzimática**

El proceso descrito por Banchón (2015) se detalla a continuación:

1.- A partir de una solución madre preparamos 3 muestras de proteína de 5 mg cada una; las cuales serán diluidas en buffer de extracción.

2.- Preparar la solución de sustrato y calentarla hasta 40°C. Disponer 800 μ L en 3 tubos de ensayo. Uno de los tubos corresponde a una muestra testigo (sin adición de proteína).

3.-Añadir 200 μ L de solución enzimática a los tubos de reacción donde se encuentran la solución de leche.

4.-Someter a incubación durante 20min a 35,5°C.

5.-Luego de la incubación, tomamos 60 μ L del sobrenadante formado y lo diluimos en 2000 μ L de agua.

6.-Tomar 60 μL de cada una de las diluciones y depositar en las cubetas para lectura en el espectrofotómetro; las mismas deberán ser rotuladas de acuerdo a los tubos de reacción.

7.-Llevar las cubetas al espectrofotómetro: ajustar la función para la lectura de absorbancia de proteínas. Colocar una cubeta con agua destilada y ajustar la función *blank* (el espectrofotómetro ajusta a absorbancia cero). Luego depositamos las demás cubetas y ajustamos la función *sample*.

8.- El resultado de la lectura resultó en las siguientes unidades $\text{mol}/\text{m}^3\text{s}$

- **Análisis de humedad y materia seca**

Aplicando el método AOAC 934.01 se determinó humedad y materia seca mediante la siguiente ecuación matemática:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(P1 - P2) \times 100}{m}$$

Donde:

P1= Peso antes de la estufa de la capsula más muestra (g)

P2= Peso después de la estufa de la capsula más muestra (g)

m= muestra (g)

$$\% \text{ Materia Seca} = 100 - \% \text{ Humedad}$$

- **Análisis contenido de cáscara**

Para este parámetro se determinó directamente por cálculo matemático utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ cáscara} = \frac{m1 \times 100}{m2}$$

Donde:

m1= masa de la cáscara (g)

m2= masa total de la fruta (g)

▪ **Acidez titulable**

Aplicando el método AOAC 398.05 se determinó acidez titulable mediante la siguiente ecuación matemática:

$$\% \text{ acidez} = \frac{V \text{ Na(OH)} * N \text{ Na(OH)} * 0,67 * 100}{V_m}$$

Donde:

V Na(OH)= Volumen del hidróxido de sodio consumido

N Na(OH)= Normalidad de la solución hidróxido de sodio

0,67= Constante del ácido predominante de la materia estudiada

V_m= Volumen de la muestra

▪ **pH**

Aplicando el método AOAC 981.12 se determinó el pH mediante el equipo Thermo Scientific Orion Star A111, previa a la evaluación se preparó la muestra disolviéndose 25 gramos en 50 ml de agua destilada en un vaso de precipitación de 100 mL.

• **Sólidos solubles**

Empleando el método AOAC 932.14 se determinó los sólidos solubles mediante el refractómetro marca ATAGO, se colocó sobre el prisma la muestra húmeda para la evaluación en °Brix.

- **Conductividad eléctrica**

Se empleó un medidor de conductividad Multiparameter H1 9825 Marca HANNA, realizándose la medición de forma directa a 25g de muestra diluida en 50 ml agua destilada. Las unidades en que se expresa son $\mu\text{S}/\text{cm}$.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN DE LA PITAHAYA

4.1.1 FACTORES FISICOQUÍMICO

En la tabla 2 se presentan los resultados del análisis de las propiedades fisicoquímicas de la cáscara de la pitahaya roja en estado maduro-fresco y del concentrado con enzimas proteolíticas obtenida de la misma cáscara, evidenciando los cambios de los parámetros tomados inicialmente y del producto final.

Tabla 2 Factores fisicoquímicos de la pitahaya

Fuente	Parámetros Fisicoquímicos								
	pH	Sólidos solubles (°Brix)	Contenido de cáscara (%)	Materia seca (%)	Humedad (%)	Conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Proteína (%)	Actividad enzimática ($\text{mol}/\text{m}^3\text{s}$)	Acidez titulable (%)
Cáscara triturada	5,52	5	32,59	7,77	92,23	2478	0,455	0,0199	2,68
Concentrado con enzima	7,68	17	---	88,02	11,98	2694	7,81	1,3867	1,34

Según la norma INEN 2003 para pitahaya en estado fresco madura los parámetros de acidez titulable, materia seca y contenido de pulpa por unidad de fruta son menores a 5, 18 y mayor al 50% respectivamente (INEN, 2015); los resultados obtenidos en la cáscara triturada concuerdan con lo especificado por la mencionada norma por lo que posee características similares al jugo y pulpa de la pitahaya.

Para la cáscara de pitahaya no existe una normativa que especifique los límites óptimos en que deben estar el pH, sólidos solubles, conductividad eléctrica, proteína y la actividad enzimática; pero autores como De Mello *et al.* (2014) señalan que la cáscara de la pitahaya contiene un pH entre 4,80 a 5,54; sólidos solubles de 7,10 a 13,78 °Brix y proteína entre 0,62 a 0,66%. Coincidiendo los resultados obtenidos en el valor de pH, los valores de sólidos solubles y proteína son cercanos, resultaron superiores en la mencionada investigación porque de la cáscara se evaluó solo la masa del mesocarpio retirando el exocarpio (escamas y revestimientos fragmentosos) y las frutas maduras en estado

acentuado de degradación. Según Amid *et al.* (2014) el contenido de la cáscara de la fruta pitahaya roja comprende aproximadamente 33% de toda la fruta concordando con el resultado obtenido en la presente investigación.

Sun *et al.* (2016) investigaron la actividad de la proteasa de 21 frutas donde la pitahaya roja a un pH de 7,5 posee la mayor actividad proteasa siendo $8,9 \pm 0,3$ U/g; en cambio Amid *et al.* (2014) señalan que la enzima de la cáscara de la pitahaya es altamente activa y estable en un amplio rango de pH de 3,0 a 11,0 con la actividad óptima a pH 8,0 tiene una amplia especificidad hacia la azocaseína, la caseína, la hemoglobina y la gelatina. El resultado de pH del concentrado con enzimas proteolíticas obtenida de la presente investigación coincide con lo mencionado por los autores.

El resultado de proteína obtenida es considerablemente superior a lo establecido por Vega (2017) en la extracción de bromelina de la cáscara de la piña donde inició con 0,03% y finalizó el proceso con 0,84%, de la misma forma la humedad resultó mayor ya que en la mencionada investigación fue de 9,09%, tomando en consideración la aplicación de la misma técnica de extracción y purificación parcial. En cambio, los valores de la actividad enzimática se acercan a lo señalado por Amid *et al.* (2014) el extracto crudo de la cáscara de la pitahaya roja contiene $12,6 \mu\text{mg}$ y el concentrado con enzimas proteolíticas mediante el proceso de purificación de precipitación con sulfato de amonio es de $118,4 \mu\text{mg}$.

4.1.2 FACTORES ORGANOLÉPTICOS SOBRE CONCENTRADO CON ENZIMAS PROTEOLÍTICAS

El resultado obtenido de la extracción y purificación parcial de la enzima proteolítica de la pitahaya roja presenta una apariencia homogénea en forma granular por la acción de los encapsulantes; su color es café amarillo claro como se observa en la figura 4, no posee betacianinas responsable del color rojo púrpura de la cáscara (Stintzing *et al.*, 2003) ya que se disolvieron con compuesto polares y se extrajeron en la purificación; el olor es ligeramente leve a extracto de piña y banano.



Figura 4 Concentrado con enzimas proteolíticas de pitahaya

4.2 ANÁLISIS DEL PERFIL DE TEXTURA EN CARNE BOVINA

Los resultados estadísticos obtenidos por tratamientos y por factores de estudios del Análisis de Perfil de Textura (TPA) a la carne bovina se observa en la tabla 3.

Tabla 3 Resultados del perfil de textura en carne bovina

FV Concentración (g/L H ₂ O)	TPA				
	Dureza (Kgm ² /s ²)	Elasticidad (Adimensional)	Cohesividad (Adimensional)	Gomosidad (Kgm ² /s ²)	Masticabilidad (Kgf)
14	55,03 b	0,42 b	0,40 c	27,15 c	11,44 c
28	51,72 b	0,41 b	0,28 b	22,86 b	9,12 b
42	44,61 a	0,31 a	0,20 a	17,49 a	7,71 a
p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Tiempo (Horas)					
1	51,50	0,41 b	0,32 b	23,66 b	10,31 b
2	49,40	0,35 a	0,26 a	21,34 a	8,53 a
p-valor	0,0683	<0,0001	0,0002	<0,0001	<0,0001
Concentración*Tiempo (g/L H ₂ O*Horas)					
14*1	55,78	0,44 de	0,42	28,08	12,75 d
28*1	52,66	0,46 e	0,31	24,43	10,15 c
42*1	46,05	0,32 ab	0,23	18,46	8,04 b
14*2	54,28	0,40 cd	0,37	26,23	10,13 c
28*2	50,77	0,35 bc	0,25	21,28	8,08 b
42*2	43,17	0,30 a	0,17	16,52	7,38 a
p-valor	0,8621	0,0065	0,9407	0,0882	<0,0001
Control	65,12	0,47	0,45	28,76	13,52

Como se observa en el tabla 3, los tratamientos estadísticamente no presentan diferencias significativas en las variables respuestas de dureza, cohesividad y gomosidad, por lo que los factores en estudio actuaron independientemente; sin embargo para las variables como elasticidad y masticabilidad se evidencia diferencias altamente significativas entre tratamientos comparados con el control, demostrándose así el efecto sinérgico de las concentraciones con enzimas y tiempos de inmersión en la carne bovina.

Todos los resultados de las variables respuestas mostraron ser menores al tratamiento control por lo que la prueba de contraste de medias de Dunnett presentó que el tratamiento con 42 g de concentración de enzimas/L H₂O y 2 horas mostró los mejores parámetros de textura relacionándolo con el control.

Los factores de estudios como la concentración de enzimas y el tiempo influyen en todas las variables evaluadas mostrándose diferencias altamente significativas entre los niveles de estudio excepto el factor tiempo en la variable de dureza donde se evidencia que no hay diferencia significativa de los niveles; observando que a mayor tiempo de inmersión y a mayor concentración de enzimas proteolíticas de la cáscara de pitahaya roja sí mejora la textura de la carne bovina.

Estudio similar realizado por Gil, Bedoya, de Jesús Millán & Benavides (2012) aplicando papaína en diversos tiempos en inmersión en trozos de carne bovina obtuvieron diferencias significativas a medida que transcurre el período de almacenamiento en la dureza, masticabilidad y elasticidad. Caso contrario sucedió con la cohesividad y gomosidad, las cuales no presentaron diferencias significativas respecto al tiempo. Acorde a los resultados de la presente investigación concuerda con los resultados de los parámetros de elasticidad, masticabilidad, cohesividad y gomosidad; el único parámetro que no guarda relación es la dureza debido a que no se especifica el tipo de corte empleado, ni la categoría de dureza de la muestra analizada.

Marrasquin (2016) determinó la mezcla adecuada de bromelina con papaína sobre las características físicas de la carne bovina del corte pulpa prieta en donde evaluó el TPA considerando los parámetros de dureza, masticabilidad,

cohesividad y elasticidad estableciendo que el mejor tratamiento es el de la dilución 50% papaína y 50% bromelina por inyección; todos los tratamientos resultaron significativos en todas las variables respuestas de donde observó que la bromelina tiene una mayor fuerza de acción con respecto a la papaína disminuyendo el nivel de dureza un 47 %, los resultados de la presente investigación establece que el nivel de dureza disminuyó un 33,77 % corroborando lo que especifica Sun *et al.* (2016) la actividad proteica de la pitahaya es menor al de las enzimas de la bromelina y papaína.

4.3 ESTIMACIÓN ECONÓMICA

En la figura 5 se observa las cantidades de materia prima e insumos aplicados en cada operación, estos datos nos permitieron conocer el costo de la extracción parcial de enzimas proteolítica de la cáscara de pitahaya (ver tabla 4).

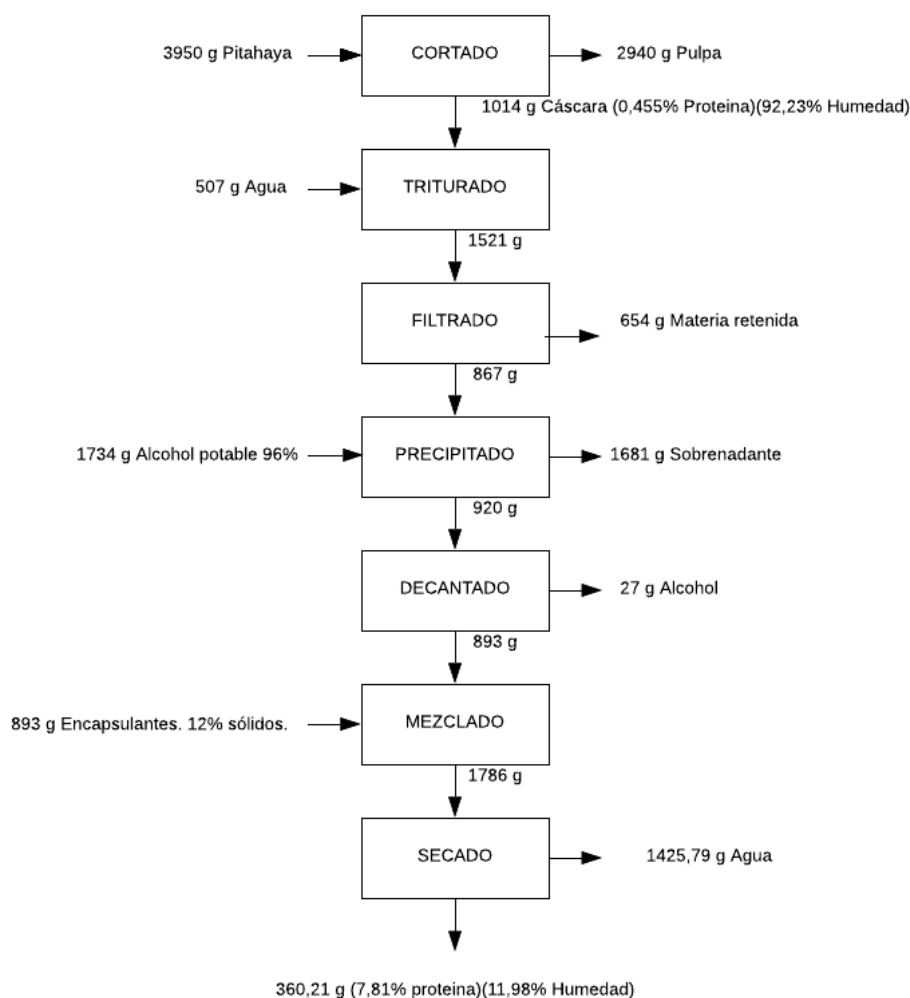


Figura 5 Proceso de extracción enzimas proteolíticas cáscara pitahaya

A continuación, se muestra en la tabla 4 los costos variables de los tratamientos desarrollado en la presente investigación:

Tabla 4 Costos variables de los tratamientos

CANTIDAD	RUBRO	VALOR UNITARIO (\$)	VALOR TOTAL(\$)
C1. COSTOS EXTRACCIÓN ENZIMAS PROTEÓLITICAS			
4 Kg	Pitahaya	2,50	10
1 Gal	Agua purificada	1	1
1 Gal	Alcohol potable	25	25
500 g	Goma Agar Agar	1	50
500 g	Maltodextrina	1	15
TOTAL C1			101
COSTO UNITARIO POR GRAMO DE CONCENTRADO ENZIMAS			0,28
C2. COSTOS EN EL DISEÑO EXPERIMENTAL			
1,5 Lb	Carne de res	2,75	4,13
1 paquete	Bandejas metálicas desechables	3,75	3,75
1 Gal	Agua Purificada	1	1
TOTAL C2			8,88
COSTO VARIABLE TOTAL DEL EXPERIMENTO (C1+ C2)			109,88
C3. COSTOS VARIABLES POR TRATAMIENTOS			
COSTOS VARIABLES TRATAMIENTOS A1B1 o A1B2			
14 g	Concentrado con enzimas	0,28	3,92
100 g	Carne de res	---	0,61
1	Bandeja metálica desechable	0,75	0,75
1 Lt	Agua purificada	0,25	0,25
TOTAL A1B1 o A1B2			5,52
COSTOS VARIABLES TRATAMIENTOS A2B1 o A2B2			
28 g	Concentrado con enzimas	0,28	7,84
100 g	Carne de res	---	0,61
1	Bandeja metálica desechable	0,75	0,75
1Lt	Agua purificada	0,25	0,25
TOTAL A2B1 o A2B2			9,45
COSTOS VARIABLES TRATAMIENTOS A3B1 o A3B2			
42 g	Concentrado con enzimas	0,28	11,76
100 g	Carne de res	---	0,61
1	Bandeja metálica desechables	0,75	0,75
1 Lt	Agua purificada	0,25	0,25
TOTAL A3B1 o A3B2			13,37

En la tabla 4 se evidencian los principales costos variables en la extracción de enzimas proteolíticas donde el costo de la fruta de la pitahaya varía dependiendo de la época del año, como indica Verdesoto et al (2018) en el litoral ecuatoriano la producción de pitahaya roja es variable en cada año y tiene marcada dos épocas de cosecha, febrero a marzo y julio a agosto; siendo más económico en estos meses. Otro factor variable es el lugar de compra.

Los costos de los reactivos aplicados son cambiantes por factores de calidad y por el comportamiento del mercado, considerando estos precios cada gramo del concentrado con enzimas proteolíticas obtuvo un costo de \$0,28. Del mismo modo la carne bovina, materia prima de la presente investigación su precio es variable por la oferta y la demanda del mercado.

Los costos variables de los tratamientos en estudio dependen únicamente de la cantidad de concentrado de enzimas proteolíticas aplicada; para los tratamientos 1 y 2 con 14 g de concentrado de enzimas proteolíticas cada uno resultaron más económicos que los tratamientos 3 y 4 con 28 g; los tratamientos 5 y 6 con 42 g resultaron ser los de mayor valor, alcanzado un costo de \$13,37 de concentrado de enzimas proteolíticas para cada tratamiento.

Amid *et al.* (2014) señalan que el costo de la purificación de la enzima de la cáscara de pitahaya (residuos) se redujo alrededor del 74% en comparación con la enzima comercial teniendo un rendimiento de 71,3%. El precio de 50 g de papaína pura comercial con actividad de 6000 U/mg es de \$102,08; por lo tanto, cada gramo tiene un precio de \$2,04 (Quino, Yácono, & Zelada, 2010) y el costo por gramo de la bromelina en el mercado rodea los \$3,15 (Flores & Maricela, 2012). Ante esto, resulta viable económicamente el uso de la enzima de la cáscara de la pitahaya obtenida en el presente estudio, por tener un menor costo en relación con las enzimas comerciales analizadas, pero técnicamente las enzimas de bromelina y papaína reducen más la dureza por su alta actividad enzimática.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- El concentrado con enzimas proteolíticas de pitahaya (*Hylocereus undatus*) presentó un alto contenido respecto a sólidos solubles, materia seca, conductividad eléctrica, proteína y actividad enzimática; por otro lado, evidenció bajos niveles de acidez y humedad, siendo condiciones óptimas para la estabilidad de la proteasa.
- El tratamiento que arrojó mejores resultados en cuestión de elasticidad y masticabilidad según parámetros del TPA de la carne bovina fue la combinación de 42 g de concentrado de enzima /L H₂O y 2 horas de inmersión.
- Se realizó la estimación económica de los tratamientos en estudio, y el costo estuvo influenciado en dependencia de la concentración utilizada, en este sentido el mejor tratamiento fue la combinación de 42 g de concentrado de enzima /L H₂O y con un tiempo de inmersión de 2 horas presentó un costo de \$13,37, siendo el más alto.

5.2 RECOMENDACIONES

- Aplicar 42 g del concentrado con enzimas proteolíticas en 2 horas de inmersión carne bovina.
- Mantener las condiciones fisicoquímicas óptimas del concentrado con enzimas proteolíticas para evitar la desnaturalización de la proteasa.
- Realizar un estudio de factibilidad económica al emplear enzimas proteolíticas en cortes de carnes enteros.
- Se sugiere realizar el uso de la cáscara de pitahaya en nuevas investigaciones ensayando en dieta animal ya que contiene alta cantidad de fibras dietéticas.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar N. (2010). Modelo cinético de la hidrólisis del residuo de cosecha cañero. 20(2) ,1–12. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Córdoba, Veracruz. México.
- Alvarado, R. J. (2014). Caracterización poscosecha de la calidad del fruto de pitahaya amarilla (*Selenicereus maglantis*) y Roja (*Hylocereus undatus*). Guayaquil: Univesidad de Guayaquil.
- Alves, D. D., de Tonissi, R. H., de Goes, B., & Mancio, A. B. (2005). Maciez da carne bovina. *Ciência animal brasileira*, 6(3), 135-149.
- Amid, M., Manap, A. B. D., Yazid, M., & Zohdi, N. K. (2014). Purification and characterization of alkaline-thermostable protease enzyme from pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) waste: a potential low cost of the enzyme. *BioMed research international*.
- Andrade, M. M., Morales, O. & Martinez, H. A. (2011). Study of the extraction process of papain from latex of papaya (*Carica papaya* L.). Departamento de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Tolima, 60 (3), 217–224.
- Andrighetto, C., André, M., Oliveira, R., Da Rocha, D., Rodrigues, È., & Bianchini, W. (2006). Maturação da carne bovina (Ageing of meat beef). *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 6.
- Arenas de Moreno, L., Vidal, A., Huerta-Sánchez, D., Navas, & Uzcátegui-Bracho, S., & Huerta-Leidenz, N. (2000). Análisis comparativo proximal y de minerales entre carnes de iguana, pollo y res. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(4), 409-415.
- Bala, M., Ismail, N. A., Mel, M., Jami, M. S., Jami, M. S. & Mel, M. (2012). Bromelain Production : Current Trends and Perspective. Bioprocess and Molecular Engineering Research Unit, Department of Biotechnology Engineering, Faculty of Engineering, International Islamic University Malaysia. 65(11), 369–399.
- Balasundaram B; Harrison S & Bracewell D. (2009). Advances in product release strategies and impact on bioprocess desing. *Trends in Biotechnology*, 27 (8), 477 – 485.
- Banchón, C. (2005).Inmovilización de papaína en soporte de quitosano. Facultada de ingeniería Química, Universidad de Guayaquil, *Tesis*. Recuperado a partir de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/413>.
- Bedolla, S., Dueñas C, Esquivel I. & Favela T. (2014). Introducción a la Tecnología de Alimentos, (2da. Edición), México, Limusa.
- Benítez, R., Ibarz, A. & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. Grupo de Química de Productos Naturales, Departamento de Química, Universidad del Cauca, 42(2), 227–237.
- Benucci, I., Liburdi, K., Garzillo, A. M. V., & Esti, M. (2011). Bromelain from pineapple stem in alcoholic–acidic buffers for wine application. *Food Chemistry*, 124(4), 1349-1353.

- Braña, D., Ramírez, E., & Rubio, M. (2011). Manual de Análisis de Calidad en Muestras de Carne. 1 ed. México: INEPAP p 21.
- Caballero, B., Sierra, V., Vega Naredo, I., Tomás, C., Rodríguez, M. J., Tolivia, D. & Coto, A. (2006). Enzimas antioxidantes en la maduración de carne de vacuno procedente de dos cabañas autóctonas asturiana.
- Calvo, J.C. (2003) Enzimas. Departamento de Química. www.calvo.qb.fcen.uba.ar/Trabajo%20con%20enzimas.htm.
- Carvajal, L. M., Ospina, N., Martínez, O. L., Ramírez, L., Restrepo, C. C., Adarve, S. S., & Restrepo, S. L. (2008). Evaluación de textura a cinco cortes de carne de res conservados por esterilización en envase de hojalata. *Vitae*, 15(2).
- Chacón, A. (2004). La suavidad de la carne: implicaciones físicas y bioquímicas asociadas al manejo y proceso agroindustrial. Red de Revistas Científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal., México D.F., MX.
- Changoluisa, V., & Italia, S. (2013). *Estudio del efecto de la aplicación de pulsos eléctricos de alta intensidad de campo sobre la actividad enzimática del néctar de naranjilla (Solanum quitoense Lam)* (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Bioquímica).
- Coelho M, Linhares R, Ramalho M, Campos F, Pereira M & Morais H. (2012). Effect of pH and Temperature on the Activity of Enzymatic Extracts from Pineapple Peel. *Food and Bioprocess Technology*. 5 (5), 1824-1831.
- Corzo, C. A., Waliszewski, K. N., & Welti-Chanes, J. (2012). Pineapple fruit bromelain affinity to different protein substrates. *Food Chemistry*, 133(3), 631-635.
- Cosgrove, D. J. (2000). Expansive growth of plant cell walls. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38(1-2), 109-124.
- De Lencastre L, De Carvalho V, Faustino A & Gava P. (2015). Stability, purification, and applications of bromelain: a review. *Bioseparations and Downstream Processing*, 32(1), 1-34.
- De Mello, FR, Bernardo, C., Dias, CO, Züge, LCB, Silveira, JLM, Amante, ER & Candido, LMB (2014). Evaluación de las características químicas y comportamiento reológico de la cáscara de pitaya (*Hylocereus undatus*). *Frutas*, 69 (5), 381-390.
- Demir, N., Acar, J., Sarão, K. & Mutlu, M. (2001). The use of commercial pectinase in fruit juice industry. Part 3: Immobilized pectinase for mash treatment. *Journal of Food Engineering*, 47(4), 275–280.
- Desdémona, E. (2012). Mejorando la ternera de la carne de bovino. *ReseartGate*, 218.
- Deulgaonkar, S. & Thorat, B. (2008). The Purification, Formulation and Drying of Papain. *International Journal of Food Engineering*, 4(8), pp. -. Retrieved 26 May. 2019, from doi:10.2202/1556-3758.1512.

- Devakate, R. V., Patil, V. V., Waje, S. S., & Thorat, B. N. (2009). Purification and drying of bromelain. *Separation and Purification Technology*, 64(3), 259–264.
- Elizondo J & Campos C (2014). Características nutricionales de la cáscara de piña ensilada con porcentajes crecientes de urea y heno. *Nutrition Animal Tropical*, 8(2), 51–71.
- Flores, D. A. L. G. O., & Maricela, V. (2012). *Obtención de un concentrado con bromelina a partir de piña (Ananas comosus), y determinación de su actividad enzimática en sustratos proteínicos* (Bachelor's thesis).
- Franco, J., Feed, O., Garibotto, G., Ballesteros, F., Forichi, E., Bentancur, O., & Bianchi, G. (2013). Efecto de la maduración sobre la textura y calidad sensorial de la carne de vaquillonas Hereford. *Revista Argentina de Producción Animal*, 28(1), 39-44.
- Fuenmayor, O. E. M., Méndez, N. F. G., & Ortiz, F. V. (2004). Contenido de colágeno y sus fracciones en tres músculos de toretes comerciales. *Revista Científica*, 14(3), 0.
- Gallego, L. (2011). Factores que influyen en la colmatación de membranas de microfiltración tangencial y representación matemática.
- Gautam S, Mishra S, Dash V, Goyal A & Rath G (2010). Comparative study of extraction, purification and estimation of bromelain from stem and fruit of pineapple plant. *Department of Pharmaceutics*, 34 (3), 67–76.
- Gil, M. A., Bedoya, V., de Jesús Millán, L., & Benavides, Y. L. (2012). Papaína extraída a partir de la cáscara de la papayuela perteneciente a la especie (*Carica papaya* L.), por medio de microondas con aplicación en el ablandamiento de la carne bovina. *Journal of Engineering and Technology*, 1(2).
- Guizard, C. (2007). Técnicas membranarias de filtración de líquidos microfiltración – ultrafiltración – nanofiltración – osmosis inversa. *Laboratorio de formulación, interfases, reología y procesos*, 1(1), 1-56.
- Hebbar, H., Sumana, B. & Raghavarao, K. S. M. S. (2008). Use of reverse micellar systems for the extraction and purification of bromelain from pineapple wastes. *Bioresource Technology*. 99(11), 4896–4902.
- Hernández, M., Carvajal, C., Márquez, M. & Chávez, M. (2004). Aislamiento de enzimas proteolíticas a partir de restos de cosecha de piña. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas*, 25 (4), 95-102. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193225911013>. (Marzo, 2017).
- INEN 1217 Instituto Ecuatoriano de Normalización (2006). Carne y producto carnicos definiciones (En Línea). Consultado, 8 de Nov. 2018 Formato PDF. Disponible en <https://archive.org/stream/ec.nte.1217.2006#mode/2up>.
- INEN 2003 Instituto Ecuatoriano de Normalización (2015). Frutas Fresca. Pitahaya. Requisitos. (En Línea). Consultado, 8 de Nov. 2018 Formato

- PDF. Disponible en
http://181.112.149.204/buzon/normas/nte_inen_2003.pdf.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), (2000) Bases de Datos – Censo Nacional Agropecuario 2000. <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/censo-nacional-agropecuario/Quito>.
- Jamilah, B., Shu, CE, Kharidah, M., Dzulkily, MA, & Noranizan, A. (2011). Características fisicoquímicas de la cáscara de pitaya roja (*Hylocereus polyrhizus*). *Revista Internacional de Investigación de Alimentos*, 18 (1).
- Koohmaraie, M., & Geesink, G. H. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat science*, 74(1), 34-43.
- Le Gnoc, L & Van Viet, M. (2009), Application of ultrasound in grape mash treatment in juice processing. *Ultrasonic Sonochemistry*, 17(1), 273-279. doi:10.1016/j.ultsonch.2009.05.002.
- Leipner, J., & Saller, R. (2000). Systemic enzyme therapy in oncology: effect and mode of action. *Drugs*, 769-780.
- Li, S., Yang, X., Yang, S., Zhu, M. & Wang, X. (2012). Technology Prospecting on Enzymes: Application, Marketing and Engineering. *Computational and Structural Biotechnology*, 2(3), 1–11.
- Liang, H. Y., Li, M., Shi, M., Liao, A. P., & Wu, R. C. (2012). Study on the stability of fruit bromelain. In *Advanced Materials Research* (Vol. 421, pp. 19-22). Trans Tech Publications.
- Marrasquin, R. R. (2016) Efecto de la adición de una mezcla de Bromelina y Papaína sobre ciertas características físico químicas de la carne vacuno. Tesis. Guayaquil, Ecuador. Universidad Católica Santiago de Guayaquil.
- Martins, B., Rescolino, R., Coelho, D, Zanchetta, B, Tambourgi E & Silveira, E. (2014). Characterization of Bromelain from Ananas Comosus Agroindustrial Residues Purified by Ethanol Fractional Precipitation. *The Italian Association of Chemical Engineering*, 37 (1), 781–786.
- Mercado, H. V. (1996). Inactivation of proteolytic enzymes and selected microorganisms in foods using pulsed electric fields (Doctoral dissertation, Washington State University).
- Miller, MF, Carr, MA, Ramsey, CB, Crockett, KL, & Hoover, LC (2001). Umbrales del consumidor para establecer el valor de la ternera. *Revista de ciencia animal*, 79 (12), 3062-3068.
- Mohd, S. & Amir, A. (2014) Bromelain Production: Current Trends and Perspective. *University of Malasya*, 85(11), 369-400. Recuperado de <http://irep.iium.edu.my/28364/>. (Marzo, 2017) precipitation. *Separation and Purification Technology*, 98(1), 389– 395.
- Moloney, A. P., Allen, P., Ross, D. B., Olson, G., & Convey, E. M. (1990). Growth, feed efficiency and carcass composition of finishing Friesian steers fed the β -adrenergic agonist L-644,969. *Journal of Animal Science*, 68(5), 1269-1277.

- Nadzirah K, Zainal S, Noriham A & Normah I (2013). Efficacy of selected purification techniques for bromelain. Department of Food, Science and Technology, 20(1), 43–46. Recuperado de <https://uitm.pure.elsevier.com/en/publications/efficacy-of-selected-purification-techniques-for-bromelain> (Marzo, 2017).
- Nor, A., Norsyalieza, T., & Illias, R. (2016). Bromelain: From Production to Commercialisation. University of Malasya, 1(1), 1-34.
- Nor, M. Z. M., Ramchandran, L., Duke, M., & Vasiljevic, T. (2015). Characteristic properties of crude pineapple waste extract for bromelain purification by membrane processing. *Journal of Food Science and Technology*, 52(11), 7103-7112.
- Organización para las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO), (2017). Carne y productos cárnicos, consumo de carne. p.3: FAO.
- Ortiz, G., Valdez, L., López, G., Mendoza, B., & Mochán, W. (2012). Conductividad efectiva en películas delgadas de silicio poroso nanoestructurado. *Anales afa*, 22(1). Consultado <https://anales.fisica.org.ar/journal/index.php/analesafa/article/view/13>.
- Ozuna, L. & Ochoa, L. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el proceso de alimentos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha*, 13(2). 109-122. Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/813/81325441002/> (Marzo, 2017).
- Panea, B., Sañudo, C., Olleta, J., & Civil, D. (2008). Efecto del método de maduración, tiempo de maduración, método de cocinado y espesor de la muestra sobre las características de textura de la carne bovina. *Eurocarne*.
- Puri, M., Sharma, D., & Barrow, C. (2012). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in Biotechnology*, 30(1), 37–44. Doi:<http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.06.014>.
- Quino-Favero, J., Yácono-Llanos, J. C., & Zelada-Chávez, M. (2010). Purificación de papaína a partir de látex seco: Un estudio piloto. *Ingeniería Industrial*, (028), 177-193.
- Robles, L. & Ochoa, L. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 13(2), 109-122. Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/813/81325441002/> (Marzo, 2017).
- San Román, D. (2015). Características físicas de la Carne Natural del Paraguay. *Revista de la Asociación Rural de Paraguay*, Vol 21. p 20. Asunción, PY.
- Sgarbieri, V.C. (1996) Proteínas em alimentos protéicos. São Paulo, SP: Varela. p. 517
- Sinche, M. (2009) Aislamiento, Purificación parcial y caracterización cinética de las proteasas presentes en el látex de los frutos de una planta del Género *Vasconcella*. EPN. Quito.
- Soares, P., Vaz, A., Correia, M., Pessoa, A. & Carneiro-da-cunha, M. (2012). Purification of bromelain from pineapple wastes by ethanol.

- Stallman R (2017) Software ISB Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 20.
- Stepankova, V., Bidmanova, S., Koudelakova, T., Prokop, Z., Chaloupkova, R. & Damborsky, J. (2013). Strategies for Stabilization of Enzymes in Organic Solvents. *Faculty of Science*, 3(4) 2823-2836. [dx.doi.org/10.1021/cs400684x](https://doi.org/10.1021/cs400684x).
- Stintzing, F. C., Schieber, A., & Carle, R. (2003). Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *European Food Research and Technology*, 216(4), 303-311.
- Sun, Q., Zhang, B., Yan, Q. J., & Jiang, Z. Q. (2016). Comparative analysis on the distribution of protease activities among fruits and vegetable resources. *Food chemistry*, 213, 708-713.
- Vega, K.A. (2017) Extracción de bromelina obtenida a partir de residuos del procesamiento de piña (*Ananas Comosus*). Tesis. Quito, Ecuador: Escuela Politécnica Nacional.
- Verdesoto, C. A. C., Verdezoto, R. P. C., Morán, J. J. M., Macías, J. S. T., Triviño, H. M. M., Bone, G. M., & Lema, C. L. T. (2018). Evaluación de dos abonos orgánicos líquidos en la producción del cultivo de pitahaya (*hylocereus undatus*) en el litoral ecuatoriano. *La Técnica*, (20), 29-40.
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., & Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry (1), 161–169. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.04.014>.
- Voet, D., Voet, J. G., & Pratt, C. W. (2013). *Fundamentals of biochemistry: life at the molecular level* (No. 577.1 VOE).
- Ynsaurralde, A., Rébak, G., Sánchez, S., Biológica & Capellari, A. (2013). *Terneza y grasa*. Buenos Aires.

ANEXOS

ANEXO 1. Resultados estadísticos

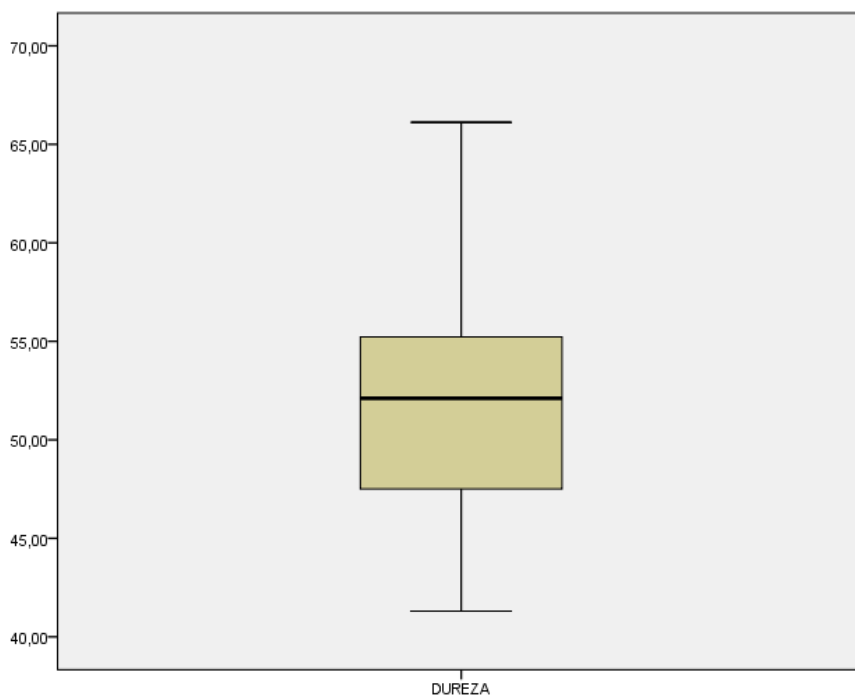
1-A DUREZA

		Descriptivos		
		Estadístico	Error típ.	
DUREZA	Media	52,5467	1,53173	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	49,3515	
		Límite superior	55,7418	
	Media recortada al 5%		52,4103	
	Mediana		52,1100	
	Varianza		49,270	
	Desv. típ.		7,01929	
	Mínimo		41,30	
	Máximo		66,12	
	Rango		24,82	
	Amplitud intercuartil		10,05	
	Asimetría		,497	,501
	Curtosis		-,303	,972

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
DUREZA	,135	21	,200*	,950	21	,341

*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors



Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: DUREZA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo corregido	914,727 ^a	6	152,454	30,197	,000	,928
Intersección	56233,711	1	56233,711	11138,392	,000	,999
CONCENTRACIÓN	339,910	2	169,955	33,664	,000	,828
TIEMPO	19,698	1	19,698	3,902	,068	,218
CONCENTRACIÓN * TIEMPO	1,514	2	,757	,150	,862	,021
Error	70,681	14	5,049			
Total	58969,603	21				
Total corregida	985,408	20				

a. R cuadrado = ,928 (R cuadrado corregida = ,898)

1. MEDIAS FACTOR CONCENTRACIÓN

Variable dependiente: DUREZA

CONCENTRACIÓN	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
A0	65,123 ^a	1,297	62,341	67,906
A1	55,027 ^a	,917	53,059	56,994
A2	51,715 ^a	,917	49,748	53,682
A3	44,610 ^a	,917	42,643	46,577

a. Basada en la media marginal poblacional modificada.

2. MEDIAS FACTOR TIEMPO

Variable dependiente: DUREZA

TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
B0	65,123 ^a	1,297	62,341	67,906
B1	51,497 ^a	,749	49,890	53,103
B2	49,404 ^a	,749	47,798	51,011

a. Basada en la media marginal poblacional modificada.

3. MEDIAS INTERACCIÓN CONCENTRACIÓN * TIEMPO

Variable dependiente: DUREZA

CONCENTRACIÓN	TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
				Límite inferior	Límite superior
A0	B0	65,123	1,297	62,341	67,906
	B1	, ^a	.	.	.
	B2	, ^a	.	.	.

	B0	.a	.	.	.
A1	B1	55,777	1,297	52,994	58,559
	B2	54,277	1,297	51,494	57,059
	B0	.a	.	.	.
A2	B1	52,663	1,297	49,881	55,446
	B2	50,767	1,297	47,984	53,549
	B0	.a	.	.	.
A3	B1	46,050	1,297	43,268	48,832
	B2	43,170	1,297	40,388	45,952

a. Esta combinación de niveles de los factores no tiene observaciones, por lo que la correspondiente media marginal poblacional no es estimable.

CONCENTRACIÓN

COMPARACIONES MÚLTIPLES

Variable dependiente: DUREZA

t de Dunnet (<control)

(I)CONCENTRACIÓN	(J)CONCENTRACIÓN	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95% Límite superior
A1	A0	-10,0967*	1,58881	,000	-6,6163
A2	A0	-13,4083*	1,58881	,000	-9,9279
A3	A0	-20,5133*	1,58881	,000	-17,0329

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 5,049.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

TIEMPO

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: DUREZA

t de Dunnet (<control)

(I)TIEMPO	(J)TIEMPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95% Límite superior
B1	B0	-13,6267*	1,49794	,000	-10,6115
B2	B0	-15,7189*	1,49794	,000	-12,7038

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 5,049.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

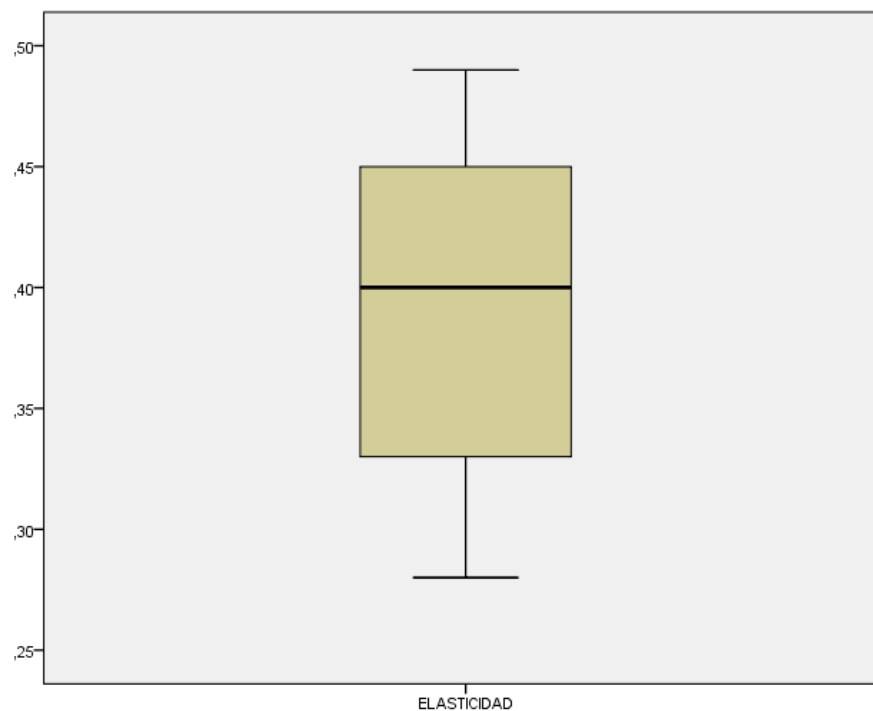
a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

1-B ELASTICIDAD

		Descriptivos					
		Estadístico	Error típ.				
	Media	,3914	,01508				
	Intervalo de confianza para						
	Límite inferior	,3600					
	Límite superior	,4229					
	Media recortada al 5%	,3921					
	Mediana	,4000					
	Varianza	,005					
ELASTICIDAD	Desv. típ.	,06909					
	Mínimo	,28					
	Máximo	,49					
	Rango	,21					
	Amplitud intercuartil	,13					
	Asimetría	-,101	,501				
	Curtosis	-1,410	,972				
		Pruebas de normalidad					
		Kolmogorov-Smirnov ^a		Shapiro-Wilk			
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
ELASTICIDAD		,146	21	,200*	,928	21	,124

*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors



Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: ELASTICIDAD

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo corregido	,090 ^a	6	,015	35,633	,000	,939
Intersección	3,098	1	3,098	7392,127	,000	,998
CONCENTRACIÓN	,046	2	,023	54,939	,000	,887
TIEMPO	,014	1	,014	33,144	,000	,703
CONCENTRACIÓN * TIEMPO	,006	2	,003	7,371	,007	,513
Error	,006	14	,000			
Total	3,313	21				
Total corregida	,095	20				

a. R cuadrado = ,939 (R cuadrado corregida = ,912)

1. MEDIAS CONCENTRACIÓN

Variable dependiente: ELASTICIDAD

CONCENTRACIÓN	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
A0	,473 ^a	,012	,448	,499
A1	,420 ^a	,008	,402	,438
A2	,407 ^a	,008	,389	,425
A3	,307 ^a	,008	,289	,325

a. Basada en la media marginal poblacional modificada.

2. MEDIAS TIEMPO

Variable dependiente: ELASTICIDAD

TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
B0	,473 ^a	,012	,448	,499
B1	,406 ^a	,007	,391	,420
B2	,350 ^a	,007	,335	,365

a. Basada en la media marginal poblacional modificada.

3. MEDIAS INTERACCIÓN CONCENTRACIÓN * TIEMPO

Variable dependiente: ELASTICIDAD

CONCENTRACIÓN	TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
				Límite inferior	Límite superior
A0	B0	,473	,012	,448	,499
	B1	. ^a	.	.	.
	B2	. ^a	.	.	.
A1	B0	. ^a	.	.	.
	B1	,440	,012	,415	,465
	B2	,400	,012	,375	,425
A2	B0	. ^a	.	.	.
	B1	,460	,012	,435	,485
	B2	,353	,012	,328	,379
A3	B0	. ^a	.	.	.
	B1	,317	,012	,291	,342
	B2	,297	,012	,271	,322

a. Esta combinación de niveles de los factores no tiene observaciones, por lo que la correspondiente media marginal poblacional no es estimable.

CONCENTRACIÓN

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: ELASTICIDAD

t de Dunnet (<control)

(I)CONCENTRACIÓN	(J)CONCENTRACIÓN	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%
					Límite superior
A1	A0	-,0533 [*]	,01447	,003	-,0216
A2	A0	-,0667 [*]	,01447	,001	-,0350
A3	A0	-,1667 [*]	,01447	,000	-,1350

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,000.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

TIEMPO**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: ELASTICIDAD

t de Dunnet (<control)

(I)TIEMPO	(J)TIEMPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%
					Límite superior
B1	B0	-,0678*	,01365	,000	-,0403
B2	B0	-,1233*	,01365	,000	-,0959

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,000.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

1-C COHESIVIDAD

Descriptivos

		Estadístico	Error típ.
	Media	,3143	,02188
	Intervalo de confianza para	Límite inferior	,2686
	la media al 95%	Límite superior	,3599
	Media recortada al 5%		,3158
	Mediana	,3100	
	Varianza	,010	
COHESIVIDAD	Desv. típ.	,10028	
	Mínimo	,15	
	Máximo	,45	
	Rango	,30	
	Amplitud intercuartil	,20	
	Asimetría	-,060	,501
	Curtosis	-1,379	,972

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
COHESIVIDAD	,125	21	,200*	,929	21	,133

*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors



Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: COHESIVIDAD

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo corregido	,192 ^a	6	,032	50,591	,000	,956
Intersección	2,101	1	2,101	3318,084	,000	,996
CONCENTRACIÓN	,116	2	,058	91,430	,000	,929
TIEMPO	,015	1	,015	23,719	,000	,629
CONCENTRACIÓN * TIEMPO	7,778E-005	2	3,889E-005	,061	,941	,009
Error	,009	14	,001			
Total	2,275	21				
Total corregida	,201	20				

a. R cuadrado = ,956 (R cuadrado corregida = ,937)

1. MEDIAS CONCENTRACIÓN

Variable dependiente: COHESIVIDAD

CONCENTRACIÓN	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
A0	,447 ^a	,015	,416	,478
A1	,397 ^a	,010	,375	,419
A2	,278 ^a	,010	,256	,300
A3	,202 ^a	,010	,180	,224

a. Basada en la media marginal poblacional modificada.

2. MEDIAS TIEMPO

Variable dependiente: COHESIVIDAD

TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
B0	,447 ^a	,015	,416	,478
B1	,321 ^a	,008	,303	,339
B2	,263 ^a	,008	,245	,281

a. Basada en la media marginal poblacional modificada.

3. MEDIAS INTERACCIÓN CONCENTRACIÓN * TIEMPO

Variable dependiente: COHESIVIDAD

CONCENTRACIÓN	TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
				Límite inferior	Límite superior
A0	B0	,447	,015	,416	,478
	B1	. ^a	.	.	.
	B2	. ^a	.	.	.
A1	B0	. ^a	.	.	.
	B1	,423	,015	,392	,454
	B2	,370	,015	,339	,401
A2	B0	. ^a	.	.	.
	B1	,307	,015	,276	,338
	B2	,250	,015	,219	,281
A3	B0	. ^a	.	.	.
	B1	,233	,015	,202	,264
	B2	,170	,015	,139	,201

a. Esta combinación de niveles de los factores no tiene observaciones, por lo que la correspondiente media marginal poblacional no es estimable.

CONCENTRACIÓN

Variable dependiente: COHESIVIDAD

t de Dunnet (<control)

(I)CONCENTRACIÓN	(J)CONCENTRACIÓN	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%
					Límite superior
A1	A0	-,0500*	,01780	,016	-,0110
A2	A0	-,1683*	,01780	,000	-,1294
A3	A0	-,2450*	,01780	,000	-,2060

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,001.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

b. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

TIEMPO**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: COHESIVIDAD

t de Dunnet (<control)^b

(I)TIEMPO	(J)TIEMPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95% Límite superior
B1	B0	-,1256*	,01678	,000	-,0918
B2	B0	-,1833*	,01678	,000	-,1496

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = ,001.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

b. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

1-D GOMOSIDAD

Descriptivos

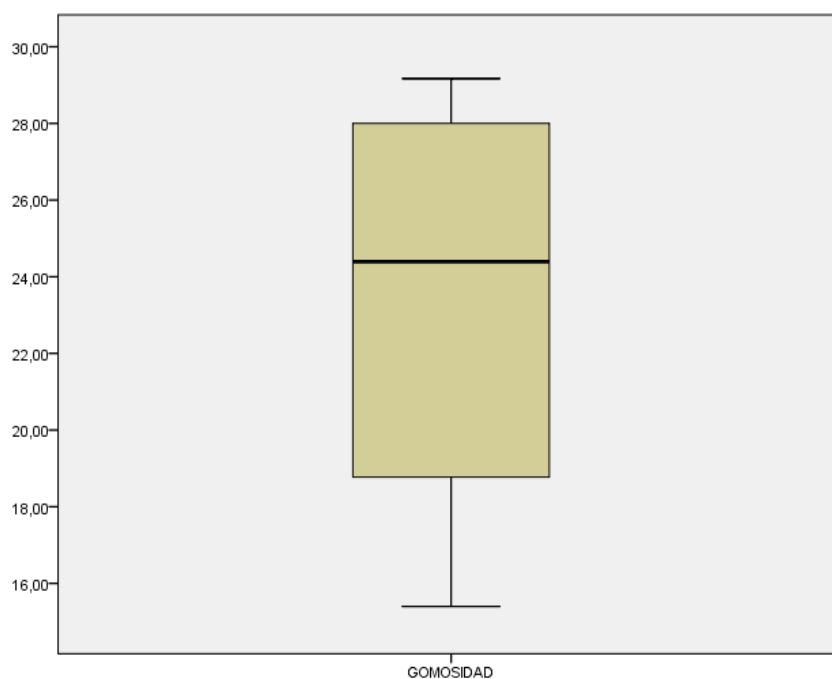
		Estadístico	Error típ.	
GOMOSIDAD	Media	23,3948	,99010	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	21,3294	
		Límite superior	25,4601	
	Media recortada al 5%	23,5149		
	Mediana	24,3900		
	Varianza	20,586		
	Desv. típ.	4,53721		
	Mínimo	15,40		
	Máximo	29,17		
	Rango	13,77		
	Amplitud intercuartil	9,35		
	Asimetría	-,330	,501	
	Curtosis	-1,354	,972	

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
GOMOSIDAD	,153	21	,200 [*]	,912	21	,061

*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors



ANOVA

Variable dependiente: GOMOSIDAD

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo corregido	407,893 ^a	6	67,982	248,334	,000	,991
Intersección	11119,955	1	11119,955	40620,488	,000	1,000
CONCENTRACIÓN	281,392	2	140,696	513,954	,000	,987
TIEMPO	24,036	1	24,036	87,800	,000	,862
CONCENTRACIÓN * TIEMPO	1,589	2	,795	2,903	,088	,293
Error	3,833	14	,274			
Total	11905,338	21				
Total corregida	411,725	20				

a. R cuadrado = ,991 (R cuadrado corregida = ,987)

1. MEDIAS CONCENTRACIÓN

Variable dependiente: GOMOSIDAD

CONCENTRACIÓN	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
A0	28,763 ^a	,302	28,115	29,411
A1	27,153 ^a	,214	26,695	27,611
A2	22,858 ^a	,214	22,400	23,316
A3	17,488 ^a	,214	17,030	17,946

a. Basada en la media marginal poblacional modificada.

2. MEDIAS TIEMPO

Variable dependiente: GOMOSIDAD

TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
B0	28,763 ^a	,302	28,115	29,411
B1	23,656 ^a	,174	23,281	24,030
B2	21,344 ^a	,174	20,970	21,719

a. Basada en la media marginal poblacional modificada.

3. MEDIAS INTERACCIÓN CONCENTRACIÓN * TIEMPO

Variable dependiente: GOMOSIDAD

CONCENTRACIÓN	TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
				Límite inferior	Límite superior
A0	B0	28,763	,302	28,115	29,411
	B1	. ^a	.	.	.
	B2	. ^a	.	.	.
A1	B0	. ^a	.	.	.
	B1	28,077	,302	27,429	28,725
	B2	26,230	,302	25,582	26,878
A2	B0	. ^a	.	.	.
	B1	24,433	,302	23,785	25,081
	B2	21,283	,302	20,635	21,931
A3	B0	. ^a	.	.	.
	B1	18,457	,302	17,809	19,105
	B2	16,520	,302	15,872	17,168

a. Esta combinación de niveles de los factores no tiene observaciones, por lo que la correspondiente media marginal poblacional no es estimable.

CONCENTRACIÓN

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: GOMOSIDAD

t de Dunnet (<control)

(I)CONCENTRACIÓN	(J)CONCENTRACIÓN	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%
					Límite superior
A1	A0	-1,6100*	,36997	,001	-7,996
A2	A0	-5,9050*	,36997	,000	-5,0946
A3	A0	-11,2750*	,36997	,000	-10,4646

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,274.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

TIEMPO**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: GOMOSIDAD

t de Dunnet (<control)

(I)TIEMPO	(J)TIEMPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%
					Límite superior
B1	B0	-5,1078*	,34881	,000	-4,4057
B2	B0	-7,4189*	,34881	,000	-6,7168

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = ,274.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

1-E MASTICABILIDAD

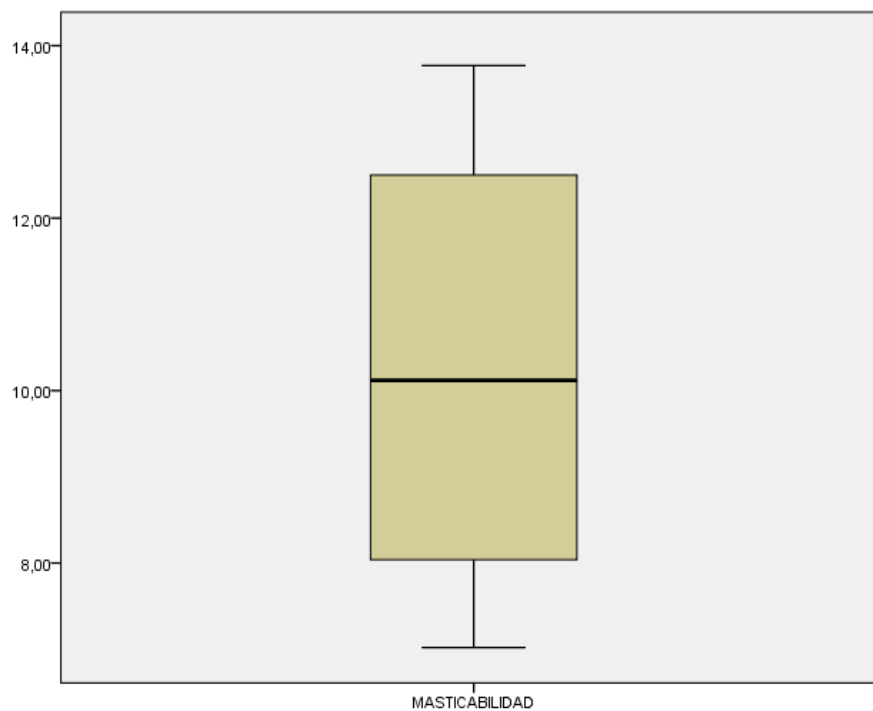
Descriptivos

		Estadístico	Error típ.	
MASTICABILIDAD	Media	10,0076	,49724	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	8,9704	
		Límite superior	11,0448	
	Media recortada al 5%	9,9639		
	Mediana	10,1200		
	Varianza	5,192		
	Desv. típ.	2,27864		
	Mínimo	7,02		
	Máximo	13,77		
	Rango	6,75		
	Amplitud intercuartil	4,66		
	Asimetría	,443	,501	
	Curtosis	-1,275	,972	

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
MASTICABILIDAD	,224	21	,007	,874	21	,012

a. Corrección de la significación de Lilliefors



ANOVA

Variable dependiente: MASTICABILIDAD

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo corregido	103,182 ^a	6	17,197	363,462	,000	,994
Intersección	2095,518	1	2095,518	44289,325	,000	1,000
CONCENTRACIÓN	42,511	2	21,255	449,236	,000	,985
TIEMPO	14,347	1	14,347	303,226	,000	,956
CONCENTRACIÓN * TIEMPO	3,063	2	1,532	32,371	,000	,822
Error	,662	14	,047			
Total	2207,045	21				
Total corregida	103,844	20				

a. R cuadrado = ,994 (R cuadrado corregida = ,991)

1. MEDIAS CONCENTRACIÓN

Variable dependiente: MASTICABILIDAD

CONCENTRACIÓN	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
A0	13,523 ^a	,126	13,254	13,793
A1	11,438 ^a	,089	11,248	11,629
A2	9,115 ^a	,089	8,925	9,305
A3	7,712 ^a	,089	7,521	7,902

a. Basada en la media marginal poblacional modificada.

2. MEDIAS TIEMPO

Variable dependiente: MASTICABILIDAD

TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
B0	13,523 ^a	,126	13,254	13,793
B1	10,314 ^a	,073	10,159	10,470
B2	8,529 ^a	,073	8,373	8,684

a. Basada en la media marginal poblacional modificada.

3. MEDIAS INTERACCIÓN CONCENTRACIÓN * TIEMPO

Variable dependiente: MASTICABILIDAD

CONCENTRACIÓN	TIEMPO	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
				Límite inferior	Límite superior
A0	B0	13,523	,126	13,254	13,793
	B1	. ^a	.	.	.
	B2	. ^a	.	.	.
A1	B0	. ^a	.	.	.
	B1	12,750	,126	12,481	13,019
	B2	10,127	,126	9,857	10,396
A2	B0	. ^a	.	.	.
	B1	10,150	,126	9,881	10,419
	B2	8,080	,126	7,811	8,349
A3	B0	. ^a	.	.	.
	B1	8,043	,126	7,774	8,313
	B2	7,380	,126	7,111	7,649

a. Esta combinación de niveles de los factores no tiene observaciones, por lo que la correspondiente media marginal poblacional no es estimable.

CONCENTRACIÓN

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: MASTICABILIDAD

t de Dunnet (<control)

(I)CONCENTRACIÓN	(J)CONCENTRACIÓN	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%
					Límite superior
A1	A0	-2,0850*	,15381	,000	-1,7481
A2	A0	-4,4083*	,15381	,000	-4,0714
A3	A0	-5,8117*	,15381	,000	-5,4747

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = ,047.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

TIEMPO

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: MASTICABILIDAD

t de Dunnet (<control)

(I)TIEMPO	(J)TIEMPO	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%
					Límite superior
B1	B0	-3,2089 [*]	,14501	,000	-2,9170
B2	B0	-4,9944 [*]	,14501	,000	-4,7026

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = ,047.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

ANEXO 2. Proceso de obtención enzimas proteolíticas**2-A** Cáscara de pitahaya picada**2-B** Triturado de cáscara de pitahaya**2-C** Punto isoelectrico para precipitación**2-D** Extracción de sobrenadante



2-E Proteína precipitada



2-F Encapsulación de la proteína



2-G Congelación de la proteína



2-H Secado por liofilización

ANEXO 3. Manejo experimental del experimento con el corte de la carne bovina.



3-A Corte sobrecostillar de res



3-B Unidades experimentales uniforme



3-C Inmersión con enzimas proteolíticas



3-D Análisis Perfil Textura a la carne

ANEXO 4. Análisis fisicoquímicos



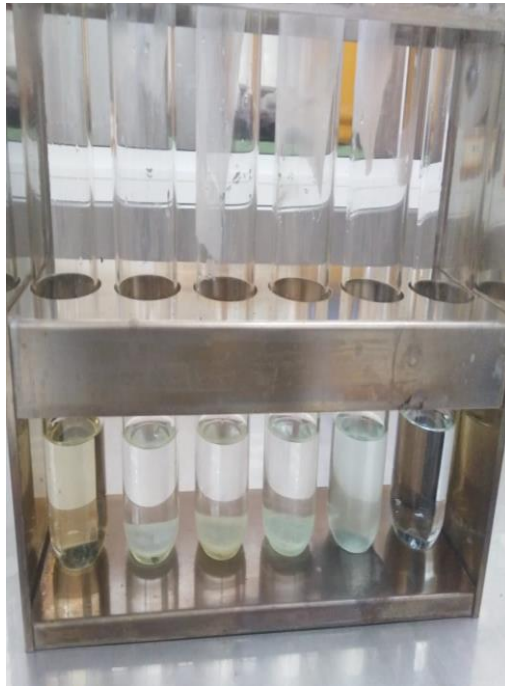
4-A Acidez titulable



4-B Determinación de pH



4-C Evaluación de pH



4-D Determinación de proteína



4-E Titulación análisis de proteínas



4-F Conductividad eléctrica



4-G Análisis humedad y materia seca