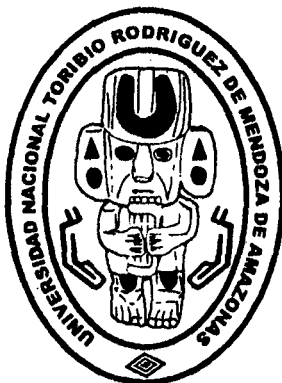
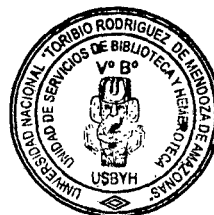


**UNIVERSIDAD NACIONAL
"TORIBIO RODRIGUEZ DE MENDOZA"
DE AMAZONAS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



04 SEP 2014



**"EFECTO DEL TIEMPO DE CONGELACIÓN Y TEMPERATURA DE
LIOFILIZADO DEL LÁTEX DEL FRUTO PAPAYITA DE MONTE (*Carica
Pubescens*) SOBRE SU ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA EN LECHE DE VACA"**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

AUTORES:

Bach: EMILY ESTHER HERRERA LÓPEZ

Bach: LORD KELVIN RUIZ YOPLAC

ASESOR: Ing. Ms. C. ARMSTRONG BARNARD FERNÁNDEZ JERÍ

COASESOR: Ing. POLITO MICHAEL HUAYAMA SOPLA

CHACHAPOYAS – PERÚ

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL

TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE

INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

“EFECTO DEL TIEMPO DE CONGELACIÓN Y TEMPERATURA DE
LIOFILIZADO DEL LÁTEX DEL FRUTO PAPAYITA DE MONTE (*Carica
pubescens*) SOBRE SU ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA EN LECHE DE VACA”

INFORME DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTORES Bach. EMILY ESTHER HERRERA LÓPEZ

Bach. LORD KELVIN RUIZ YOPLAC

ASESOR Ing. Ms.C. ARMSTRONG BARNARD FERNÁNDEZ JERÍ

COASESOR Ing. POLITO MICHAEL HUAYAMA SOPLA

CHACHAPOYAS - AMAZONAS

2014

DEDICATORIA

A Dios:

Por darme la vida y fuerzas de voluntad de seguir cumpliendo con todo mis objetivos.

A mis padres :

Antonio y Margarita por su constante apoyo, cariño y confianza, ellos representan el principal pilar en mi formación profesional ya que gracias a sus sabios consejos me impulsaron a cumplir mis objetivos.

Emily Esther.

LA CONFIANZA, COMO EL ARTE, NUNCA PROVIENE DE TENER TODAS LAS RESPUESTAS, SINO DE ESTAR ABIERTO A TODAS LA PREGUNTAS.

Earl Gray Steven

DEDICATORIA

A Dios:

*De él por haber recibido el regalo más bello de todos,
La vida y mi familia y por darme la oportunidad de
Cumplir satisfactoriamente uno de los muchos planes
que tiene para mí.*

A mis padres:

*Jorge E. por su confianza, apoyo incondicional,
Creer en mí, y gracias a su esfuerzo y cultivados
Consejos pude lograr uno de mis anhelos.
María O. por haberme dejado su mejor legado y aunque
no esté conmigo formar parte de mi superación.*

A mis familiares:

*En especial a mi abuelita **Otilia** por desear lo mejor para mi
Y brindarme su apoyo incondicional.
A mi hermana **Jhaneth** por haber sido siempre mi fortaleza.
A todos mis tíos y tías por haber sido parte de mi formación.*

*EL PRINCIPIO DE LA SABIDURÍA ES EL TEMOR DE DIOS
Y EL CAMINO DE LA VIDA ES HACIA ARRIBA AL ENTENDIDO.*

PROVERBIOS. 1:7; 15:24.

Lord kelvin.

AGRADECIMIENTO

A Dios por iluminar nuestro camino para seguir adelante y lograr culminar este trabajo de investigación con éxito, y permitimos vivir este momento de alegría.

A la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas en especial a los docentes de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial por la calidad educativa que nos entregaron en nuestro periodo de formación, asimismo a los docentes encargados de los laboratorios y a los técnicos encargados de los mismos que nos facilitaron la ejecución de nuestro proyecto de tesis.

A nuestros padres y hermanos que con su amor y apoyo han permitido cumplir nuestros objetivos.

Al Ing. Ms.C. Armstrong Fernández Jeri, por su tiempo, paciencia, dedicación, y conocimientos aportados para el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Al Ing. Polito por su constante dedicación y enseñanza impartida que permitieron el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A todos nuestros amigos por su ayuda, colaboración desinteresada, por sus aportaciones y sugerencias.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

Dr. VICENTE MARINO CASTAÑEDA CHÁVEZ

Rector

Dr. ROBERTO JOSÉ NERVI CHACÓN

Vicerrector Académico

Dr. EVER SALOMÉ LÁZARO BAZAN

Vicerrector Administrativo

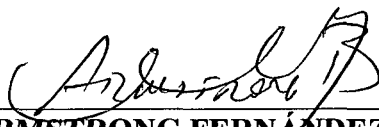
Dr. MIGUEL ÁNGEL BARRENA GURBILLÓN

Decano de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

VISTO BUENO DEL ASESOR

El docente de la UNTRM-A que suscribe, hace constar que ha asesorado el proyecto y la realización de la tesis titulada **“EFECTO DEL TIEMPO DE CONGELACIÓN Y TEMPERATURA DE LIOFILIZADO DEL LÁTEX DEL FRUTO PAPAYITA DE MONTE (*Carica pubescens*) SOBRE SU ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA EN LECHE DE VACA”** presentada por los Bachilleres **EMILY ESTHER HERRERA LÓPEZ** y **LORD KELVIN RUÍZ YOPLAC**, Egresados de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial, de la UNTRM-A, dando el visto bueno y comprometiéndome a orientarlos en el levantamiento de observaciones y en la sustentación de la tesis.

Se expide la presente, a solicitud del interesado, para los fines que estime conveniente.

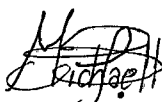


Ms.C. ARMSTRONG FERNÁNDEZ JERI
Docente UNTRM-A

VISTO BUENO DEL COASESOR

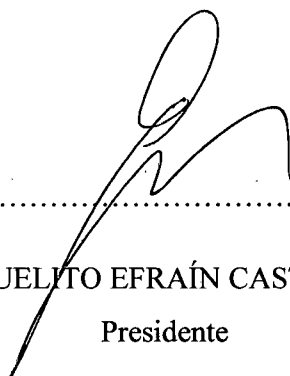
El docente de la UNTRM-A que suscribe, hace constar que ha coasesorado el proyecto y la realización de la tesis titulada “**EFFECTO DEL TIEMPO DE CONGELACIÓN Y TEMPERATURA DE LIOFILIZADO DEL LÁTEX DEL FRUTO PAPAYITA DE MONTE (*Carica pubescens*) SOBRE SU ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA EN LECHE DE VACA**” presentada por los Bachilleres **EMILY ESTHER HERRERA LÓPEZ** y **LORD KELVIN RUÍZ YOPLAC** , Egresados Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial, de la UNTRM-A, dando el visto bueno y comprometiéndome a orientarlos en el levantamiento de observaciones y en la sustentación de la tesis.

Se expide la presente, a solicitud del interesado, para los fines que estime conveniente.



ING. POLITO MICHAEL HUAYAMA SOPLA
Docente UNTRM-A

JURADO EVALUADOR



.....

Ing. MANUELITO EFRAÍN CASTRO ALAYO
Presidente



.....

M. Sc. ELENA VICTORIA TORRES MAMANI
Secretaria



.....

Ing. ERICK ALDO AUQUIÑIVÍN SILVA
Vocal



UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS

FACULTAD DE Ingeniería y Ciencias Agrarias

ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Chachapoyas, el día 7 de Agosto del año 2014, siendo las 10:00 horas, se reunieron los integrantes del Jurado conformado por:

Presidente: Manuelito Espino Castro Alayo

Secretario: Elena Victoria Torres Mamani


Vocal: Exick Aldo Aquino Silva

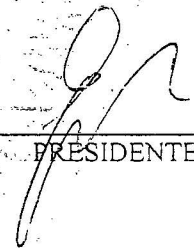
para evaluar la Sustentación del Informe de Tesis presentado por el(la) bachiller, don(ña) Emily Esther Herrera López


titulado Efecto del tiempo de congelación y temperatura de congelado del látex del fruto-papayita de monte (Carica pubescens) sobre su actividad proteolítica en leche de vaca

Después de la sustentación respectiva, el Jurado acuerda la APROBACIÓN (), DESAPROBACIÓN () por mayoría (), por unanimidad (); en consecuencia, el (la) aspirante puede proseguir con el trámite subsiguiente, de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la UNAT-A.

Siendo las 12:00 horas del mismo día, el Jurado concluye el acto de sustentación del Informe de Tesis.


SECRETARIO


PRESIDENTE


VOCAL

Form6- T



UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS

FACULTAD DE Ingeniería y Ciencias Agrarias

ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Chachapoyas, el día 7 de Agosto del año 2014, siendo las 10:00 horas, se reunieron los integrantes del Jurado conformado por:

Presidente: Manuelito Espino Castro Alayo

Secretario: Elena Victoria Torres Nambur

Vocal: Erick Aldo Alvarado Silva

para evaluar la Sustentación del Informe de Tesis presentado por el(la) bachiller, don(ña) Lorel Kelvin Ruiz Yopac

titulado Efecto del tiempo de congelación y temperatura de liofilizado del látex del fruto papayita de monte (Carica pubescens) sobre su actividad proteolítica en leche de vaca

Después de la sustentación respectiva, el Jurado acuerda la APROBACIÓN (), DESAPROBACIÓN () por mayoría (), por unanimidad (); en consecuencia, el (la) aspirante puede proseguir con el trámite subsiguiente, de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la UNAT-A.

Siendo las 12:00 horas del mismo día, el Jurado concluye el acto de sustentación del Informe de Tesis.


SECRETARIO


PRESIDENTE


VOCAL

Form6- T

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	iii
AUTORIDADES UNIVERSITARIAS	iv
VISTO BUENO DEL ASESOR	v
VISTO BUENO DEL COASESOR	vi
JURADO EVALUADOR	vii
ÍNDICE GENERAL	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xvii
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	xx
RESUMEN	xxi
ABSTRACT	xxii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Generalidades de la papayita de monte (<i>Carica pubescens</i>)	2
1.2. Generalidades del látex	4
1.3. Liofilización	6
1.3.1. Proceso de liofilización	7
1.4. Actividad proteolítica	11
1.4.1. Factores que afectan la actividad proteolítica	12
1.5. Método modificado de kunitz	13
1.5.1. Determinación espectrofotométrica	13
1.5.2. Unidades enzimáticas	14

II. MATERIAL Y MÉTODOS	16
2.1. Materia prima	16
2.2. Caracterización biométrica y física del fruto papayita de monte	16
2.3. Análisis fisicoquímico de la materia prima e insumos empleado	16
2.4. Procedimiento de extracción de látex del fruto papayita de monte	17
2.5. Consideraciones en el procedimiento de liofilizado	19
2.6. Procedimiento de liofilizado de látex del fruto papayita de monte	19
2.7. Diseño experimental para obtener látex liofilizado de papayita de monte con máxima actividad proteolítica	21
III. RESULTADOS	23
3.1. Características biométricas y físicas del fruto de papayita de monte	23
3.2. Características fisicoquímicas del fruto y látex de papayita de monte	23
3.3. Proceso de liofilizado del látex crudo, extraído del fruto papayita de monte	24
3.4. Características fisicoquímicas del sustrato	26
3.5. Actividad proteolítica del látex liofilizado, extraído del fruto papayita de monte	24
3.6. Modelo matemático para la cuantificación de la actividad proteolítica del látex liofilizado extraído del fruto papayita de monte	28
3.7. Rendimiento en el proceso de obtención de látex liofilizado, extraído del fruto papayita de monte	30
3.8. Características fisicoquímicas del látex liofilizado, extraído del fruto papayita de monte	30
3.9. Curva de actividad proteolítica para el mejor tratamiento	31

3. DISCUSIÓN	32
4. CONCLUSIONES	36
5. RECOMENDACIONES	37
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXOS	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición del fruto de papayita de monte	3
Tabla 2. Características de algunas enzimas presentes en el látex del género Caricacea	5
Tabla 3. Esquema experimental de los tratamientos	21
Tabla 4. Características biométricas del fruto de papayita de monte	23
Tabla 5. Composición porcentual del fruto de papayita de monte	23
Tabla 6. Características fisicoquímicas del fruto y látex de la papayita de monte	23
Tabla 7. Características fisicoquímicas de la leche entera	26
Tabla 8. Análisis microbiológico de la leche entera, prueba azul de metileno (Reductasimetría)	26
Tabla 9. Actividad proteolítica en UTP del látex del fruto papayita de monte liofilizado según los tratamientos	27
Tabla 10. Ecuaciones lineales de las lecturas de absorbancia correspondiente a los parámetros estudiados en función de la concentración de papaína	29
Tabla 11. Características fisicoquímicas de látex liofilizado que presento máxima actividad proteolítica	30
Tabla 12. Datos biométricos y físicos del fruto de papayita de monte	45
Tabla 13. Datos de la composición porcentual del fruto de papayita de monte	46
Tabla 14. Interpretación de los resultados del test de azul de metileno	53
Tabla 15. Actividad proteolítica en UTP del látex del fruto papayita de monte, liofilizado según los tratamientos	57
Tabla 16. Esquema del análisis de varianza: Cuadro ANOVA	58
Tabla 17. Comparación de los tratamientos del factor A (temperatura de liofilizado) y factor B (velocidad de congelado), nivel de significancia de 0,05 (Tukey)..	58

Tabla 18. Representación de los grupos homogéneos	60
Tabla 19. Datos de absorbancia a una longitud de onda 280 nm, evaluados en muestras con diferentes concentraciones de papaína según tratamiento	61
Tabla 20. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1)	62
Tabla 21. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1	62
Tabla 22. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1)	62
Tabla 23. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2)	63
Tabla 24. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2)	63
Tabla 25. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2)	63
Tabla 26. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1)	64
Tabla 27. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1)	64
Tabla 28. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1)	64
Tabla 29. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2	65
Tabla 30. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2)	65

Tabla 31. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2)	65
Tabla 32. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1)	66
Tabla 33. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal	
(T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1)	66
Tabla 34. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1)	66
Tabla 35. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2)	67
Tabla 36. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2)	67
Tabla 37. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2)	67
Tabla 38. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1)	68
Tabla 39. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1)	68
Tabla 40. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1)	68
Tabla 41. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2)	69
Tabla 42. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2)	69

Tabla 43. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2)	69
Tabla 44. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1)	70
Tabla 45. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1)	70
Tabla 46. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1)	70
Tabla 47. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2)	71
Tabla 48. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2)	71
Tabla 49. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2)	71
Tabla 50. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1)	72
Tabla 51. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1)	72
Tabla 52. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1)	72
Tabla 53. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2)	73
Tabla 54. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2)	73

Tabla 55. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2)	73
Tabla 56. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1)	74
Tabla 57. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1)	74
Tabla 58. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1)	74
Tabla 59. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2)	75
Tabla 60. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2)	75
Tabla 61. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2)	75
Tabla 62. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1)	76
Tabla 63. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1)	76
Tabla 64. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1)	76
Tabla 65. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2)	77
Tabla 66. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2)	77

Tabla 67. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2)	77
Tabla 68. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1)	78
Tabla 69. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1)	78
Tabla 70. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1)	78
Tabla 71. Resumen del modelo de regresión lineal	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2)	79
Tabla 72. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal.	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2)	79
Tabla 73. Coeficientes de la ecuación lineal	
(T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2)	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de fases del agua pura	6
Figura 2. Diagrama de bloques para la obtención del látex	18
Figura 3. Diagrama de flujo para la liofilización del látex	20
Figura 4. Curva de secado del látex de papayita de monte liofilizada a una temperatura de 50 °C para tiempos de congelación de 8, 12 y 16 horas	24
Figura 5. Curva de secado del látex de papayita de monte liofilizada a una temperatura de 55 °C para tiempos de congelación de 8, 12 y 16 horas	25
Figura 6. Curva de secado del látex de papayita de monte liofilizada a una temperatura de 60 °C para tiempos de congelación de 8, 12 y 16 horas	25
Figura 7. Actividad proteolítica (UTP) del látex liofilizado, obtenido por cada tratamiento estudiado	27
Figura 8. Curva de actividad proteolítica del látex para el tratamiento (T=55°C; Θ = 12h)	31
Figura 9. Balance de materia para la obtención de 10 g de látex liofilizado de papayita de monte	47
Figura 10. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1)	62
Figura 11. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2)	63
Figura 12. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1)	64
Figura 13. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2)	65

Figura 14. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1)	66
Figura 15. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2)	67
Figura 16. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1)	68
Figura 17. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2)	69
Figura 18. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1)	70
Figura 19. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2)	71
Figura 20. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1)	72
Figura 21. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2)	73
Figura 22. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1)	74
Figura 23. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2)	75
Figura 24. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1)	76
Figura 25. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2)	77

Figura 26. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS ($T_1 = 60\text{ }^\circ\text{C}$, $\Theta_1 = 16\text{h}$, Repetición 1)	78
Figura 27. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS ($T_1 = 60\text{ }^\circ\text{C}$, $\Theta_1 = 16\text{h}$, Repetición 2)	79

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Equipo Liofilizador del Laboratorio de Ingeniería de la UNRTM - AMAZONAS	80
Fotografía 2. Frutos de papayita de monte en sus diferentes estados de Maduración	80
Fotografía 3. Lavado de la papayita de monte	81
Fotografía 4. Selección y clasificación de la papayita de monte	81
Fotografía 5. Extracción del látex a partir de la papayita de monte	81
Fotografía 6. Congelación del látex extraído	82
Fotografía 7. Liofilización del látex	82
Fotografía 8. Pulverización del látex liofilizado	82
Fotografía 9. Envasado del látex liofilizado	82
Fotografía 10. Solución de látex	83
Fotografía 11. Muestras de látex y sustrato de leche de vaca en baño maría	83
Fotografía 12. Muestras de látex en sustrato de leche de vaca hidrolizadas con TCA	83
Fotografía 13. Centrifugación de la solución para realizar las lecturas de absorbancia	84
Fotografía 14. Lectura de absorbancia a 280 nm de la solución centrifugada para determinar las UTP	84

RESUMEN

En la presente investigación se estudió el efecto del tiempo de congelación y temperatura de liofilizado del látex del fruto papayita de monte (*Carica pubescens*) para obtener látex liofilizado con mayor actividad proteolítica, para lo cual se recolectaron frutos de papayita de monte provenientes de la provincia de Luya distrito de San Juan de Lopecancha, región Amazonas. Para la extracción del látex se realizaron incisiones de 2 a 3 mm de espesor a la cutícula del fruto, se sometieron a un proceso de congelación a tres tiempos 8, 12 y 16 horas y tres temperaturas de liofilizado 50; 55 y 60 °C, después de liofilizar se pulverizó y se determinó la cantidad de UTP haciendo uso de un sustrato rico en proteína la leche de vaca, para esta prueba se siguió el método modificado de kunitz ; se realizaron las lecturas correspondientes a la absorbancia para diseñar un modelo matemático y determinar la UTP. Se empleó un experimento factorial del tipo 3A x 3B bajo un DCA con 2 repeticiones para determinar la mayor cantidad de UTP, se efectuó el análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple Tukey al 95 % de confianza. La mayor cantidad de UTP (0,0149 UTP/g muestra – min) del látex del fruto papayita de monte se obtuvo empleando una temperatura de liofilizado a 55 °C y 12 h de tiempo de congelado, con estas condiciones el tiempo de secado fue en 3h 40 minutos. De este látex se realizó el análisis fisicoquímico dando como resultado 10,4 % de humedad, pH 7,6; de acidez total titulable 1,76 %; sólidos solubles totales 30 ° Brix y 1,2 % de cenizas. Las ecuaciones que representan en función lineal para todas las temperaturas y tiempos de congelado ensayadas, cuyos datos experimentales se procesaron en el software SPSS 15.0 para Windows.

Palabras claves: liofilizado, látex, papayita de monte, Unidades tríplicas de papaína (UTP).

ABSTRACT

In this research project, studies were made to verify the effect of dry-freezing the sap of the papayita de monte fruit (*Carica pubescens*), and how it corresponds to the breaking down of proteins into smaller compounds. The fruits were collected from the Luya province, San Juan de Lopecancha district, Amazonas region. For the extraction of the sap, incisions of 2mm – 3mm wide were made to the cuticle of the fruit. The fruits were then subjected to a freezing process three times: 8 hours, 12 hours, and 16 hours. They were also subjected to three temperatures of lyophilization (dry freezing): 50 °C, 55 °C, and 60 °C, after lyophilization, the fruits were pulverized to determine the amount of UTP similar to rich substrate of protein found in cow's milk being used. A test was modified to closer follow the Kunitz Method for this experiment. Corresponding to these readings, a mathematical model was designed to determine the amount of UTP in the papayita de monte fruit. A factorial experiment of type 3A x 3B under a DCA with 2 repetitions was employed determine the highest amount of UTP being used. The analysis of variance and a multiple comparison Tukey range test at 95 % confidence was carried out. The majority of the UTP (0.0149 UTP/g samples – minite) from the sap of the papayita de monte fruit was obtained by using a temperatura of 55 °C and lyophilized to freeze for 12 hours, under these conditions, the drying time was 3 hours 40 minutes. The physicochemical characteristics of the sap are as follows: 10,4 % humidity, 1,76 % titratable acidity, 30 ° Brix, 1,2 % ash, and a 7,6 on the pH scale. The equations representing liner function of all of tested data for temperaturas and times frozen of this experiment were processed using the SPSS 15.0 software for Windows.

Keywords: lyophilized, latex, papayita mount, tryptic units papain (UTP).

INTRODUCCIÓN

La Región Amazonas posee gran diversidad de especies nativas dentro de las cuales destaca la papayita de monte (*Carica pubescens*), esta se encuentra de manera natural, no posee ningún manejo agronómico por lo que está exento de agentes químicos, sus frutos son consumidos en frescos sin darle ningún tipo de procesamiento y comercialización en el mercado local, lo cual implica que los precios sean relativamente bajos.

En los últimos años las nuevas tendencias de uso del látex de papaya, debido a que la enzima papaína es empleada en diversas áreas como la alimentaria, farmacéutica, textil y entre otras, quienes aprovechan al máximo la elaboración de una amplia gama de productos de alto consumo por la sociedad; crean la necesidad de adoptar nuevas prácticas agronómicas para la siembra de áreas de cultivo, beneficiando a los sectores productores para reducir las cadenas intermediarias, obteniendo precios estables y mayores ingresos económicos.

El empleo de la papayita de monte para la producción de papaína favorece el eco desarrollo, promoviendo el desarrollo de la región, al utilizar racionalmente los recursos naturales con estilos tecnológicos y formas de organización que respetan los patrones sociales y culturales, fortaleciendo el sector agroindustrial, incentivando a la creación de industrias dedicadas a la extracción y conservación del látex a partir de los frutos nativos de la región Amazonas.

Una enzima de gran interés lo constituye la papaína. Esta enzima tiene un sinnúmero de aplicaciones en la industria alimenticia como son: En la tenderización, ablandamiento de carne y en la clarificación de cerveza, así como tiene un gran uso en otros tipos de industrias como la farmacéutica por sus propiedades digestivas y en la industria cosmética por su poder desmanchador y cicatrizante. La importancia económica de esta

enzima es considerable puesto que representa las dos terceras partes del mercado de enzimas. (Cano, Martínez *et.al*)

Se estimó conveniente realizar el trabajo de investigación para la conservación de látex de papayita liofilizada, en la provincia de Chachapoyas, para aprovechar de forma eficiente las cualidades del concentrado con papaína, mediante métodos modernos de extracción y conservación del látex, obteniendo un producto liofilizado que conserve su actividad proteolítica, evaluando las mejores condiciones del tiempo de congelación y temperatura de liofilizado. Determinar la actividad proteolítica de papaína liofilizada obtenida a partir de papayita de monte, se utilizó un sustrato que permite coagular proteínas, bajo estas condiciones de uso se utilizó un método moderno que cuantifica unidades trípticas de papaína (UTP), denominado el método de Kunitz, este método utiliza un sustrato rico en caseína siendo el caso de la leche de vaca, asimismo este siendo de mayor alcance y adecuándose a las condiciones del método.

Con esta investigación se brinda un método adecuado de obtención de látex liofilizado de papayita de monte que conserve sus propiedades proteolíticas, repercutiendo esto en incentivar a los agricultores de la provincia de Amazonas para cultivar dicha especie a gran escala, mejorando su calidad de vida.

1.1. Generalidades de la papayita de monte (*Carica pubescens*)

También conocida como: Papaya de montaña, la papaya arequipeña, la papaya de Altura, es una especie nativa de los Andes en el noroeste de América del Sur, por lo general crece a una altitud de 1.500 – 3.000 msnm, es un árbol muy similar al de la papaya común, de hoja perenne, crece hasta 10 metros (33 pies) de altura, es muy resistente tolerante a heladas ligeras y prolongada sequía, con producción máxima entre noviembre y febrero. (Vega y Lemus, 2006).

Los frutos son ovoides de 6-15 cm de largo y 3-8 cm de ancho, con cinco costillas longitudinales amplios desde la base hasta el ápice. El fruto es pequeño y firme, con pulpa de color verde amarillo convirtiéndose en amarillo o naranja en la madurez. Tiene un rendimiento comestible del 46% y un contenido de azúcar de 5%, además se caracteriza principalmente por su alto contenido en papaína (Vega y Lemus, 2006). Su clasificación taxonómica se presenta a continuación.

Reino	: Plantae
División	: Angiospermae
Clase	: Eudicots
Subclase	: Rosids
Orden	: Brassicales
Familia	: Caricaceae
Género	: Carica
Especie	: Carica pubescens

Tabla 1. Composición del fruto de papayita (*Carica monoica*)

Contenido	Pulpa fresca (g/100g)
Humedad	90.70
Proteína	1.32
Grasa	0.14
Ceniza	2.15
Fibra	4.93
Carbohidratos	5.69
Vitamina C	0.053
Papaína	0.353
Kilocalorías (kcal)	29.30

Fuente: Muñoz, (2006)

1.2. Generalidades del látex

El látex es un fluido lechoso compuesto por un suero líquido que contiene en suspensión o en solución, una mezcla compleja de componentes y moléculas orgánicas como enzimas, terpenos, alcaloides, vitaminas, carbohidratos, lípidos y aminoácidos libres (Morcelle *et al*; 2004). Los botánicos designan el látex como el citoplasma de los laticíferos las células vivas especializadas que lo contienen y por lo tanto, presenta una variedad de organelas celulares, como núcleos, mitocondrias, ribosomas, plastidios, vacuolas, aparato de Golgi y retículo endoplasmático, (Moussaqui *et al*; 2001). Los laticíferos se encuentran bajo presión positiva, por lo cual, una incisión sobre éstos, resulta en una rápida emisión del látex hacia el exterior (Huang *et al*; 2003).

El látex se obtiene de diferentes frutos, un tipo es de papaya (*Carica papaya*), una vez seco es conocido como papaína cruda; se aplica indistintamente el término papaína. A todo el látex, pese a que éste contiene diferentes fracciones de enzimas proteolíticas y lisozomas.

La papaína es empleada en varias industrias de gran importancia, como en la industria cervecera, para la prueba de enfriamiento de la cerveza, elaboración de cueros, detergentes, elaboración de quesos, panes y en preparados de proteínas modificadas para alimentación de efluentes industriales (Glibota *et al*; 2000).

De acuerdo con la unión internacional de bioquímica y biología molecular (UIBBM), las proteasas reciben el código EC-3.4, por ser hidrolasas que catalizan la ruptura de enlaces peptídicos (Adams y Mooss, 2000).

Las proteasas conocidas también como peptidasas o enzimas proteolíticas, catalizan reacciones de hidrólisis, que rompen los enlaces peptídicos de las

proteínas y dan como resultado péptidos más pequeños o aminoácidos libres (Sinche, 2009).

La EC (NC- IUBNM; 1992) divide las peptidasas en exo- y endopeptidasas. Las exopeptidasas pueden, a su vez, ser amino- o carboxipeptidasas. Las endopeptidasas son clasificadas por dicha comisión en base al mecanismo catalítico en serínicas (EC 3.4.21), cisteínicos (EC 3.4.22), apárticos (EC 3.4.23) y metaloendopeptidasas (EC 3.4.24).

Las cisteína proteínas poseen un grupo cisteíno en su sitio activo. Suelen ser activadas mediante el empleo de agentes reductores, como el ácido cianhídrico (HCN) o la cisteína. En su mayoría, estas enzimas presentan una actividad óptima a valores ácidos o neutros de pH (Grudkowska y Zagdanska, 2004).

Este grupo incluye más de 40 familias de enzimas, agrupadas en 6 super familias o clanes. En el reino vegetal, las cisteína proteinasas se encuentran en las plantas de las familias *Caricaceae*, *Bromeliaceae* y *Moraceae*.

Dentro de las cisteíno proteinasa, se incluyen algunas enzimas de notable importancia industrial, como la papaína, la quimopapaína, bromelina y la ficina.

Tabla 2. Características de algunas enzimas presentes en el látex del género *Caricacea*

Enzima	Peso molecular	Punto isoelectrico	Concentración en el látex (%)
Papaína	21000	8.75	10
Quimopapaína	36000	10.3	45
Lizosima	25000	10.5	20

Fuente: (Reed, 1966)

1.3. Liofilización

La liofilización es un proceso basado en la separación de agua por sublimación (Rothmayr, 1975). La sublimación es la transformación directa del hielo a gas sin pasar a través del estado líquido, ocurre cuando la presión de vapor y la temperatura de la superficie del hielo se encuentran por debajo del punto triple del agua (4.58 mm Hg, 0° C), tal ver Figura 1 (Karel, 1975).

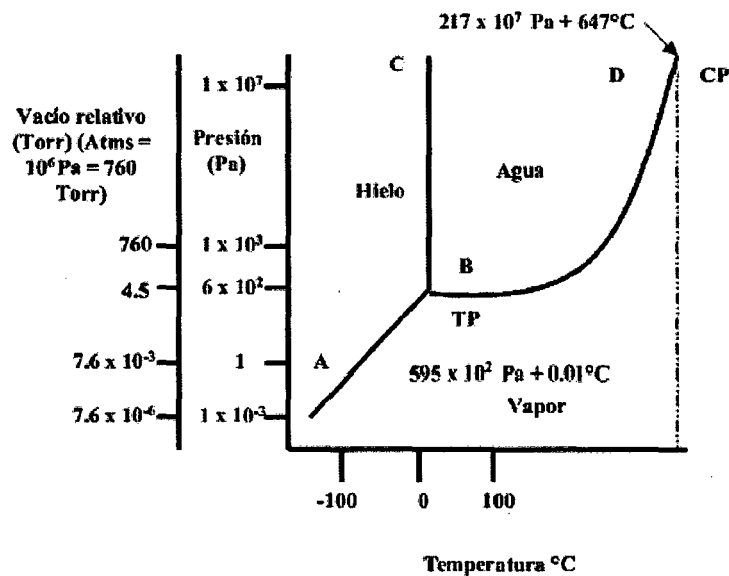


Figura 1. Diagrama de fases del agua pura.

El diagrama de fases de la Figura 1, está separado por líneas en tres regiones, las cuales representan el estado sólido, líquido y gaseoso del agua pura. El segmento (A – B) representa el equilibrio sólido – gas, y es la zona en donde se realizan la liofilización, la línea (B – D) representa el equilibrio líquido – gas (evaporación), y la (B – C) representa el equilibrio líquido – sólido (fusión). El punto de intersección de las líneas TP representa el llamado Punto Triple del Agua en el cuál los tres estados se encuentran en equilibrio, y tiene un único valor para presión y temperatura siendo un punto de referencia el cual en la escala Celsius es definida (0°C) (Goff, 1992).

Cuando se congela una solución acuosa una serie de transformaciones físicas entran en juego, como es el fenómeno secundario de cristalización unido a la formación de eutectoides, rigidez de una parte del material en una estructura amorfa y finalmente la persistencia de una cierta cantidad de agua en forma no congelada.

Precisamente en el intervalo de temperaturas denominado zona de eutexia, en el que se consigue el máximo grado de solidificación, es el que se considera adecuado para efectuar el proceso de liofilización. La liofilización contrasta con los métodos más convencionales en donde el agua es eliminada por evaporación. En este proceso es de interés una adecuada congelación, además es conveniente que el producto mantenga un adecuado estado de rigidez (Wolti, 1985).

Tal y como se ha mencionado previamente, estas condiciones de presión y temperatura a las cuales se realiza la liofilización reducen al mínimo el arrastre de sustancias y el daño a la estructura del producto, obteniéndose la pérdida de peso y preservación de los productos deseables, pero manteniendo el contenido y distribución de los componentes en su interior, ya que un producto liofilizado tiene una alta estructura rígida, una alta capacidad de rehidratación y una baja densidad por lo que mantiene las propiedades iniciales de un alimento fresco como son: apariencia, forma, sabor y color (Wolti *et al*; 2004).

1.3.1. Proceso de liofilización

El proceso de liofilización consiste en introducir el producto congelado o sin congelar a tratar en una cámara, y aplicar vacío rápidamente. Debido a la disminución de presión, el agua contenida en el material se sublima; a continuación se comienza a calentar, manteniendo el vacío, para aumentar la velocidad de sublimación del hielo. Los niveles de vacío y de

temperatura de calentamiento varían según el producto a tratar. Para obtener resultados óptimos, es muy importante tener un buen sistema de congelación, de forma de no dañar las estructuras internas de los productos durante la formación de los cristales de hielo, lo que produce pérdida de textura durante la rehidratación (Lombraña *et al*; 2001).

El proceso de liofilización consta de tres etapas:

a. Pre congelación: La liofilización es un cambio de estado de la fase sólida a la fase gaseosa. Para que el material sea liofilizado debe ser primeramente congelado. El método de congelación y temperatura final del alimento congelado pueden afectar la calidad del material liofilizado (Wolti *et al*, 2004).

En la sublimación, los espacios grandes y pequeños formados durante la congelación, facilitarán la difusión del agua, en alimentos sólidos y alimentos que tengan estructura como gel o celular, los cristales individuales son separados de otros ocasionando que no se forme una estructura porosa. Estos espacios funcionan como difusores de vapor en el alimento seco, pero pueden llegar a atenuar la influencia negativa en las características finales del producto (Heldman y Hartel, 1997).

La forma de congelar un alimento depende de: la estructura del alimento y los niveles de temperatura para formar un estado vítreo durante el proceso de congelamiento. Con respecto a su estructura, los alimentos a ser liofilizados deben tener un porcentaje alrededor del 70%, que en este caso el agua es el solvente y los materiales disueltos el agua son los solutos. La mayoría de las muestras a ser liofilizadas se deben de encontrar por debajo del punto eutéctico, en este momento el

agua al cambiar a su estado sólido en el proceso de congelación se separa de los solutos creando áreas de mayor concentración de sólidos. Los solutos tendrán un menor punto de congelación menor que el del agua, sin embargo un alimento no se considerará completamente congelado hasta que todas las mezclas de solutos lleguen a la temperatura eutéctica que es la temperatura en la cual el alimento se encuentran completamente congelado (Sahagian y Douglas, 1996).

El segundo aspecto de congelación a considerar es: a qué temperatura se logra la formación del estado vítreo durante el proceso, al irse congelando la suspensión llega a aumentar su viscosidad a la vez que su temperatura es disminuida, para que finalmente el producto congelado en la temperatura de transición vítrea forme un sólido vítreo (Blond y Le Meste, 2004; Sahagian y Douglas, 1996).

- b. Secado primario o sublimación:** Después de la congelación del producto, se deben establecer las temperaturas de secado las cuales permiten remover el hielo por sublimación. La velocidad de sublimación del hielo en el producto congelado, depende sobre todo, de la diferencia existente entre el vapor de presión del producto y la presión de vapor del condensador lo que ocasiona la sublimación del hielo, normalmente se han utilizado presiones de 1 a 2 mmHg para liofilizar un alimento (Heldman y Hartel, 1997).

Una vez que el producto congelado se introduce a la cámara del liofilizador es calentado bajo condiciones de vacío, para remover el hielo por sublimación, tratando de conservar al producto a lo largo del

proceso por debajo de su temperatura eutéctica (Heldman y Hartel, 1997).

El proceso de desorción en la capa seca afecta la cantidad de calor que llega en la interfase de la sublimación, además de repercutir en la velocidad del proceso. El vapor de agua producido por la sublimación del agua congelada, y por la desorción de humedad en la capa seca durante el secado primario, es transportado por difusión a través de la estructura porosa del material seco (Liapis *et al*; 1996).

La duración del secado primario depende varios factores como la temperatura de las placas calefactoras, características del sistema de refrigeración, espesor del producto, humedad del producto y otros, todos los factores se deben manejar de tal forma que se pueda minimizar el tiempo de duración del proceso y maximizar la velocidad de sublimación en la interfase de la capa seca. Un buen manejo de dichos factores permitirá un proceso de secado constante, obteniendo un producto de calidad óptima (Liapis *et al*; 1996).

- c. El secado secundario o evaporación:** Incluye la remoción de la humedad desde la capa seca del producto es decir, el agua que no está congelada.

El agua no congelada es absorbida en la superficie por los solutos cristalinos, ocasionando una hidratación de ellos, u por consiguiente los solutos disuelven las partículas sólidas amorfas, las características antes mencionadas caracterizan al secado secundario como etapa final del secado primario. Los objetivos a cumplir en esta etapa son:

- 1) Minimizar el tiempo de duración del secado sin perder la estructura y estabilidad química del alimento a liofilizar.
- 2) Proveer una estabilidad al producto seco durante su almacenamiento (Liapis *et al*; 1996).

1.4. Actividad proteolítica

La actividad proteolítica es la capacidad de una enzima proteolítica a digerir las proteínas de los alimentos, dependerá del tipo de sustrato en la que se activará, al activarse en leche genera una coagulación enzimática, principalmente el componente proteico de la leche, es desnaturalizada por acción de la enzima.

La caseína se encuentra en la leche en forma de partículas coloidales de fosfocaseinato de calcio. Estas partículas se encuentran en equilibrio en el seno de la leche como micelas dispersas en fase líquida. Este equilibrio metaestable es alterable por cambio en la estructura proteica de la caseína, cambio que se da por acción de enzimas específicas (Alais, 1984).

La efectividad o potencia de una enzima es más útilmente expresada en términos de actividad. Cuando es posible ésta es expresada en Unidades de Actividad las cuales se definen en términos del peso de sustrato transformado en producto, en un tiempo determinado. En el caso de la papaína, que es una enzima hidrolítica, una unidad de actividad es la cantidad de enzima que cataliza la hidrólisis de un mol de sustrato en un minuto. (Boyer y Paul, 1970).

Actualmente hay tres tipos comunes de ensayos utilizados para medir la actividad de la papaína. (Boyer y Paul, 1970):

- a. El método que se basa en la hidrólisis de moléculas de bajo peso molecular de sustratos sintéticos; estos métodos son los más exactos, más caros y menos pertinentes para las aplicaciones prácticas.

- b. El método que se basa en el grado de hidrólisis de sustratos proteínicos; existen una gran variedad de éstos métodos más útiles y confiables siempre que se especifiquen la naturaleza y fuente de proteína usada así como las condiciones en que se lleva a cabo el ensayo.
- c. Los métodos que se basan en la habilidad de la enzima coagular la leche, estos métodos son los más baratos en término de materiales, pero no en el tiempo que se toman: se expresan los resultados en unidades de coagulación de leche (m.c.u=milk clotting unites). Sin embargo existe otro método como el método modificado de Kunitz el cual se aplicara en la presente investigación.

1.4.1. Factores que afectan la actividad proteolítica

Coagulación: Debido a la naturaleza proteica y a la presencia de peptones y abuminoides en el látex fresco, éste tiende a coagular después de su extracción.

Cambios de pH: Una de las peculiaridades de la papaína, es que mantiene su actividad proteolítica en un amplio margen de pH, desde pH 3 hasta pH 12, presentando mayor actividad a pH entre 5 y 6. El pH óptimo para que la enzima actúe, depende del tipo de sustrato sobre el cual ejerce su acción, ya que coincide con el punto isoeléctrico del sustrato.

Entre los agentes amortiguadores más utilizados se encuentran: citrato de sodio y potasio, fosfato de sodio o potasio.

Oxidación por luz: Se inactiva con luz ultra violeta, oxidándose rápidamente por exposición a los rayos solares oxígeno.

Sistema de secado: Al ser la papaína un componente fácilmente alterado por agentes tales como oxígeno, la luz solar y la temperatura, el sistema de secado determina la calidad de la enzima. El secado al vacío, rinde un

producto de alta actividad proteolítica, blanca, cremoso. Su actividad es mayor debido a que durante el proceso de secado, el producto no está en contacto con el aire.

1.5. Método modificado de Kunitz

Es un método que se basa en el grado de hidrólisis de sustratos proteínicos; se basa en una solución de enzima incubada, bajo condiciones estándar con caseína desnaturalizada. La reacción es detenida por la adición de ácido tricloroacético (TCA).

La proteína no hidrolizada es precipitada por TCA añadido. El precipitado es removido por filtración y la absorbancia de la capa sobrenadante es medida espectrofotométricamente a 280 nm. El incremento de la absorbancia a 280 nm, después de la incubación es una medida de la actividad enzimática.

(Ortega y catillo, 1966).

1.5.1. Determinación espectrofotométrica

Entre los métodos utilizados para la determinación de la concentración de proteína, se encuentra el método de absorción UV a 280 nm. Este método permite estimar cuantitativamente dicha concentración en una muestra, puesto que las proteínas poseen un máximo de absorción aproximadamente a una longitud de onda de 280 nm, debido a la presencia del aminoácido aromático, fundamentalmente tirosina y triptófano (Yañez, 2006).

En una muestra que contiene proteínas, el solvente debe absorber la luz a 280 nm y la solución debe ser clara e incolora. La turbidez puede producir resultados erróneos, entonces, para emplear este método de manera confiable, puede ser necesario realizar un proceso de filtrado, de centrifugación o de dilución de la muestra.

1.5.2. Unidades enzimáticas

La actividad enzimática es una medida de la cantidad de enzima activa presente y del nivel de actividad de la misma, por lo que su medida es dependiente de las condiciones de trabajo que deben ser especificadas cuando se dan valores de actividad. En la presente investigación se cuantifico la actividad proteolítica en unidades tríplicas de papaína, que se define como la cantidad de enzima necesaria para aumentar una unidad de absorbancia a 280 nm por minuto de digestión.

En la presente investigación, se persiguió ofrecer una alternativa para el aprovechamiento del látex del fruto papayita de monte, liofilizándolo para incrementar su vida útil y posteriormente utilizarlo en el campo de la industria.

Para ello se plantearon los siguientes objetivos:

- Realizar la caracterización biométrica y análisis fisicoquímicos de los frutos de papayita de monte.
- Cuantificar la actividad proteolítica del látex del fruto papayita de monte en unidades tríplicas de papaína (UTP), mediante el método de Kunitz.
- Determinar el tiempo de congelación y temperatura de liofilizado del látex del fruto papayita de monte que permita una máxima actividad proteolítica en la leche de vaca.
- Determinar e interpretar las curvas de liofilizado de látex del fruto papayita de monte.
- Determinar el rendimiento de látex liofilizado obtenido a partir de frutos de papayita de monte.
- Realizar los análisis fisicoquímicos de látex liofilizado obtenido con los parámetros óptimos para su actividad proteolítica.

II. MATERIAL Y METODOS

2.1. Materia prima

Se empleó frutos de papayita de monte (*Carica pubescens*) en su estado de madurez verde con un índice de madurez de 5,2; proveniente del distrito de San Juan de Lopecancha, provincia de Iyá, Región Amazonas. Los análisis fisicoquímicos y microbiológicos se realizaron en los laboratorios de Ingeniería, Tecnología y Biología de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

2.2. Caracterización biométrica y física del fruto papayita de monte

Se empleó 30 frutos para medir su largo con ayuda de un vernier PRETUL 127mm/0.1mm desde la unión del pedúnculo al extremo distal del fruto. Con una balanza digital se evaluó el peso de cada fruto y se determinó la composición porcentual de látex, el procedimiento adecuado para la extracción de látex se detalla en el Anexo 1.

2.3. Análisis fisicoquímico de la materia prima y sustrato

Los frutos verdes fueron cortados, para la extracción del jugo y realizar los siguientes análisis de acuerdo a los métodos oficiales: pH, Acidez total titulable, Sólidos solubles totales, Índice de madurez, Humedad. En cuanto a la leche se utilizó como sustrato para los ensayos también se realizó el análisis fisicoquímico para verificar que se encuentran dentro de los parámetros de calidad. Los procedimientos se describen en el Anexo 3.

2.4. Procedimiento de extracción de látex del fruto papayita de monte

En la presente investigación se consideró la metodología adaptada del proyecto de producción de fruto y látex de papaya (Barahona ,1983). Cuyas etapas se muestran en el flujograma de la Figura 2, que serán descritas a continuación.

- a. Recepción:** Los frutos utilizados estuvieron en estado sano, sin daños físicos ni mecánicos.
- b. Selección y clasificación:** Se seleccionó los frutos en estado de madurez verde, y tamaño uniforme.
- c. Lavado:** Se lavaron los frutos de una manera exhaustiva en una solución de 5ppm de hipoclorito de sodio, hasta que quedó libre de cualquier impureza física y microbiológica.
- d. Secado de la cutícula:** Se secaron con papel toalla la superficie de la cutícula hasta eliminar completamente el agua producto del lavado.
- e. Pesado I:** Los frutos previamente limpios fueron pesados para determinar el rendimiento.
- f. Incisión de los frutos:** El fruto utilizado para el proceso recibió cinco incisiones verticales sobre la cutícula repetidamente de 2 a 3 mm de espesor cada incisión.
- g. Extracción del látex:** En un recipiente de vidrio previamente pesados se recepcionó el latex de las frutas sometidas a incisiones.
- h. Pesado II:** El látex extraído fue colocado en los respectivos envases de vidrio y luego, se pesó en una balanza analítica.
- i. Látex Crudo:** fue pesado y mantenido en refrigeración, luego llevado a congelación para su posterior liofilización.

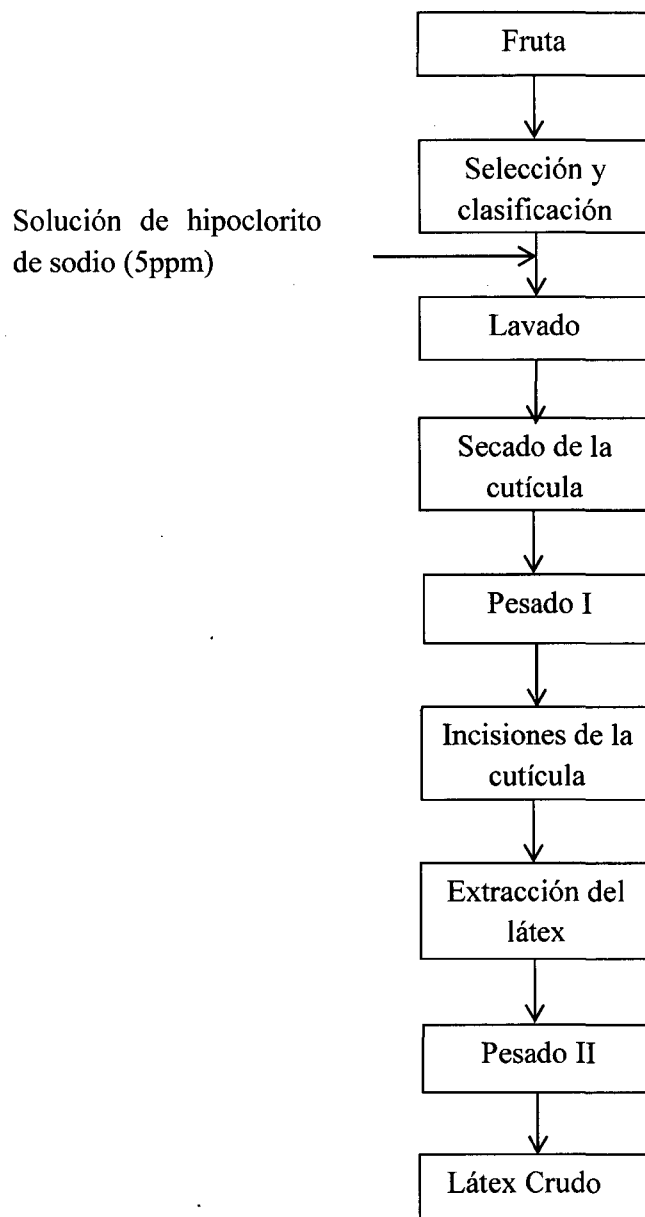


Figura 2. Diagrama de bloques para la obtención del látex.

2.5. Consideraciones en el procedimiento de liofilizado

Para el presente estudio el proceso de liofilizado constó de tres etapas: El proceso de congelación realizada en una congeladora doméstica modelo FC4D ubicada en el laboratorio y posteriormente la segunda y tercera etapa de secado primario (sublimación) y secundario (evaporación) respectivamente, en un liofilizador marca TERRONI.

2.6. Procedimiento de liofilizado de látex del fruto papayita de monte

La metodología que se desarrolló en la presente investigación se muestra en el flujograma de la Figura 3, cuyas etapas se describen a continuación:

- a. **Materia prima:** Se utilizó como material biológico látex de papayita previamente extraído y colocados en sus respectivos recipientes.
- b. **Congelación:** El látex extraído se sometió a temperaturas de $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ en una congeladora modelo FC4D, aplicando tres valores de tiempo de congelación 8, 12 y 16 horas.
- c. **Liofilización:** Se llevó a cabo en un liofilizador marca TERRONI modelo LC-1500 con campana acrílica, panel de comando, software de control de proceso en PC, y bomba de vacío. Una vez congelado el látex de la papayita de monte se trasladaron al liofilizador, se programó en la PC la fase de refrigeración la cual alcanzó una temperatura menor a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$; una vez alcanzada la temperatura, se programó en la PC la fase de calefacción a tres temperaturas respectivamente 50, 55 y $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ manteniendo el vacío, lo cual favoreció su evaporación.
- d. **Envasado:** El producto liofilizado se colocó en envases de papel alupol y conservados en ambiente seco.

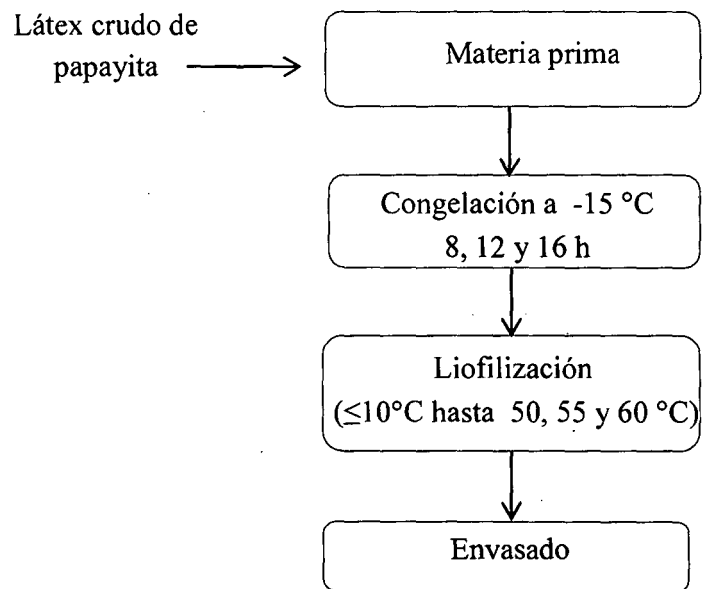


Figura 3. Diagrama de flujo para la liofilización del látex.

2.7. Diseño experimental para obtener látex liofilizado, del fruto papayita de monte, con máxima actividad proteolítica

Para la presente investigación se empleó un experimento factorial del tipo 3A x 3B bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) y con 2 repeticiones por cada tratamiento (Tabla 3). Para el procesamiento de los datos experimentales se utilizó el software SPSS 15.0 para Windows.

Factores:	Niveles	
A. Temperatura de liofilizado	a ₁	: 50 °C
	a ₂	: 55 °C
	a ₃	: 60 °C
B. Tiempo de congelación	b ₁	: 8 h
	b ₂	: 12 h
	b ₃	: 16 h

Variable respuesta: Máxima actividad proteolítica (UTP)

Tabla 3. Esquema experimental de los tratamientos

Tiempo de congelación (h)	50			55			60		
Temperatura de liofilizado (°C)	8	12	16	8	12	16	8	12	16
Tratamientos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9

Modelo aditivo lineal.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dónde:

- $i= 1, 2, 3$ (Nivel del factor A)
- $j= 1, 2, 3$ (Nivel del factor B)
- $k=1, 2$ (Repeticiones)

Además:

Y_{ijk} : Actividad proteolítica con la i -ésima temperatura de liofilizado, j -ésimo tiempo de congelación y k -ésima repetición.

μ : Efecto de la media general.

A_i : Efecto de la i -ésima temperatura de liofilizado

B_j : Efecto del j -ésimo tiempo de congelación.

$(AB)_{ij}$: Efecto de la interacción en la i -ésima temperatura de liofilizado, j -ésimo tiempo de congelación y k -ésima repetición.

ϵ_{ijk} : Error experimental en la i -ésima temperatura de liofilizado, j -ésimo tiempo de congelación y k -ésima repetición.

Nivel de significación: $5\% = 0,05$

Comparaciones múltiples

Para evaluar las diferencias entre las medias de los tratamientos, se empleó la prueba Tukey al 95% de nivel confianza.

III. RESULTADOS

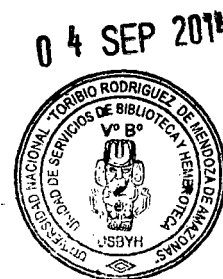
3.1. Características biométricas y físicas del fruto de papayita de monte

El análisis biométrico del fruto de papayita de monte realizado se muestra en la Tabla 4, siendo datos promedios evaluados a partir de 30 frutos (Anexo 1).

Tabla 4. Características biométricas del fruto de papayita de monte

Característica	Valores promedios
Peso (g)	167,56
Largo (cm)	9,94
Ancho (cm)	6,26

Fuente: Elaboración propia



En la Tabla 5, se muestra el porcentaje promedio de látex y del resto del fruto (corteza + pulpa + corazón), evaluados a partir de 30 frutos (Anexo 1).

Tabla 5. Composición porcentual del fruto de papayita de monte

Composición	Peso promedio (g)	%
Fruto	167,56	100
Látex	1,18	0,71
Resto del fruto	166,38	99,29

Fuente: Elaboración propia

3.2. Características fisicoquímicas del fruto y látex de la papayita de monte

En la Tabla 6, se muestra los análisis que se realizaron al fruto y látex de la papayita de monte, cuyos resultados son promedios de tres repeticiones por análisis.

Tabla 6. Características fisicoquímicas del fruto y látex de la papayita de monte

Componente	Fruto	Látex crudo
Humedad (%)	90,52	66,6
pH	4,1	7,5
Acidez total titulable (%)	0,96	1,75
Sólidos solubles totales (°Brix)	5,2	30
Índice de madurez (°Brix/acidez total)	5,4	-----

Fuente: Elaboración propia

3.3. Proceso de liofilizado del látex crudo, extraído del fruto papayita de monte

En la Figura 4, 5 y 6 se presenta la evolución de la temperatura en el proceso de liofilizado durante 3 horas con 40 minutos de proceso. Curvas de secado obtenidas mediante el software instalado del equipo liofilizador.

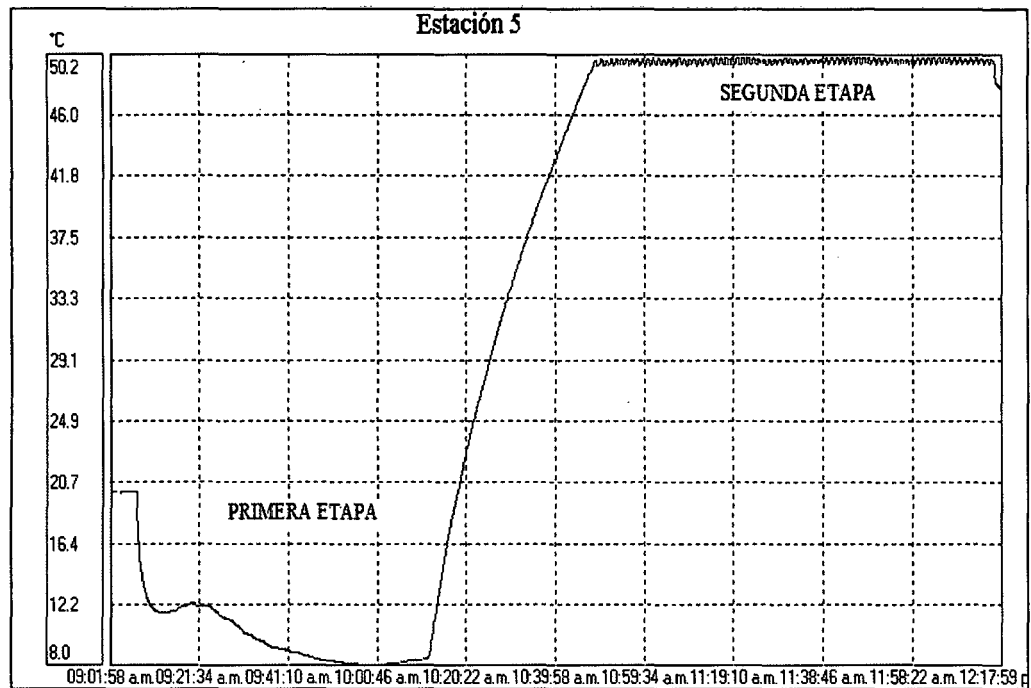


Figura 4. Curva de secado del látex de papayita de monte liofilizada a una temperatura de 50 °C para tiempos de congelación de 8, 12 y 16 horas.

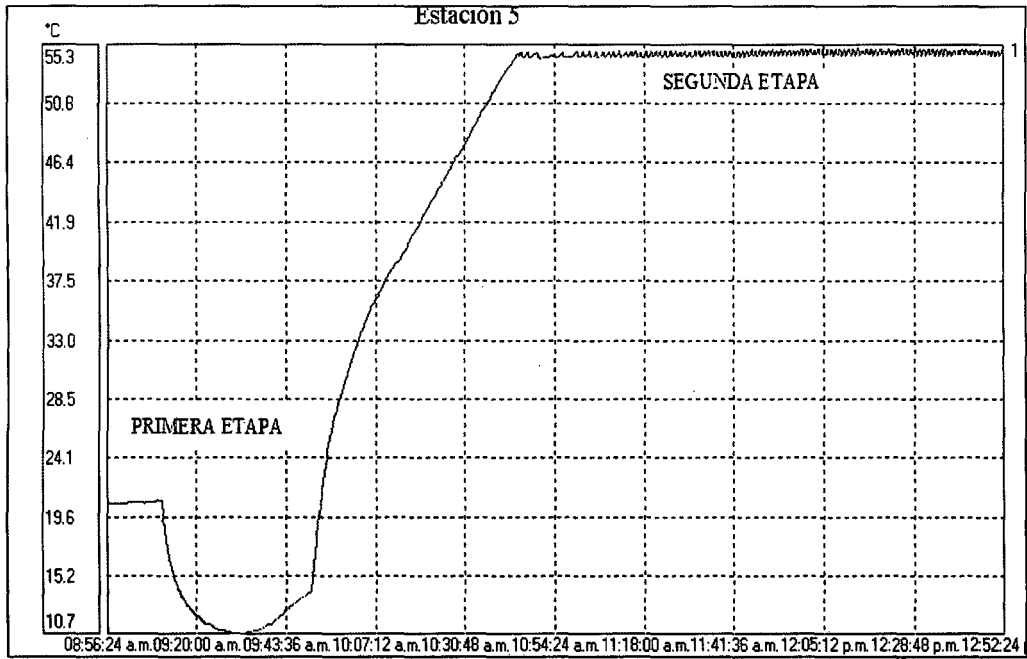


Figura 5. Curva de secado del látex de papayita de monte liofilizada a una temperatura de 55 °C para tiempos de congelación de 8, 12 y 16 horas.

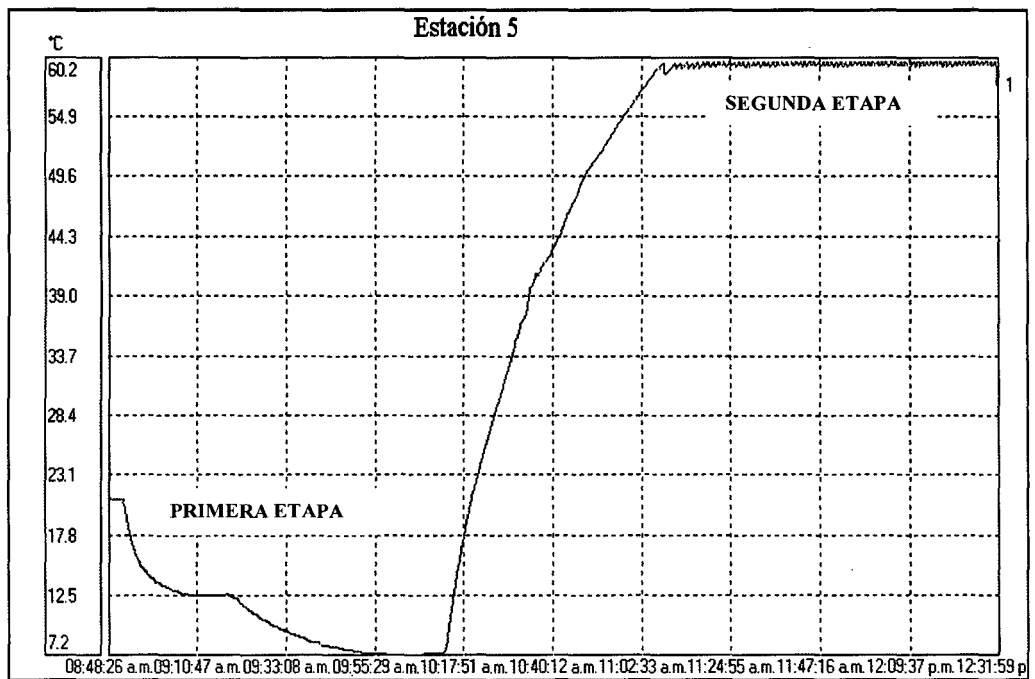


Figura 6. Curva de secado del látex de papayita de monte liofilizada a una temperatura de 60 °C para tiempos de congelación de 8, 12 y 16 horas.

3.4. Características fisicoquímicas del sustrato

El sustrato utilizado es la leche entera cruda, cuyos resultados son los siguientes:

Tabla 7, siendo datos promedios de tres repeticiones por análisis. (Anexo 3).

Tabla 7. Características fisicoquímicas de la leche entera

Componente	Leche entera
pH	6,7
Acidez total titulable (%)	0,138
Densidad (g/mL)	1,030
Sólidos solubles totales (°Brix)	10,05

Fuente: Elaboración propia

Tabla 8. Análisis microbiológico de la leche entera, prueba azul de metileno (Reductasimetría). (Anexo 3).

Muestra	Tiempo de reducción	Calidad de leche
Leche entera	4 h	Buena

Fuente: Elaboración propia

3.5. Actividad proteolítica del látex liofilizado, extraído del fruto papayita de monte

En la Tabla 9, se muestran los resultados de la actividad proteolítica, en UTP, del látex liofilizado a diferentes temperaturas y tiempos de congelación; cuya actividad proteolítica se determinó mediante el método modificado de Kunitz en leche de vaca.

Con el tratamiento 5 se obtuvo látex liofilizado con mayor actividad proteolítica (0,0149 Unidades Trípticas de Papaína) para la cual se empleó una temperatura de 55 °C durante el liofilizado y un tiempo de 12 horas durante la congelación, mientras que con el tratamiento 7 se obtuvo látex liofilizado con menor actividad proteolítica (0,0043 Unidades Trípticas de Papaína) para la cual se empleó una

temperatura de 60 °C durante el liofilizado y un tiempo de 8 horas durante la congelación.

Tabla 9. Actividad proteolítica en UTP del látex del fruto papayita de monte, liofilizado según los tratamientos.

Repetición	50 °C			55 °C			60 °C		
	8 h	12 h	16 h	8 h	12 h	16 h	8 h	12 h	16 h
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
R1	0,0083	0,0126	0,0076	0,0055	0,0163	0,0089	0,0044	0,0058	0,0062
R2	0,0088	0,0116	0,0072	0,0062	0,0135	0,0085	0,0042	0,0062	0,0066
Promedio	0,0086	0,0121	0,0074	0,0059	0,0149	0,0087	0,0043	0,0060	0,0064

Fuente: Elaboración propia

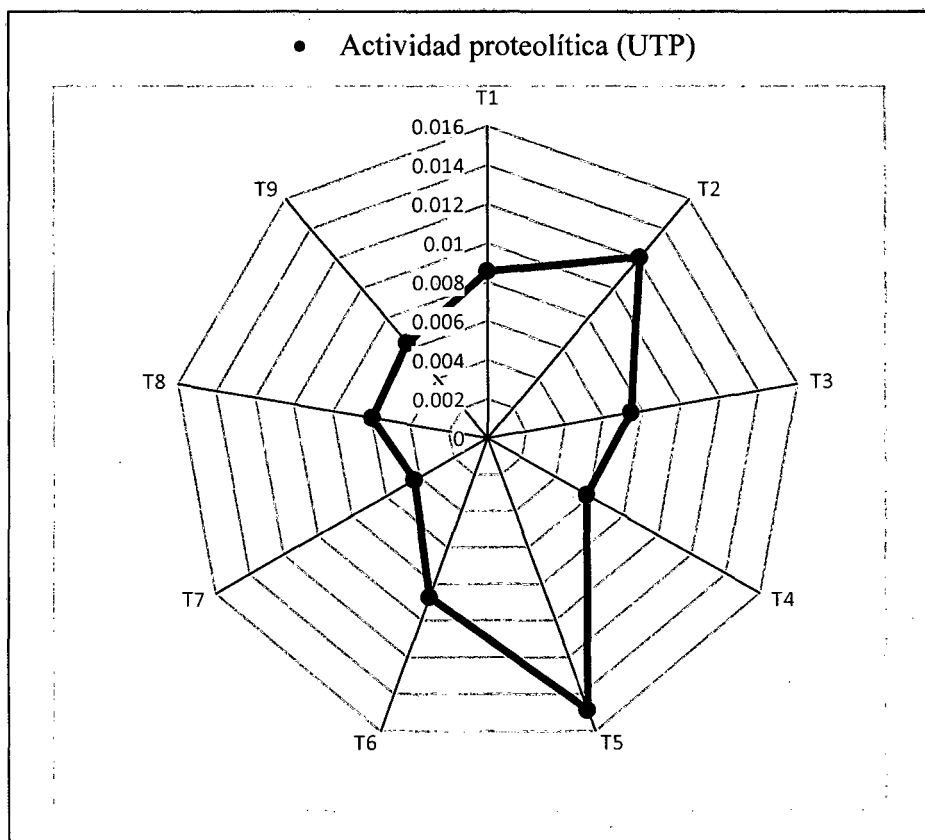


Figura 7. Actividad proteolítica (UTP) del látex liofilizado, obtenido por cada tratamiento estudiado.

Según el análisis de varianza, la actividad proteolítica cuantificada en las muestras fue afectada significativamente por el factor temperaturas de liofilizado 50, 55 y 60 °C y por el factor tiempo de congelación 8, 12 y 16 horas, así mismo como también la intersección de ambos factores. (Tabla 16 del Anexo 6).

Según la prueba de Tukey, los mejores tratamientos son T5 y T2 cuyos tratamientos son homogéneos, es decir, estadísticamente no existe diferencia significativa entre estos pero si frente a los demás tratamientos, por tanto liofilizando con los parámetros del tratamiento 5 o el tratamiento 2 se obtiene un látex en polvo con mayor actividad proteolítica. (Tabla 17 y 18 del Anexo 6).

3.6. Modelo matemático para la cuantificación de la actividad proteolítica del látex liofilizado extraído del fruto papayita de monte

Para obtener las ecuaciones lineales correspondientes a cada uno de los tratamientos estudiados en el presente trabajo de investigación se basaron en las lecturas de la absorbancia a diferentes concentraciones de papaína permitiendo cuantificar la actividad proteolítica (UTP), los resultados experimentales fueron procesados con el software estadístico SPSS 15.0 para Windows. En la Tabla 13 se muestran dichas ecuaciones, las cuales se constituyen con el modelo matemático según el método de cuantificación de actividad proteolítica denominado método modificado de Kunitz, según corresponde al látex de papayita de monte a cada tiempo de congelación y temperaturas de liofilización ensayadas. Los análisis de regresión se presentan en los Anexos 6 y 7

Ecuación lineal: $Y = m X + b$

Tabla 10. Ecuaciones lineales de las lecturas de absorbancia correspondientes a los parámetros estudiados en función de la concentración de papaína.

Temperatura de Liofilizado (°C)	Tiempo de Congelación (h)	Repetición	Ecuación Lineal	R ²
50	8	R1	$y = 0,249x + 0,063$	0,979
		R2	$y = 0,264x + 0,059$	0,990
	12	R1	$y = 0,377x + 0,042$	0,974
		R2	$y = 0,349x + 0,030$	0,979
	16	R1	$y = 0,229x + 0,041$	0,949
		R2	$y = 0,217x + 0,054$	0,944
55	8	R1	$y = 0,166x + 0,088$	0,956
		R2	$y = 0,185x + 0,091$	1,000
	12	R1	$y = 0,489x + 0,037$	0,988
		R2	$y = 0,404x + 0,055$	0,911
	16	R1	$y = 0,268x + 0,010$	0,928
		R2	$y = 0,255x + 0,012$	0,989
60	8	R1	$y = 0,131x + 0,010$	0,909
		R2	$y = 0,127x + 0,009$	0,905
	12	R1	$y = 0,173x + 0,016$	0,975
		R2	$y = 0,185x + 0,020$	0,961
	16	R1	$y = 0,185x + 0,001$	0,901
		R2	$y = 0,197x + 0,001$	0,908

Y = Absorbancia a 280 nm

X = Concentración (g)

3.7. Rendimiento en el proceso de obtención de látex liofilizado, extraído del fruto papayita de monte

➤ Rendimiento de la materia prima aprovechable

El rendimiento promedio del látex fresco a partir del fruto de papayita de monte fue del 0,71%.

➤ Rendimiento de látex liofilizado a partir de látex fresco

El rendimiento de látex liofilizado a partir del látex fresco extraído del fruto papayita de monte fue del 17.01 %

El balance de materia para obtener 10 g de látex liofilizado se muestra en el Anexo 2

3.8. Características fisicoquímicas de látex liofilizado, extraído del fruto papayita de monte

En la Tabla 11, se muestra los análisis que se realizó al látex en polvo que presento mayor actividad proteolítica, es decir que fue obtenido con el mejor tratamiento, cuyos resultados son promedios de tres repeticiones por análisis.

Tabla 11. Características fisicoquímicas de látex liofilizado que presento máxima actividad proteolítica. (Anexo 3)

Característica	Látex liofilizado
Humedad (%)	10,4
Cenizas (%)	1,2
pH	7,6
Acidez total titulable (%)	1,76
Solidos solubles totales (° Brix)	30

Fuente: Elaboración propia

3.9. Curva de Actividad proteolítica para el mejor tratamiento

En la Figura 8, se muestra la curva de actividad proteolítica del látex para el mejor tratamiento es decir el que presenta mayor actividad proteolítica, cuyos resultados fueron obtenidos midiendo la viscosidad en un tiempo determinado hasta que cuando la actividad proteolítica de la papaína presente en el látex culmine; obteniendo un tiempo máximo de actividad 60 minutos.

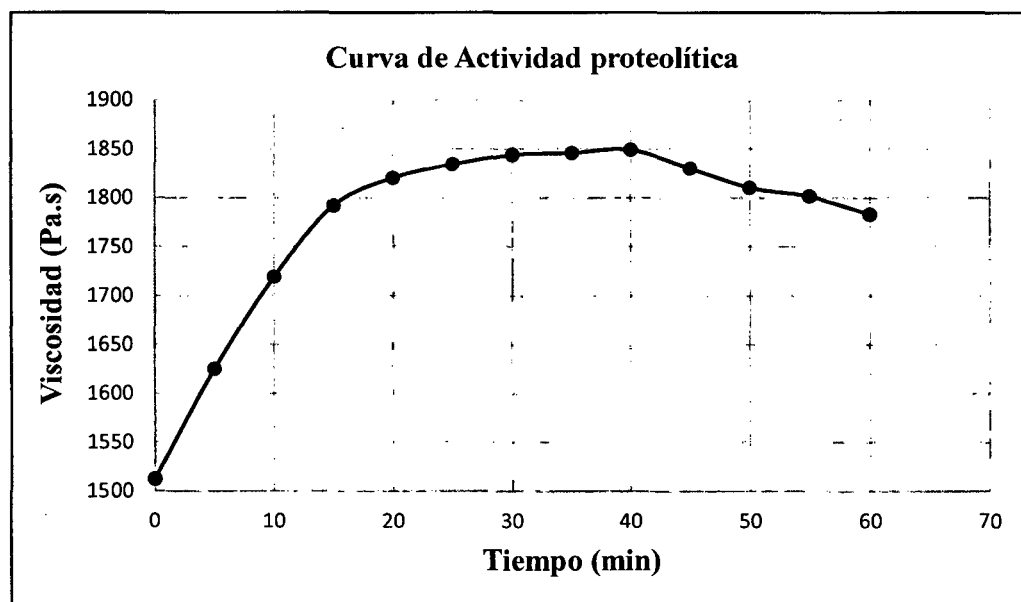


Figura 8. Curva de actividad proteolítica del látex para el tratamiento

($T=55\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\Theta = 12\text{h}$).

IV. DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se observa que la papayita de monte (*Carica pubescens*) fresca presentó: pH 4,1; % de acidez 0,96; índice de madurez 5,4; humedad 90,52 % y 5,2 °Brix. (Salón, 2013) determinó: pH 4,2; % de acidez 0,9; índice de madurez 5,77; humedad 95,81 % y 5,2 °Brix. Se observa una semejanza en los resultados. (Concha, *et al*; 2010) determinó: humedad 90,49 %, pH 4,5; % de acidez total 0,37; índice de madurez y °Brix 16 y 6, respectivamente. Esta diferencia en el % de acidez total puede ser debido a la procedencia e índice de madurez de la papayita de monte. Para la extracción del látex es necesario considerar el estado de madurez de la fruta; se obtendrá mayores rendimientos en estado verde, considerando que el porcentaje de humedad y sólidos solubles aumenta a medida que transcurren los estados de madurez de las fruta (Gutiérrez y Velásquez, 2009).

En la caracterización biométrica se observó que el peso promedio del fruto de papayita de monte fue de 167,56g; 9,94 x 6,26 cm de largo y ancho respectivamente; valores que se encuentran dentro del promedio presentado por (López, 2010), que los frutos de papayita de monte tienen un peso promedio de 172 g, miden 9,7 x 6,38 cm de largo y ancho respectivamente.

El rendimiento de materia prima aprovechable a partir del fruto de papayita de monte fue del 0,704 % de látex; rendimiento mayor a los obtenidos por (Díaz y Muñoz ,2012), quienes obtuvieron látex a partir del fruto de papailla (*Vasconcellea monoica*) y babaco (*Carica pentagona*) con un rendimiento del 0,407% y 0,446% respectivamente. La papayita de monte presenta mayor rendimiento en látex debido al tipo de especie y condiciones de manejo para la adecuada extracción. Según (Sinche, 2009); determinó

que las cantidades de látex fluido y látex seco se relacionan directamente con su tamaño; del fruto más grande se obtiene el rendimiento más alto.

En cuanto al rendimiento de látex seco; a partir del fruto de papayita de monte fue del 0,12 %. Aguirre y Castillo (2009), obtuvieron un mayor rendimiento de látex seco a partir del fruto de toronche (*Carica stipulata*) mencionan que de 1,69 lb en peso de fruto de toronche se obtiene 1,5492 g de látex seco; siendo el rendimiento del 0,20 %.

En las Figuras 4, 5 y 6, se observa que a una temperatura de 50, 55 y 60 °C; luego de que la muestra de látex de papayita de monte ha sido llevada al liofilizador no desciende por debajo de 5 °C para empezar la sublimación tal como indica (Manual de operaciones del liofilizador), esto se debe posiblemente a que la congelación ha sido lenta y no ha alcanzado una estructura sólida, a lo que contribuye (Parzanese, 2008); que en una congelación lenta la temperatura deseada se alcanza de 3 a 72 h en aparatos domésticos de congelación.

En la presente investigación, el látex extraído mediante incisiones en la cutícula del fruto de papayita de monte y secado en un proceso de liofilizado a 12 h de congelación y 50, 55 °C de temperatura de secado, tuvieron la mayor cantidad de unidades tríplicas de papaína (UTP) (0,0121 – 0,0149) UTP/g muestra - min. La operación de liofilizado a temperatura de 60 °C, con sus tres tiempos de congelado respectivos, no presentaron una mayor actividad proteolítica esto explica según (Ortiz, 1978); a mayor temperatura de secado mayor será la inactivación térmica; ya que la mayoría de enzimas muestran termolabilidad marcada a temperaturas superiores a los 60 °C. De acuerdo a (Huet, 1956); encontró que la temperatura óptima de secado es de 50 °C y observó una disminución de la actividad proteolítica al secar a 60 °C; recomienda no exceder de los 55 °C.

En la Tabla 9, se observa que a tiempos de congelación cortos (8h) y largos (16h) presentaron menor actividad proteolítica es decir menor cantidad de UTP. A tiempos cortos posiblemente el agua libre no ha congelado en su totalidad, por ende la liofilización no es buena. Lo que contribuye (Parzanese; 2008), que el objetivo de la congelación es congelar el agua libre del producto con esto se busca que el producto congelado tenga una estructura sólida, sin que haya líquido concentrado de manera que el secado ocurra únicamente por sublimación. La disponibilidad de agua, medida como actividad del agua, tiene una fuerte influencia sobre la velocidad de reacciones por enzimas, es decir, la actividad enzimática aumenta al aumentar el contenido de agua libre (Schmidt y Pennacchiotti; 2001). A tiempos de congelación largos se debe a que cuando el producto es congelado por mucho tiempo, los poros son grandes lo que causa que se debilite la estructura interna (Ruíz, Gómez et al, 2006). Según (Dergal, 1990), durante el congelamiento se establecen zonas dentro de los alimentos en donde se encuentran sales y sustancias de peso molecular bajo; junto con las proteínas, en estas zonas la fuerza iónica es muy elevado e induce a la desnaturalización de las enzimas ya que los puentes de hidrógeno se favorecen a temperaturas bajas por lo que las moléculas de enzima interaccionan más fácilmente entre sí, o con el agua lo que ocasionan que el sitio activo se modifique.

Chaverri (1983) utilizó el método del Food Chemical Codex, 1972 para cuantificar la actividad proteolítica utilizó el método del Food Chemical Codex, 1972. Encontraron que las muestras de papaína en solución se incubaron con el sustrato y caseína a 40 °C; pH 6 por un tiempo de 60 minutos la tirosina liberada por acción de la papaína sobre el sustrato de caseína, se solubiliza en ácido tricloroacético al 30% p/p , es medida en el espectrofotómetro a 278 nm (UV) longitud de onda donde la tirosina presenta la máxima absorbancia; la lectura de absorbancia de tirosina estándar (L-tirosina).Para la

construcción de esta curva, se utilizaron patrones de diferente concentración de L-tirosina en solución tampón. Los resultados de actividad proteolítica, se expresaron en unidades internacionales (U.I), cuya magnitud es la siguiente U .moles tirosina liberada/ mg muestra-min. En la presente investigación para cuantificar la actividad proteolítica se utilizó el método modificado de kunitz método del Food Chemical Codex, 1972; lo cual presenta una similitud en el procedimiento con el método de la investigación anterior. Para lograr esto, se incubaron las muestras de papaína en solución con el sustrato de leche de vaca a 40 °C, pH 7 por 30 minutos la reacción proteolítica fue detenida con ácido tricloroacético al 25% p/p, es medida en el espectrofotómetro a 280 nm (U.V) longitud de onda, se realizaron las lecturas en función al tubo testigo papaína más ácido tricloroacético. Cuyo análisis consistió en construir la curva de actividad a diferentes concentraciones y determinar las UTP/g de muestra – minutos de actividad.

V. CONCLUSIONES

- Las características biométricas del fruto de papayita de monte son: peso 167.56 g y sus medidas: 9.94 x 6.26 cm de largo y ancho respectivamente; mientras las características fisicoquímicas del fruto son las siguientes: humedad en base húmeda 90,52%; pH 4,5; Acidez total titulable 0,96; Índice de madurez 5,4; y sólidos solubles totales (°Brix.) 5,2. El rendimiento de materia prima aprovechable a partir del fruto correspondiente al látex fue del 0,71 %; y el resto del fruto cutícula más pulpa fue del 99,29%.
- El rendimiento de látex liofilizado a partir del látex fresco extraído del fruto papayita de monte fue del 17.01 %; y el rendimiento a partir del fruto fue del 0,12%.
- El látex liofilizando, extraído mediante incisiones en la cutícula del fruto de papayita de monte, a 12 h de congelación y temperatura de secado a 55 °C, nos permitió obtener látex con mayor cantidad de unidades tríplicas de papaína (UTP) 0,0149 UTP/g muestra – min, la cual consiguió secarse en menor tiempo de exposición a la temperatura de liofilizado.
- Para cada una de las temperaturas ensayadas con los respectivos tiempos de congelado, las curvas de secado tienen función exponencial a partir de esta etapa se toma en cuenta el tiempo de exposición a la temperatura de liofilizado, programada una vez que el producto alcanza su temperatura de refrigeración durante la primera etapa del proceso.
- Las características fisicoquímicas del látex fresco extraído a partir del fruto de papayita de monte son las siguientes: humedad en base húmeda 66,6%; pH 7,5; Acidez total titulable 1,75%; y sólidos totales solubles 30 °Brix .

VI. RECOMENDACIONES

- En el momento de la extracción del látex mantener la limpieza del lugar del trabajo y manipular adecuadamente, para evitar que el látex se llegue a contaminar.
- Recolectar las papayitas verdes sin retirar el pedúnculo, ya que de esta manera se conserva mejor el látex hasta el momento de su extracción, evitando pérdida del mismo.
- Efectuar la cuantificación de la actividad enzimática de otras especies nativas para conocer si existen diferencias significativas.
- Investigar el grado alimentario del complejo del género *carica*; así como su factibilidad de una producción a nivel industrial y comercial

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre, E y Castillo, P. 2008. Extracción Comparativo de las Enzimas Proteolíticas del Fruto toroche (*Carica stipulata*) y de la papaya (*Carica papaya*) y su aplicación en la Industria Alimentaria. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.
- Arriola, E; García, G; Guatemala, J; Nungaray, O; Gonzáles R; y Ruíz, G. (2006). Comportamiento del Aguacate Liofilizado durante la Operación de Rehidratación”. Revista Mexicana de Ingeniería Química. Vol. 5 N°1.
- Adams, M. and Mooss, M. 2000. Food Microbiology. The Royal Society of Chemistry. Gran Bretaña.
- Barahona, T. 1983. Proyecto de Producción de fruta y látex de papaya. Secretaría de Recursos Naturales. Tegucigalpa - Honduras.
- Boyer, R. and Paul, D. 1970. The Enzymes, 3dt Edition. New Cork, United States of América, Academia Press Inc. Vol III.
- Blond, G. and Le Meste, M. 2004. Principles of frozen storage. Inc. New York.
- Castro, E. 2012. Manual de Prácticas Procesos Agroindustriales II. UNTRM. – Tercera edición Chachapoyas - Perú
- Concha, J; Guevara, A y Araujo, M. 2002. Obtención de Polvo de Papaya de monte (*Carica Pubescens*) por atomización Revista Ingeniería UC, Vol. 9, N°1. Junio.
- Chaverri, A. 1983. Comparación de la Actividad Proteolítica de la papaína secada por diferentes métodos. Tesis de licenciatura en tecnología de los alimentos. Costa Rica: Universidad de Costa Rica.

- Diaz, R. y Peláez, M. 2012. Efecto de la Concentración de látex de dos frutas nativas: papaiilla (*Vasconcellea monoica*) y babaco (*carica pentagona*) a diferentes tiempos y temperaturas sobre la carne de ganado vacuno (*Bos taurus*) tesis para obtención de título de Ingeniero Agroindustrial., Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la UNTRM – Perú.
- Gadai, D. 1990. Química de los alimentos, 2a ed. México: Alhambra, 1990. 648 p. – Salvador.
- Goff, H. 1992. Low – Temperatura Stability and the Glassy state in Frozen Foods”. Food research International, Vol.25: pp. 317-325.
- Gutiérrez, G. y Velásquez V. 2009. Determinación del efecto de la maduración de la lechosa (*Carica papaya* L.) sobre la concentración de papaína. Tesis para obtener el Título Profesional de Ingeniero Químico. Universidad Rafael Urdaneta – Venezuela
- Grudkowska, M. and B, Zagdanska. 2004. Multifuntional role of plant cysteine proteinases; Acta Biochimica polónica, Polonia 51(3). Disponible en <http://actabp.pl/pdf/32004/609s.pdf>. Acceso: 12 de febrero 2014.
- Glibota, G y Garro, O; Judis. M. 2000.”Actividad proteolítica de restos del fruto de “*Carica papaya*”. Comunicaciones científicas y Tecnológicas. Disponible en <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/2001/cyt.htm>. Acceso: 10 de Julio 2014.
- Heldman, D. and Hartel, R. W. 1977. Principles of Food Processing. Chapman & hall book. New York. E. U. A. PP. 211:218 Badui, S. D. 1999. Química de los Alimentos. Editorial Alhambra Mexica S.A., 3era ed. México.

- Huang, J; Mcauslane, H y Nuessly G. 2003. Resistance in lettuce to *Diabrotica balteata* (Coleoptera:Chrysomelidae): the roles of látex and inducible defense. *Environmental Entomology*. Vol.32: pp. 9-16.
- Huet, R. 1956. Considerations sur the Temperatura the Sechage the latex de papaye: *Fruits* 11(3): 111.
- Izkara, J and Lombraña, J. I. 1996. Experimental estimation of efective transport coefficients in freeze drying for simulation and optimization purposes. *Drying technology*, 14 (3&4): 743:763.
- Karel, M. 1975. “Physical Principles of Food Preservation”. New York, pp. 287:294
- Liapis, A. I, Pikal, M. J and Bruttini R. 1966. Research and Development needs and Opportunities in Freeze drying. *Drying technology*, 14 (6): 1265:1300.
- Lombroña J, Ikara, J and Zuazo, I. 2001. Moisture diffusivity behavior during freeze drying under microwave heating power application. *Drying technology*, 19 (8): 1613:1627.
- López, D. 2010. El uso de la inulina y chamburo (*Carica pubescens*) en la tecnología de elaboración de yogurt con trozos de frutas tipo II en la quesera el “Salinerito”. Tesis para obtener el Título Profesional de Ingeniero de Alimentos. Universidad Técnica de Abanto – Ecuador
- Mejía Aguilar R y Vega Ramos C. 2010. Medición de la Actividad Proteolítica de la enzima papaína natural extraída del látex de papayo (*Carica papaya*) e inmovilizada en gel de agar. Trabajo de graduación, Lic. en Química y Farmacia. San Salvador, El Salvador. Universidad de El Salvador.

- Moussaqui, A; Nijs, M; Pulp, C; Wintjens, R; Vinvetelli, J; Azarkan, M and Looze, Y. 2001. Revising the enzymes stored in the laticifers of *Carica papaya* in the context of their posible participation in the plant defense mechanism. Cellular and Molecular Life Sciences. Vol.58. pp. 556-570.
- Morcelle, S., Caffini, N. and Priolo, N. 2004. proteolytic properties of funastrum clausum latex. fitoterapia. Vol.75: pp. 480-493.
- Mundo, J. y Serrano, D. 2012. Extracción de la enzima papaína del látex de papayo (*Carica papaya*) cultivado en el país y su aplicación en cicatrices tipo quiloide y verrugas. Trabajo de graduación para obtener grado de licenciatura en química y farmacia. Universidad nacional del salvador – Salvador.
- Muñoz, J. 2006. Estudio químico – bromatológico del fruto de *Carica monoica* “Chamburo” y los efectos de su ingesta en el crecimiento y el perfil bioquímico de las ratas. Tesis para obtener el grado académico de doctora en Farmacia y Bioquímica. Universidad Mayor De San Marcos – Perú.
- Ortega, M. y Castillo, L. 1966. Actividad de la Mexicaína en presencia de altas concentraciones de urea. Ciencia Méx. Vol. 24: pp. 247-251.
- Ortiz, A. 1978. Estudio sobre la Actividad Proteolítica y Scado del látex de la papaya (*Carica papaya*) en Costa Rica. Trabajo de graduación, Lic. en Tecnología de Alimentos. Costa Rica. Universidad de Costa Rica.
- Olivares, V. 2010. Manual de prácticas y problemas de Ingeniería de operaciones Agroindustriales II. Segunda edición Chachapoyas- Perú.

- Parzanese, M. 2008. Tecnología para la Industria Alimentaria Liofilización de alimentos. MINAGRI - Buenos Aires. Disponible :Alimentosargentinos.gob.ar
- Polito, M; Barrena, A y Muñoz, S. 2010. Manual de prácticas y problemas de ingeniería de operaciones agroindustriales II. UNTRM. – Segunda edición Chachapoyas – Perú.
- Reed, G. and Unskofler, L. 1966. Enzymes in Food Processing Academic Press. New York. pp. 109 -126.
- Rothmayr, 1975. heat and mass transfer. Goldblith S.A. and advanced food technology. New York: academic press, pp. 203-222.
- Salón, L. 2013. Efecto de los agentes edulcorantes, temperatura y tiempo en la deshidratación osmótica de papayita de monte (*Vasconcellea pubescens*) tesis para obtención de título de ingeniero agroindustrial., Facultad de ingeniería y Ciencias Agrarias de la UNTRM-A – Perú.
- Sahagian M. and Douglas H. 1996. Fundamental aspects of the freezing process. Inc. New York. pp. 15, 20:39.
- Sinche, M. 2009. Aislamiento, purificación parcial y Caracterización cinética de las proteasas presentes en el látex de los frutos de una planta del género *Vasconcellea*; Proyecto previo a la obtención del Título de Ingeniero Agroindustrial. Escuela Politécnica Nacional. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Quito, Ecuador.
- Schmidt, H.y Pennachiotti, M. 2001. Las enzimas en los alimentos y su importancia en la química y tecnología de los alimentos. Trabajo de investigación – Chile.

- Vega, A. y Lemus, R. 2006. Modelado de la cinética de secado de la papaya chilena (*Vasconcellea pubescens*). Información Tecnológica. Chile.
Disponible :<http://redalyc.uaemex.mx>. Acceso: 15 de marzo 2014.
- Welti, J.1985. Influencia de las condiciones de secado por automatización y liofilización sobre la calidad y estabilidad de los triturados de naranja. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia – España.
- Welti Chanes J; Bermúdez D; Valdez A and Alzamora S. 2004. Principles of freeze – concentration and freeze - drying”. New York, Vol. 2: pp. 13:24.

ANEXOS

ANEXO 1

Tabla 12. Datos biométricos y físicos del fruto de papayita de monte.

MUESTRA	Diámetro 1 (cm)	Diámetro 2 (cm)	Diámetro promedio. (cm)	Largo (cm)	Peso (g)
1	6,00	5,90	5,95	9,30	139,51
2	6,30	6,10	6,20	9,70	171,80
3	6,50	6,60	6,55	10,00	178,70
4	6,20	6,40	6,30	11,00	192,29
5	5,30	5,40	5,35	10,00	127,69
6	6,50	6,40	6,45	10,50	180,20
7	5,90	6,00	5,95	10,30	158,24
8	6,20	6,10	6,15	10,50	166,76
9	6,20	6,10	6,15	9,70	144,49
10	6,30	6,20	6,25	9,20	154,92
11	6,70	6,60	6,65	10,10	199,94
12	6,00	5,90	5,95	9,70	143,28
13	5,70	5,50	5,60	9,90	128,68
14	6,10	6,10	6,10	9,50	169,09
15	6,30	6,70	6,50	10,60	172,96
16	6,50	6,70	6,60	9,40	174,56
17	5,70	5,80	5,75	9,60	147,16
18	6,70	6,70	6,70	10,10	182,15
19	6,10	6,30	6,20	10,10	166,37
20	6,40	6,40	6,40	9,80	169,87
21	6,10	6,10	6,10	9,10	145,08
22	6,30	6,20	6,25	9,40	163,75
23	6,70	6,70	6,70	10,40	203,97
24	6,10	6,00	6,05	9,10	140,04
25	6,20	6,30	6,25	11,00	191,25
26	7,20	7,70	7,45	10,30	224,52
27	6,80	6,70	6,75	10,60	211,94
28	6,30	6,40	6,35	9,80	169,84
29	6,30	6,20	6,25	10,00	168,25
30	5,90	5,80	5,85	9,40	139,88
PROMEDIO	6,25	6,27	6,26	9,94	167,56

Tabla 13. Datos de la composición porcentual del fruto de papayita de monte.

Muestra	Peso (g)	Cantidad de látex	%
1	139,51	1,0030769	0,584
2	171,80	1,235242	0,719
3	178,70	1,284853	0,748
4	192,29	1,3825651	0,805
5	127,69	0,9180911	0,534
6	180,20	1,295638	0,754
7	158,24	1,1377456	0,662
8	166,76	1,1990044	0,698
9	144,49	1,0388831	0,605
10	154,92	1.1138748	0,648
11	199,94	1,4375686	0,837
12	143,28	1,0301832	0,600
13	128,68	0,1235328	0,539
14	169,09	1,2157571	0,708
15	172,96	1,2435824	0,724
16	174,56	1,206624754	0,731
17	147,16	1,0580804	0,616
18	182,15	1,3096585	0,762
19	166,37	1,1962003	0,696
20	169,87	1,2213653	0,711
21	145,08	1,0431252	0,607
22	163,75	1,1773625	0,685
23	203,97	1,4665443	0,854
24	140,04	1,0068876	0,586
25	191,25	1,3750875	0,800
26	224,52	1,6142988	0,940
27	211,94	1,5238486	0,887
28	169,84	1,2211496	0,711
29	168,25	1,2097175	0,704
30	139,88	1,0057372	0,585
PROMEDIO	167,56	1,18	0,71

ANEXO 2

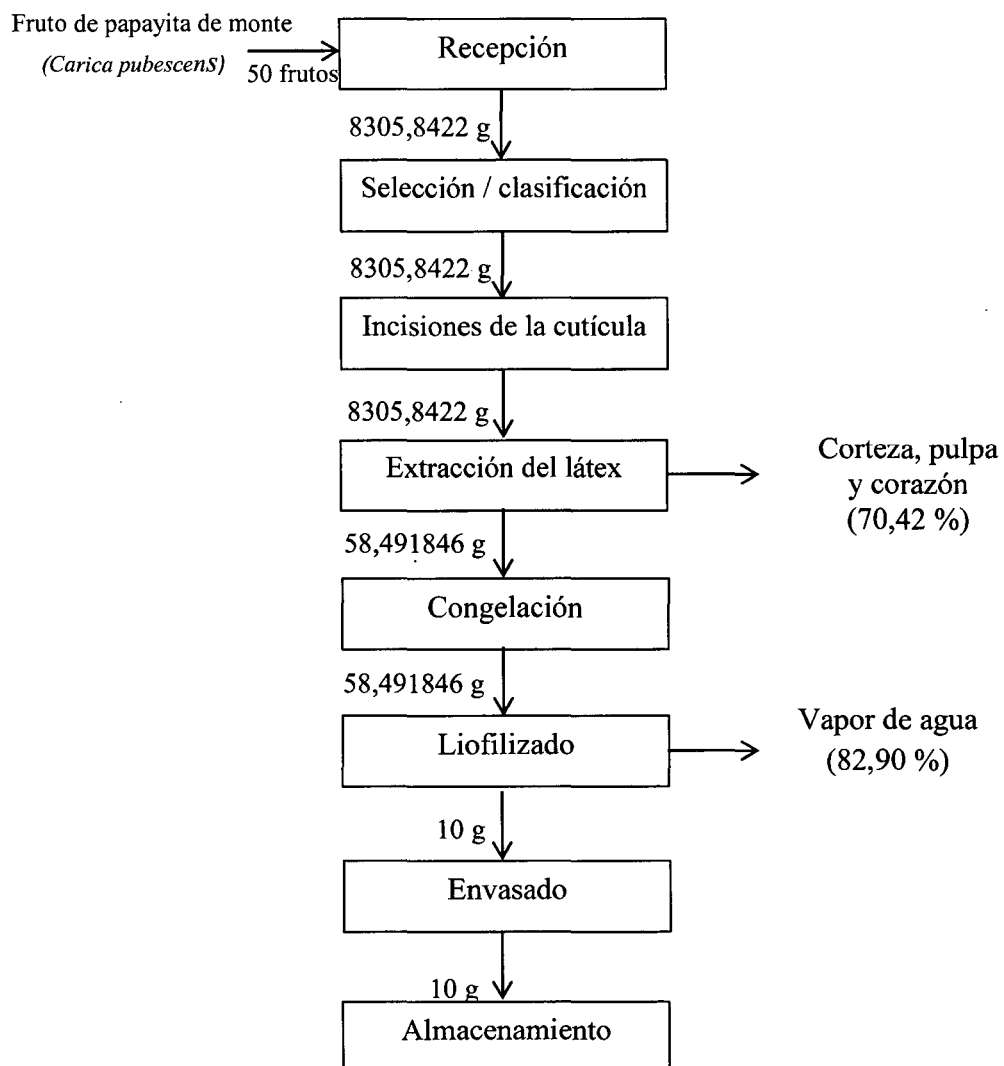


Figura 9. Balance de materia para la obtención de 10 g de látex liofilizado de papayita de monte.

ANEXO 3

1. Descripción de los métodos de análisis para la determinación de las características fisicoquímicas del fruto y látex de papayita de monte (*carica pubescens*).

1.1. Determinación del pH - método potenciómetro

- Se determinó justando el pH - metro con una solución buffer estándar.
- Se tomó una muestra de 50 mL de jugo a un vaso se precipitación de 100 mL y se llevó al potenciómetro.
- Apuntar la lectura de pH del jugo que aparece en la pantalla del equipo.

1.2. Determinación de la Acidez titulable

- Se determinó mediante titulación ácido-base, con la ayuda de una bureta, fenolftaleína como sustancia indicadora y como titulante hidróxido de sodio (0,1N).
- El resultado se expresó en términos de ácido cítrico (%) que es el que se encuentra en mayor proporción en este fruto.

$$\% \text{ Ácido cítrico} = \frac{N \cdot V \cdot \text{pe. ácido cítrico}}{W} \times 100$$

Dónde:

N : normalidad de la solución de NaOH

V : mL de NaOH gastados en la titulación

Pe. ácido cítrico : peso mili equivalente del ácido cítrico

W : peso de la muestra, g

1.3. Determinación de sólidos solubles totales –método potenciométrico

- Se determinó utilizando un refractómetro digital (0 a 85°Brix).
- Se colocó una gota de la muestra a 20 °C en el prisma del refractómetro y se toma la lectura del % de sólidos solubles.

1.4. Determinación del % de cenizas

- Se puso a peso constante un crisol de porcelana, lo cual significó dejarlo durante 15 minutos en la mufla a una temperatura de 600°C.
- Se dejó enfriar el crisol de porcelana en un desecador durante 15-20 minutos y se tuvo en cuenta de no cerrar el desecador totalmente.
- Se pesó el crisol de porcelana en la balanza analítica y dicho peso fue anotado (P1).
- Se tomó una muestra (fruta fresca, látex crudo o látex liofilizado), y se pesó 3 gramos (P2 = 3,0) en el crisol previamente tarado.
- Se registró el peso exacto con cuatro cifras significativas.
- Se colocó el crisol de porcelana en la plancha de calentamiento de la cocina eléctrica hasta sequedad. Luego se llevó el crisol de porcelana a la mufla por un tiempo de 3 horas, a una temperatura de 600°C.
- Transcurrido el tiempo indicado se retiró el crisol de porcelana de la mufla, se dejó enfriar en un desecador y luego se pesó nuevamente.
- Se realizó pesadas sucesivas hasta que el peso sea constante en tres ocasiones (P3).
- Se realizó los cálculos con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P3-P1}{P2} * 100$$

1.5. Determinación del índice de madurez

- Se determinó en función del contenido de sólidos solubles totales (°Brix) y la acidez titulable del fruto.
- Índice de madurez (IM)= $\frac{^{\circ}\text{Brix}}{\text{acidez}}$

1.6. Determinación de la humedad – método automático (Balanza de determinación de humedad).

- Se determinó utilizando el analizador automático de humedad.
- Se colocó una muestra (1 g), se toma la lectura al finalizar el secado.

2. Descripción de los métodos de análisis para la determinación de las características fisicoquímicas de la leche cruda de vaca

2.1. Determinación del pH- método potenciómetro

- Realizar la calibración del pH-metro microprocesador Q400MT.
- Preparar la muestra y colocarla en un vaso de precipitación.
- Lavar el electrodo y sensor de temperatura del pH-metro con agua destilada y secarlos.
- Colocar el electrodo y sensor de temperatura en la muestra.
- Elegir la opción “pH” que aparece en la pantalla del pHmetro y presionar el botón “ENTER”.
- Dejar estabilizarse el valor del pH y temperatura en la pantalla hasta que aparezca la palabra “OK”.

2.2. Determinación de la Acidez (AOAC 947.05)

- Medir exactamente 20 mL de muestra o pesar con exactitud alrededor de 20 g.
- Colocar en un matraz Erlenmeyer de 250 mL.

- Diluir con aproximadamente 2 veces su volumen con agua destilada libre de CO₂ (para eliminar el CO₂ hervirla 5 min y enfriarla evitando la incorporación de aire).
- Agregar 2 mL de fenofaleína al 1 % (solución de fenofaleína 1 % en etanol de 95 % v/v), y titular con NaOH 0,1 N hasta color rosa débil pero persistente. Expresar los resultados en % en ácido láctico p/p.

$$\% \text{ Ácido cítrico} = \frac{N \cdot V \cdot \text{pe. ácido láctico}}{W} \times 100$$

Donde:

N : normalidad de la solución de NaOH

V : mL de NaOH gastados en la titulación

Pe. ácido láctico: peso mili equivalente del ácido láctico

W : peso de la muestra, g

2.3. Determinación de la densidad

- Para la determinación de la densidad, se debe entibiar la muestra en un vaso de precipitación dentro de un baño maría, hasta alcanzar una temperatura entre 40- 45 °C, manteniéndola durante 5 min., mezclar, enfriar hasta que la muestra alcance 20 ±1 °C, vaciar la muestra a una probeta, manteniendo ésta en forma inclinada para evitar formación de espuma. Introducir el lactodensímetro y una vez en reposo registrar la lectura.

2.4. Determinación de sólidos totales – método directo por balanza de humedad (AOAC 952.23)

- Tarar la balanza.
- Pesar 2 g de muestra en el platillo de balanza de humedad.
- Esparcir la muestra uniformemente.

- Presionar el botón “START” dos veces seguidas, las luces halógenas de la balanza se prenderán para empezar a extraer la humedad de la muestra.
- Cuando toda la humedad se haya extraído, la balanza emitirá un sonido, en ese momento anotar la lectura obtenida en porcentaje de humedad.
- Obtener el porcentaje de sólidos por diferencia, mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ ST} = 100 - H$$

Donde:

% ST : Sólidos Solubles totales, %

H : Lectura de la balanza

2.5. Análisis microbiológico – Prueba de la reductosa azul de metileno

- Homogenizar la muestra agitando manualmente 25 veces.
- Trabajar en condiciones de esterilidad y evitar la exposición a la luz solar.
- Tomar 10 mL de leche en un tubo estéril de 16 x 160 cerrado con un tapón de goma que haya sido esterilizado por ebullición en agua destilada durante 10 minutos o en autoclave, cuidando de no mojar un costado de la pared interior del tubo.
- Añadir 0,25 mL de solución de azul de metileno, es importante evitar el contacto de la pipeta con la leche; si esta eventualidad se produce, hay que utilizar una nueva pipeta estéril para los análisis siguientes.
- El tubo se cierra con el tapón de goma que se manipula con unas pinzas flameadas. Se voltea una o dos veces para obtener una mezcla homogénea de la leche y el colorante.

- En los 5 minutos siguientes, se lleva a un baño de agua a 37 °C, anotando con precisión el momento de la inmersión. El nivel de agua del baño debe sobrepasar al de la leche en el tubo.
- Cada media hora se controla la reacción. Los tubos decolorados se sacan del baño, anotando el tiempo en el que se ha producido la decoloración.
- Los tubos cuyo contenido permanece azul, se agitan una vez cada media hora y se continúa la operación hasta la desaparición del color azulado.
- Se pueden calcular aproximadamente los resultados del test del azul de metileno de la siguiente forma (Universidad de Santiago de Chile, 2000):

Tabla 14. Interpretación de los resultados del test de azul de metileno

Tiempo de decoloración, h	Bacterias / mL	Calidad de la leche
5	$10^5 - 2 \times 10^5$	Buena
2 - 4	$2 \times 10^5 - 2 \times 10^6$	Buena regular
< 2	$2 \times 10^6 - 10^7$	Insuficiente

Fuente: Universidad de Santiago Chile

ANEXO 4

1. Preparación del TCA (Ácido Tricloroacético) al 25 %

- Pesar 5 g de ácido tricloroacético químicamente puro.
- Adicionar 100 mL de agua destilada.
- Disolver el ácido, agitando constantemente.

2. Preparación de la solución de látex del fruto de papayita de monte liofilizado

- Pesar 2 g de látex por cada tratamiento estudiado.
- Diluir en 10 mL de agua destilada.
- Disolver el látex, agitando constantemente

ANEXO 5

1. Procedimiento para la cuantificación de la actividad proteolítica de la papaína mediante el método modificado de kunits

Se empleó la metodología del proyecto de tesis medición de la actividad proteolítica de la papaína (Mejía y Vega, 2010). Adaptada a las consideraciones empleadas.

- Rotular los tubos de la siguiente manera: E1, E2, E3, E4, E0 (blanco).
- En cinco tubos de ensayo, pipetear 3 mL de leche entera ajustado a pH 7 (Con ácido cítrico 0.05M o Hidróxido sodio 0.2N).
- Colocar los tubos en baño maría a 40 °C y dejar reposar por 10 minutos.
- En el tubo E1, E2, E3, E4 adicionar alicuotas de 1, 2, 3 y 4 mL de la solución papaína a cada tubo respectivamente, agitar y colocar en el baño maría durante 30 min.
- Detener la reacción adicionando 3 mL de solución de ácido tricloroacético a los tubos E1, E2, E3, E4, E0 agitar después de cada adición.
- Colocar los tubos en baño maría a 40 °C durante una hora para permitir la coagulación completa de la proteína precipitada.
- Filtrar en papel filtro Whatman # 42.
- Centrifugar por 15 min a 2500 rpm.
- Leer las absorbancias del sobrenadante a 280 nm y el blanco (solución ácido tricloroacético).

1.1. Cálculo de la cuantificación de la actividad proteolítica de la papaína mediante un modelo matemático

Para calcular las unidades tríplicas de papaína (UTP), es necesario realizar las lecturas de absorbancia a diferentes concentraciones el cual permitió realizar un modelamiento matemático para encontrar la ecuación de la recta detallada a continuación:

Ecuación de la recta:

$$Y = m X + b$$

$$UTP = \frac{m}{\theta}$$

θ = Tiempo de digestión

m = Pendiente

ANEXO 6

7.1. Análisis estadístico del liofilizado de látex de papayita de monte.

Para el análisis estadístico se utilizó el software SPSS 15.0 para Windows

Tabla 15. Actividad proteolítica en UTP del látex del fruto papayita de monte, liofilizado según los tratamientos.

Temperatura de Liofilizado (A)	50 °C			55 °C			60 °C		
Tiempo de Congelación (B)	8 h	12 h	16 h	8 h	12 h	16 h	8 h	12 h	16 h
Tratamientos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
R1	0.0083	0.0126	0.0076	0.0055	0.0163	0.0089	0.0044	0.0058	0.0062
R2	0.0088	0.0116	0.0072	0.0062	0.0135	0.0085	0.0042	0.0062	0.0066

7.1.1. Análisis de varianza

Pruebas de los efectos inter – sujetos

Variable dependiente: Actividad proteolítica (UTP)

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	,000(a)	8	2,25E-005	39,533	,000
Intersección	,001	1	,001	2149,642	,000
Tratamiento	,000	8	2,25E-005	39,533	,000
Error	5,12E-006	9	5,69E-007		
Total	,001	18			
Total corregida	,000	17			

a R cuadrado = ,972 (R cuadrado corregida = ,948)

Variable dependiente: Actividad proteolítica (UTP)

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	,000(a)	8	2,25E-005	39,533	,000
Intersección	,001	1	,001	2149,642	,000
A	6,61E-005	2	3,30E-005	58,079	,000
B	7,26E-005	2	3,63E-005	63,794	,000
A * B	4,12E-005	4	1,03E-005	18,129	,000
Error	5,12E-006	9	5,69E-007		
Total	,001	18			
Total corregida	,000	17			

a R cuadrado = ,972 (R cuadrado corregida = ,948)

Reuniendo ambos resultados tenemos

Tabla 16. Esquema del análisis de varianza: Cuadro ANOVA

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Tratamiento	0,000	8	2,25E-005	39,533	0,000
A	6,61E-005	2	3,30E-005	58,079	0,000
B	7,26E-005	2	3,63E-005	63,794	0,000
A * B	4,12E-005	4	1,03E-005	18,129	0,000
Error	5,12E-006	9	5,69E-007		
Total corregida	0,000	17			

$\alpha = 5 \%$

Variable dependiente: Actividad proteolítica (UTP)

7.1.2. Prueba comparación múltiple de tukey

Tabla 17. Comparación de los tratamientos del factor A (temperatura de liofilizado) y factor B (tiempo de congelación), nivel de significancia de 0,05 (Tukey)

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación	Intervalo de confianza al 95%.	
		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
1,00	2,00	-,003550000(*)	,0007540835	,018	-,006533199	-,000566801
	3,00	,001116667	,0007540835	,840	-,001866532	,004099866
	4,00	,002700000	,0007540835	,083	-,000283199	,005683199
	5,00	-,006333333(*)	,0007540835	,000	-,009316532	-,003350134
	6,00	-,000166667	,0007540835	1,000	-,003149866	,002816532
	7,00	,004250000(*)	,0007540835	,006	,001266801	,007233199
	8,00	,002583333	,0007540835	,103	-,000399866	,005566532
	9,00	,002183333	,0007540835	,208	-,000799866	,005166532
2,00	1,00	,003550000(*)	,0007540835	,018	,000566801	,006533199
	3,00	,004666667(*)	,0007540835	,003	,001683468	,007649866
	4,00	,006250000(*)	,0007540835	,000	,003266801	,009233199
	5,00	-,002783333	,0007540835	,072	-,005766532	,000199866
	6,00	,003383333(*)	,0007540835	,025	,000400134	,006366532
	7,00	,007800000(*)	,0007540835	,000	,004816801	,010783199
	8,00	,006133333(*)	,0007540835	,000	,003150134	,009116532
	9,00	,005733333(*)	,0007540835	,001	,002750134	,008716532
3,00	1,00	-,001116667	,0007540835	,840	-,004099866	,001866532
	2,00	-,004666667(*)	,0007540835	,003	-,007649866	-,001683468
	4,00	,001583333	,0007540835	,524	-,001399866	,004566532
	5,00	-,007450000(*)	,0007540835	,000	-,010433199	-,004466801
	6,00	-,001283333	,0007540835	,735	-,004266532	,001699866
	7,00	,003133333(*)	,0007540835	,038	,000150134	,006116532
	8,00	,001466667	,0007540835	,605	-,001516532	,004449866

4,00	9,00	,001066667	,0007540835	,867	-,001916532	,004049866
	1,00	-,002700000	,0007540835	,083	-,005683199	,000283199
	2,00	-,006250000(*)	,0007540835	,000	-,009233199	-,003266801
	3,00	-,001583333	,0007540835	,524	-,004566532	,001399866
	5,00	-,009033333(*)	,0007540835	,000	-,012016532	-,006050134
	6,00	-,002866667	,0007540835	,062	-,005849866	,000116532
	7,00	,001550000	,0007540835	,547	-,001433199	,004533199
	8,00	-,000116667	,0007540835	1,000	-,003099866	,002866532
	9,00	-,000516667	,0007540835	,998	-,003499866	,002466532
5,00	1,00	,006333333(*)	,0007540835	,000	,003350134	,009316532
	2,00	,002783333	,0007540835	,072	-,000199866	,005766532
	3,00	,007450000(*)	,0007540835	,000	,004466801	,010433199
	4,00	,009033333(*)	,0007540835	,000	,006050134	,012016532
	6,00	,006166667(*)	,0007540835	,000	,003183468	,009149866
	7,00	,010583333(*)	,0007540835	,000	,007600134	,013566532
	8,00	,008916667(*)	,0007540835	,000	,005933468	,011899866
	9,00	,008516667(*)	,0007540835	,000	,005533468	,011499866
	6,00	1,00	,000166667	,0007540835	1,000	-,002816532
2,00		-,003383333(*)	,0007540835	,025	-,006366532	-,000400134
3,00		,001283333	,0007540835	,735	-,001699866	,004266532
4,00		,002866667	,0007540835	,062	-,000116532	,005849866
5,00		-,006166667(*)	,0007540835	,000	-,009149866	-,003183468
7,00		,004416667(*)	,0007540835	,004	,001433468	,007399866
8,00		,002750000	,0007540835	,076	-,000233199	,005733199
9,00		,002350000	,0007540835	,156	-,000633199	,005333199
7,00		1,00	-,004250000(*)	,0007540835	,006	-,007233199
	2,00	-,007800000(*)	,0007540835	,000	-,010783199	-,004816801
	3,00	-,003133333(*)	,0007540835	,038	-,006116532	-,000150134
	4,00	-,001550000	,0007540835	,547	-,004533199	,001433199
	5,00	-,010583333(*)	,0007540835	,000	-,013566532	-,007600134
	6,00	-,004416667(*)	,0007540835	,004	-,007399866	-,001433468
	8,00	-,001666667	,0007540835	,468	-,004649866	,001316532
	9,00	-,002066667	,0007540835	,253	-,005049866	,000916532
	8,00	1,00	-,002583333	,0007540835	,103	-,005566532
2,00		-,006133333(*)	,0007540835	,000	-,009116532	-,003150134
3,00		-,001466667	,0007540835	,605	-,004449866	,001516532
4,00		,000116667	,0007540835	1,000	-,002866532	,003099866
5,00		-,008916667(*)	,0007540835	,000	-,011899866	-,005933468
6,00		-,002750000	,0007540835	,076	-,005733199	,000233199
7,00		,001666667	,0007540835	,468	-,001316532	,004649866
9,00		-,000400000	,0007540835	1,000	-,003383199	,002583199
9,00		1,00	-,002183333	,0007540835	,208	-,005166532
	2,00	-,005733333(*)	,0007540835	,001	-,008716532	-,002750134
	3,00	-,001066667	,0007540835	,867	-,004049866	,001916532
	4,00	,000516667	,0007540835	,998	-,002466532	,003499866
	5,00	-,008516667(*)	,0007540835	,000	-,011499866	-,005533468
	6,00	-,002350000	,0007540835	,156	-,005333199	,000633199
	7,00	,002066667	,0007540835	,253	-,000916532	,005049866
	8,00	,000400000	,0007540835	1,000	-,002583199	,003383199

Basado en las medias observadas.

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

Variable dependiente: Actividad proteolítica (UTP)

7.1.3. Representación de los grupos homogéneos

Tabla 18. Representación de los grupos homogéneos

Tratamientos	N	Subconjunto		
	1	2	3	1
T7	2	,004300000		
T4	2	,005850000	,005850000	
T8	2	,005966667	,005966667	
T9	2	,006366667	,006366667	
T3	2		,007433333	
T1	2		,008550000	
T6	2		,008716667	
T2	2			0,012100000
T5	2			0,014883333
Significación		0,253	0,062	0,072

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos.

Basado en la suma de cuadrados tipo III

El término error es la Media cuadrática (Error) = 5,69E-007.

Usa el tamaño muestral de la media armónica = 2,000

Alfa = ,05.

ANEXO 7

Tabla 19. Datos de absorbancia a una longitud de onda 280 nm, evaluados en muestras con diferentes concentraciones de papaína según tratamiento.

Repetición	Temperatura de Liofilizado		50 °C			55 °C			60 °C		
	Tiempo de Congelación		8 h	12 h	16 h	8 h	12 h	16 h	8 h	12 h	16 h
	Tratamientos		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
R1	Concentraciones	0,2 g	0.106	0,108	0,075	0,112	0,123	0,045	0,026	0,048	0,023
		0,4 g	0.167	0,195	0,142	0,164	0,253	0,143	0,075	0,084	0,095
		0,6 g	0.223	0,289	0,191	0,192	0,325	0,171	0,093	0,13	0,117
		0,8 g	0.253	0,328	0,211	0,213	0,425	0,214	0,107	0,148	0,139
R2		0,2 g	0.105	0,102	0,085	0,128	0,105	0,056	0,024	0,051	0,025
		0,4 g	0.171	0,156	0,152	0,163	0,256	0,123	0,071	0,095	0,096
		0,6 g	0.221	0,256	0,195	0,202	0,311	0,165	0,091	0,143	0,129
		0,8 g	0.264	0,301	0,215	0,238	0,356	0,212	0,102	0,158	0,145

Fuente: Elaboración propia

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaína con el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h de la Repetición 1)

Tabla 20. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,990	0,979	0,969	0,011

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 21. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,012	1	0,012	94,170	0,010
Residual	0,000	2	0,000		
Total	0,013	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 22. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,249	0,026	0,990	9,704	0,010
(Constante)	0,063	0,014		4,492	0,046

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,249x + 0,063$

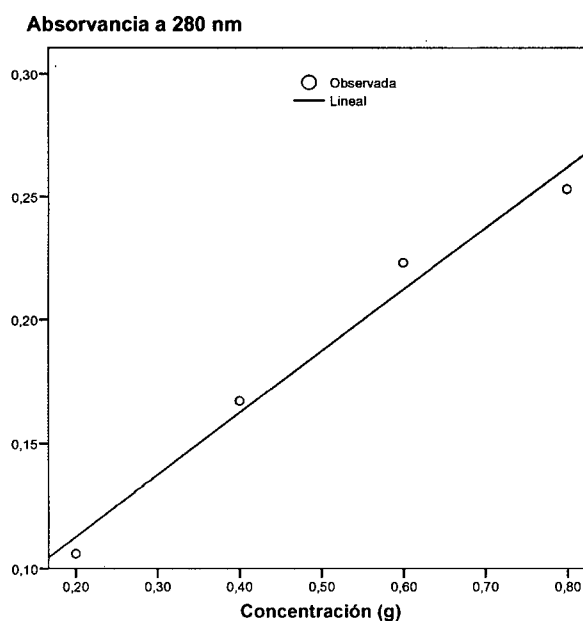


Figura 10. Representación de los datos experimentales (O) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaina con el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h de la Repetición 2)

Tabla 23. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,995	0,990	0,985	0,008

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 24. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,014	1	0,014	203,763	0,005
Residual	0,000	2	0,000		
Total	0,014	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 25. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,264	0,018	0,995	14,275	0,005
(Constante)	0,059	0,010		5,786	0,029

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,264x + 0,059$

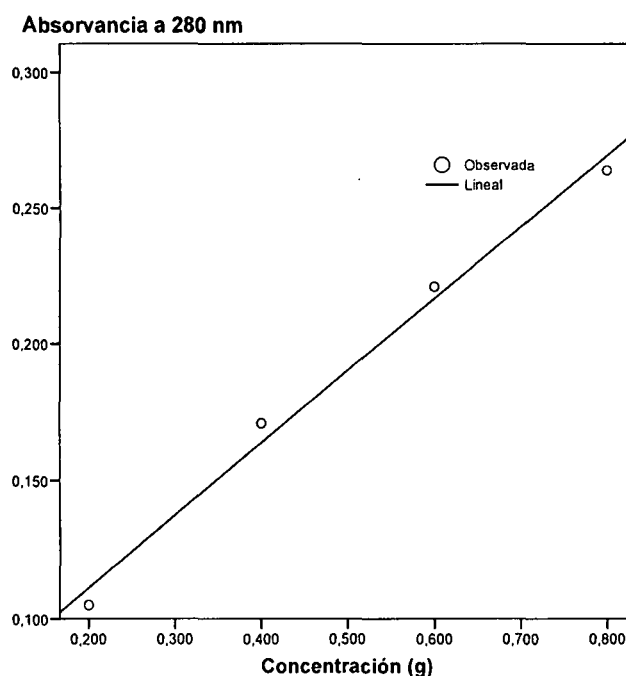


Figura 11. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaína con el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h de la Repetición 1)

Tabla 26. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,987	0,974	0,961	0,020

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 27. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,028	1	0,028	74,006	0,013
Residual	0,001	2	0,000		
Total	0,029	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 28. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,377	0,044	0,987	8,603	0,013
(Constante)	0,042	0,024		1,729	0,226

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,377x + 0,042$

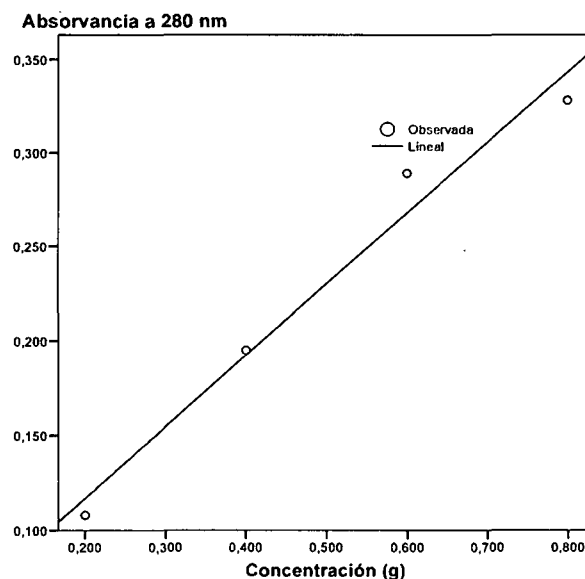


Figura 12. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaína con el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h de la Repetición 2)

Tabla 29. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,989	0,979	0,968	0,016

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 30. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,024	1	0,024	91,610	0,011
Residual	0,001	2	0,000		
Total	0,025	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 31. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,349	0,036	0,989	9,571	0,011
(Constante)	0,030	0,020		1,479	0,277

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,349x + 0,030$

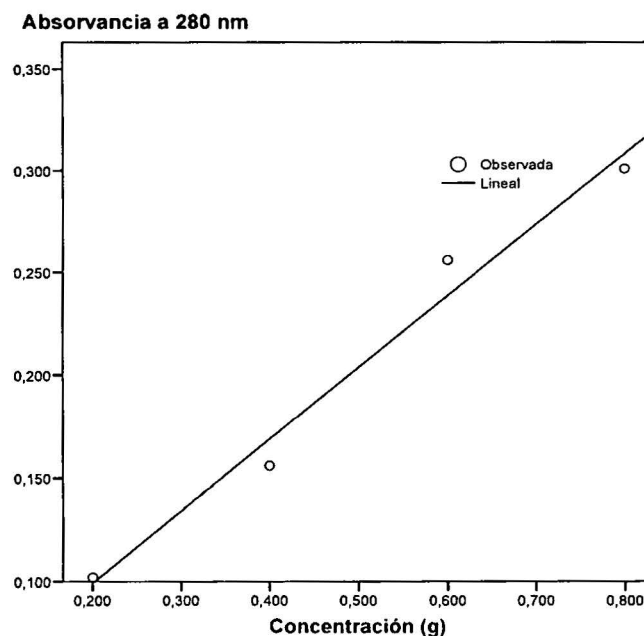


Figura 13. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaina con el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 16h de la Repetición 1)

Tabla 32. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,974	0,949	0,924	0,017

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 33. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,010	1	0,010	37,408	0,026
Residual	0,001	2	0,000		
Total	0,011	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 34. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,229	0,037	0,974	6,116	0,026
(Constante)	0,041	0,020		1,979	0,186

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,229x + 0,041$

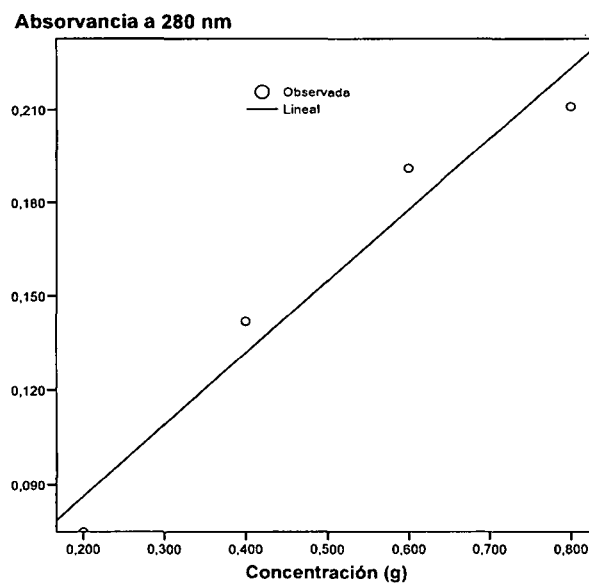


Figura 14. Representación de los datos experimentales (O) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaina con el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 16h de la Repetición 2)

Tabla 35. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,972	0,944	0,917	0,017

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 36. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,009	1	0,009	33,947	0,028
Residual	0,001	2	0,000		
Total	0,010	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 37. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,217	0,037	0,972	5,826	0,028
(Constante)	0,054	0,020		2,629	0,119

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,217x + 0,054$

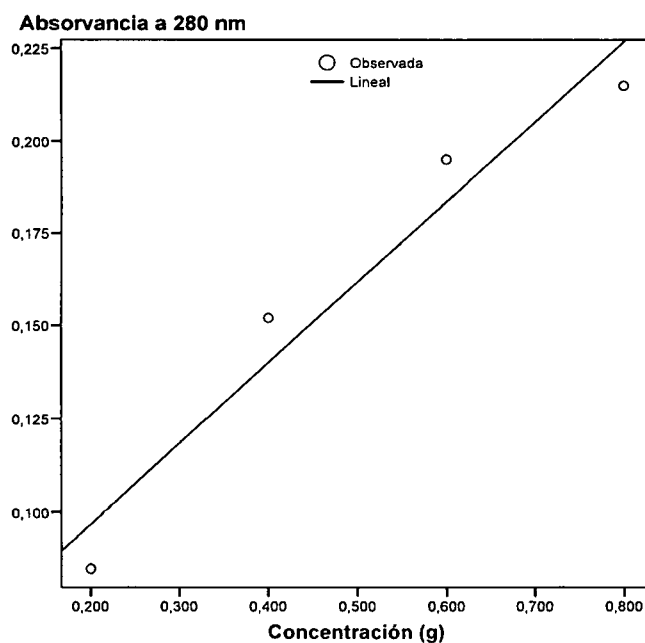


Figura 15. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 50 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papáina con el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 8h de la Repetición 1)

Tabla 38. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,978	0,956	0,933	0,011

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 39. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,005	1	0,005	43,016	0,022
Residual	0,000	2	0,000		
Total	0,006	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 40. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,166	0,025	0,978	6,559	0,022
(Constante)	0,088	0,014		6,331	0,024

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,166x + 0,088$

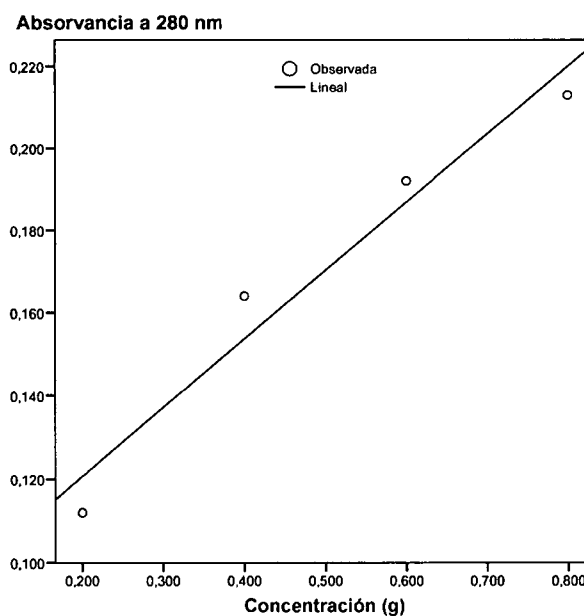


Figura 16. Representación de los datos experimentales (○) y de la línea recta (—) generada por el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papáina con el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 8h de la Repetición 2)

Tabla 41. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
1,000	1,000	0,999	0,001

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 42. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,007	1	0,007	5043,000	0,000
Residual	0,000	2	0,000		
Total	0,007	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 43. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,185	0,003	1,000	71,014	0,000
(Constante)	0,091	0,001		63,597	0,000

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,185x + 0,091$

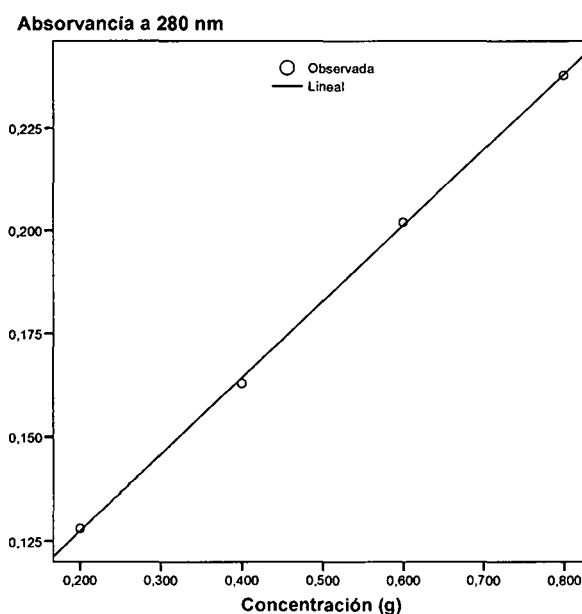


Figura 17. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaina con el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 12h de la Repetición 1)

Tabla 44. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,994	0,988	0,982	0,017

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 45. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,048	1	0,048	160,808	0,006
Residual	0,001	2	0,000		
Total	0,048	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 46. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,489	0,039	0,994	12,681	0,006
(Constante)	0,037	0,021		1,752	0,222

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,489x + 0,037$

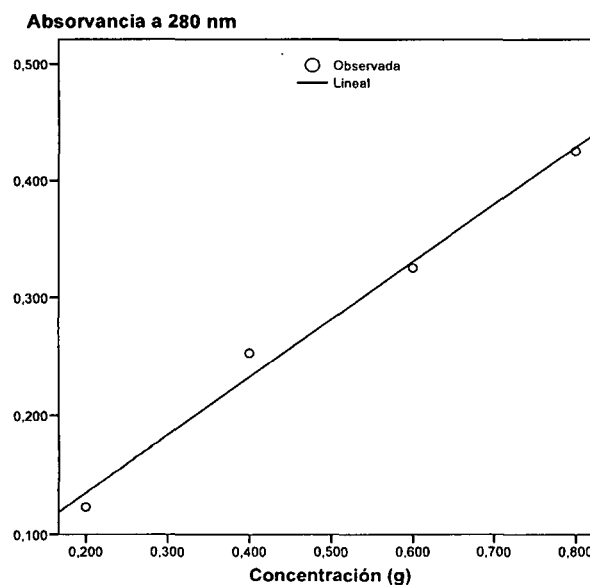


Figura 18. Representación de los datos experimentales (○) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaina con el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 12h de la Repetición 2)

Tabla 47. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,955	0,911	0,867	0,040

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 48. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,033	1	0,033	20,538	0,045
Residual	0,003	2	0,002		
Total	0,036	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 49. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,404	0,089	0,955	4,532	0,045
(Constante)	0,055	0,049		1,126	0,377

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,404x + 0,055$

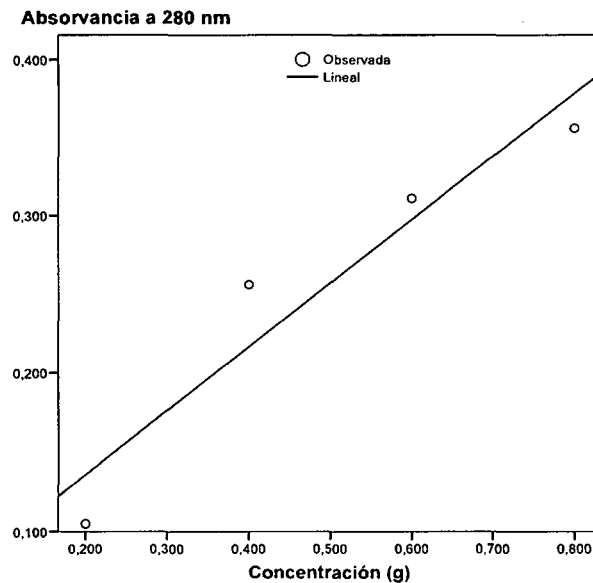


Figura 19. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaína con el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 16h de la Repetición 1)

Tabla 50. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,963	0,928	0,891	0,024

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 51. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,014	1	0,014	25,613	0,037
Residual	0,001	2	0,001		
Total	0,015	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 52. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,268	0,053	0,963	5,061	0,037
(Constante)	0,010	0,029		0,328	0,774

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,268x + 0,010$

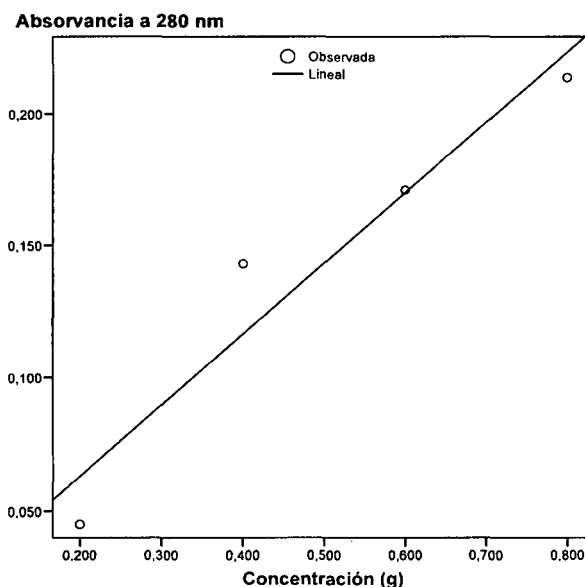


Figura 20. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaina con el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 16h de la Repetición 2)

Tabla 53. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,994	0,989	0,983	0,009

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 54. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,013	1	0,013	179,379	0,006
Residual	0,000	2	0,000		
Total	0,013	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 55. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,255	0,019	0,994	13,393	0,006
(Constante)	0,012	0,010		1,103	0,385

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,255x + 0,012$

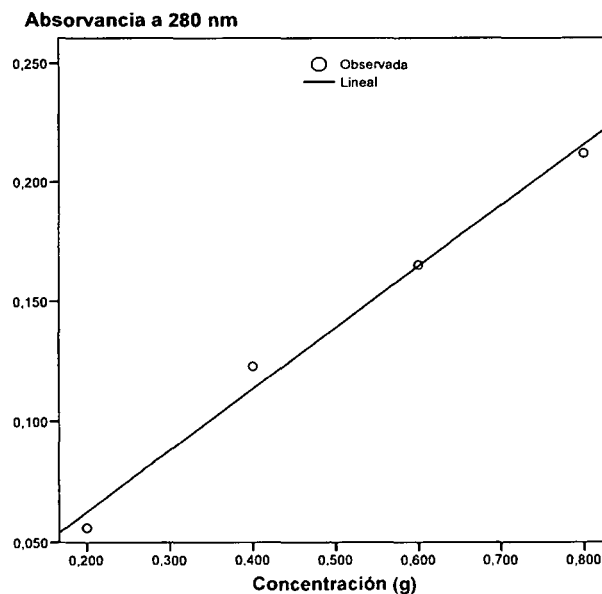


Figura 21. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 55 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papáina con el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 8h de la Repetición 1)

Tabla 56. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,953	0,909	0,863	0,013

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 57. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,003	1	0,003	19,878	0,047
Residual	0,000	2	0,000		
Total	0,004	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 58. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,131	0,029	0,953	4,458	0,047
(Constante)	0,010	0,016		0,624	0,596

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,131x + 0,010$

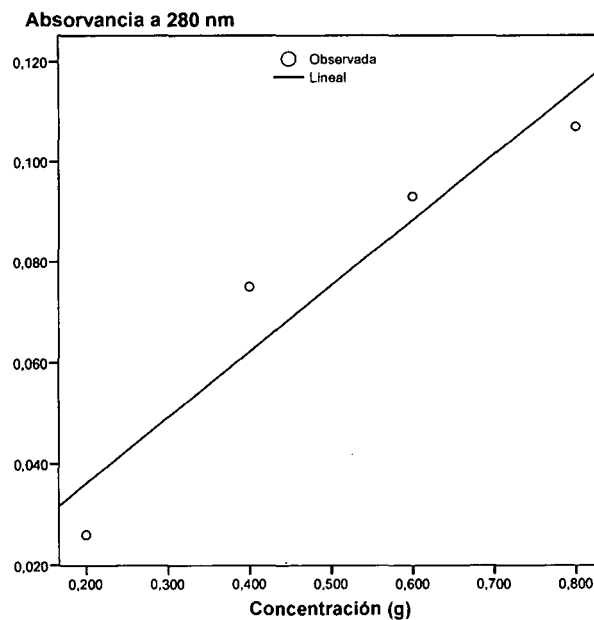


Figura 22. Representación de los datos experimentales (O) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 1).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaina con el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 8h de la Repetición 2)

Tabla 59. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,951	0,905	0,857	0,013

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 60. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,003	1	0,003	18,964	0,049
Residual	0,000	2	0,000		
Total	0,004	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 61. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,127	0,029	0,951	4,355	0,049
(Constante)	0,009	0,016		0,532	0,648

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,127x + 0,009$

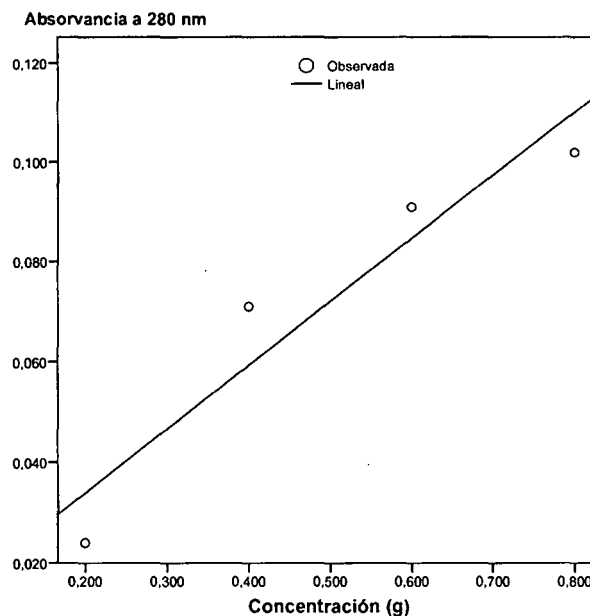


Figura 23. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 8h, Repetición 2).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaína con el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 12h de la Repetición 1)

Tabla 62. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,987	0,975	0,963	0,009

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 63. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,006	1	0,006	78,144	0,013
Residual	0,000	2	0,000		
Total	0,006	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 64. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,173	0,020	0,987	8,840	0,013
(Constante)	0,016	0,011		1,493	0,274

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,173x + 0,016$

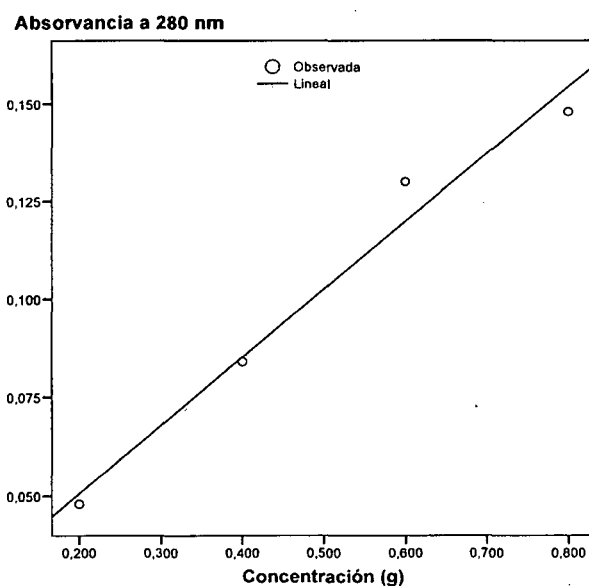


Figura 24. Representación de los datos experimentales (O) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 1).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaína con el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 12h de la Repetición 2)

Tabla 65. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,980	0,961	0,941	0,012

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 66. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,007	1	0,007	48,856	0,020
Residual	0,000	2	0,000		
Total	0,007	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 67. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,185	0,026	0,980	6,990	0,020
(Constante)	0,020	0,014		1,349	0,310

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,185x + 0,020$

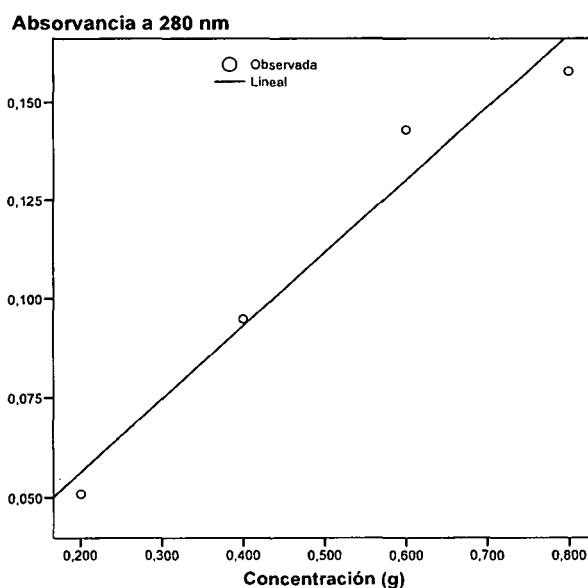


Figura 25. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 12h, Repetición 2).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaína con el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 16h de la Repetición 1)

Tabla 68. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,949	0,901	0,852	0,019

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 69. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,007	1	0,007	18,253	0,051
Residual	0,001	2	0,000		
Total	0,008	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 70. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,185	0,043	0,949	4,272	0,051
(Constante)	0,001	0,024		0,042	0,970

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,185x + 0,001$

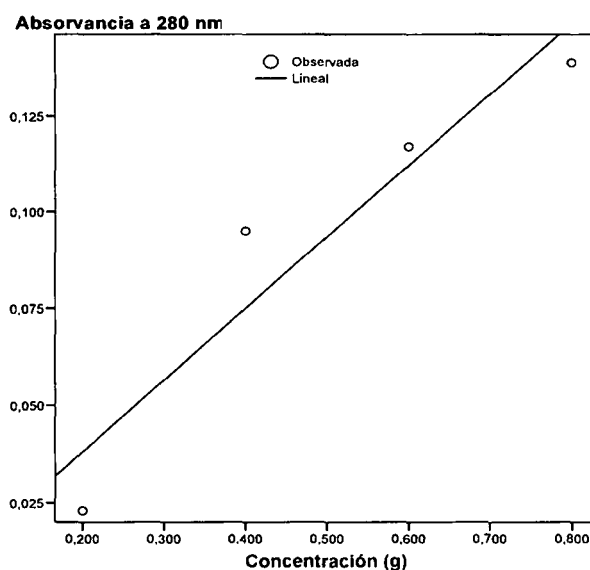


Figura 26. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 1).

Análisis de regresión lineal de la absorbancia en función de la concentración de papaína con el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 16h de la Repetición 2)

Tabla 71. Resumen del modelo de regresión lineal (T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2).

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
0,953	0,908	0,863	0,020

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 72. Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de regresión lineal. (T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,008	1	0,008	19,844	0,047
Residual	0,001	2	0,000		
Total	0,009	3			

La variable independiente es Concentración (g).

Tabla 73. Coeficientes de la ecuación lineal (T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta	B	Error típico
Concentración (g)	0,197	0,044	0,953	4,455	0,047
(Constante)	0,001	0,024		0,021	0,985

La ecuación de la línea recta será de la forma: $y = 0,197x + 0,001$

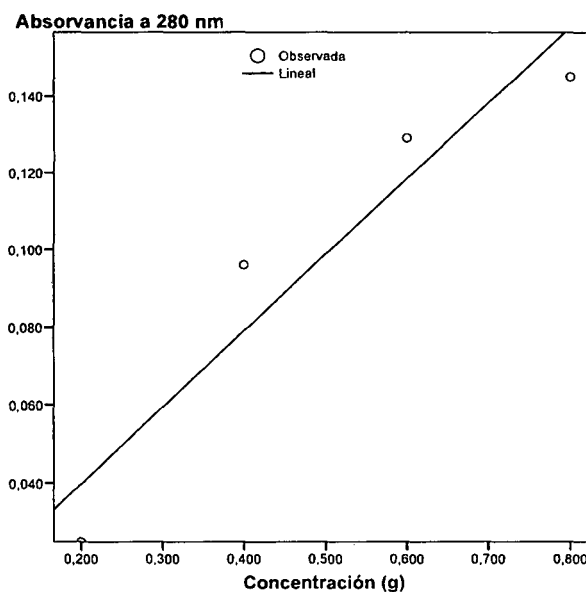
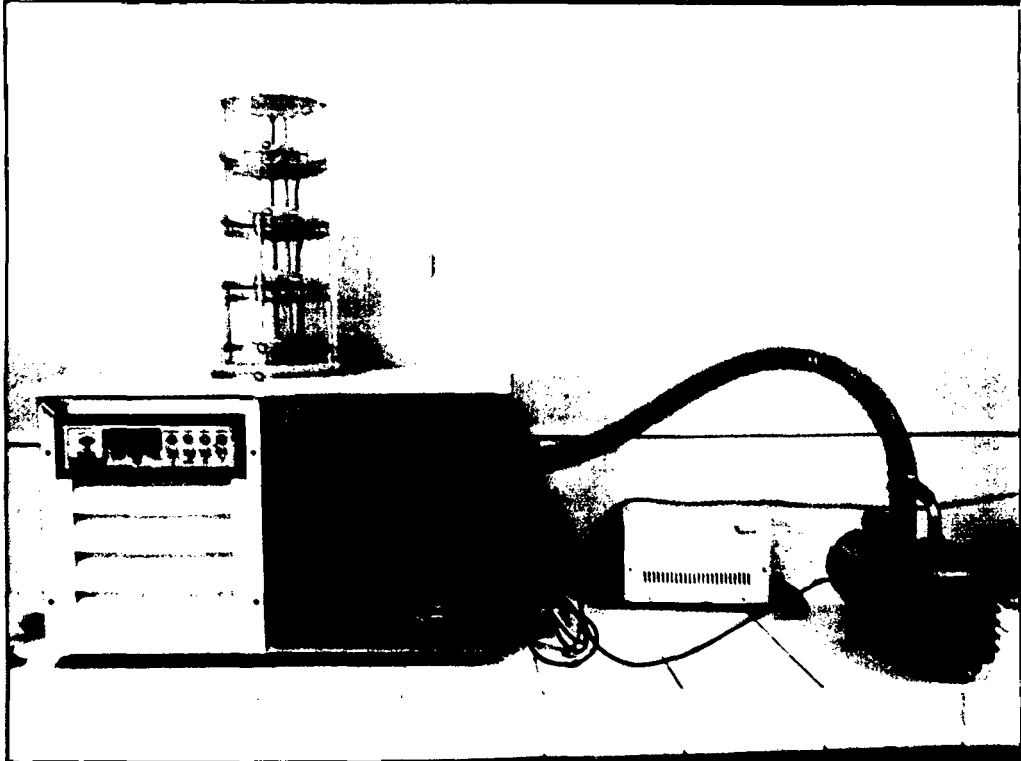


Figura 27. Representación de los datos experimentales (0) y de la línea recta (-) generada por el SPSS (T1= 60 °C, Θ 1 = 16h, Repetición 2).

ANEXO 8

FOTOGRAFÍAS DE LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO DE TESIS



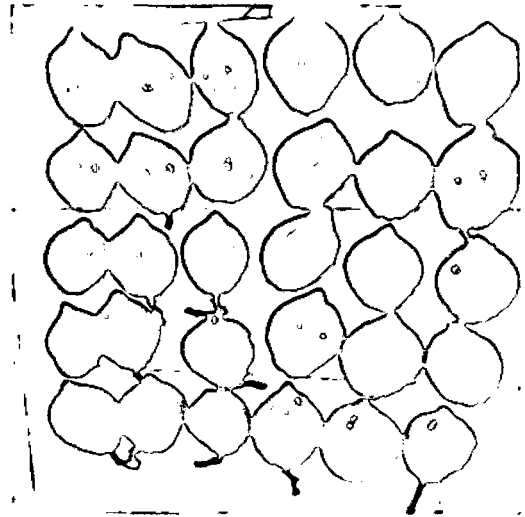
Fotografía 1. Equipo Liofilizador del Laboratorio de Ingeniería de la UNTRM – AMAZONAS.



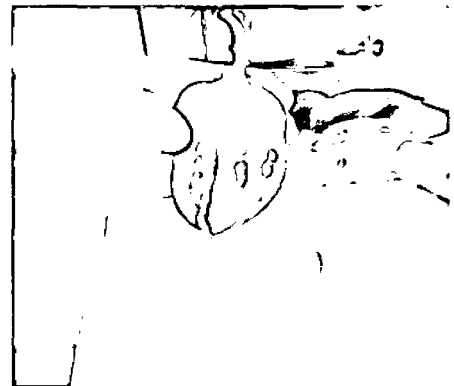
Fotografía 2. Frutos de papayita de monte en sus diferentes estados de maduración.



Fotografía 3. Lavado de la papayita de monte.



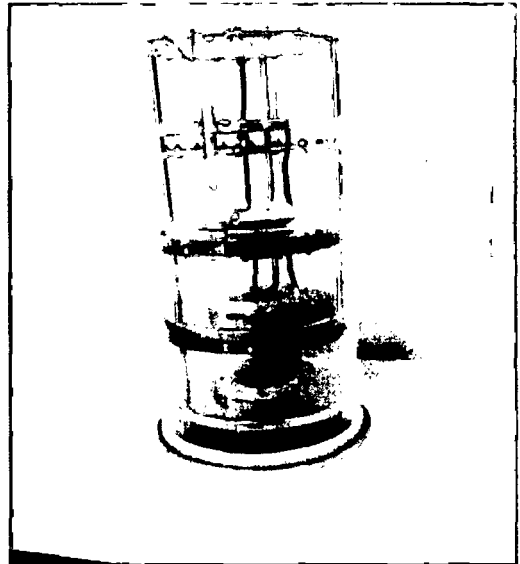
Fotografía 4. Selección y clasificación de la papayita de monte.



Fotografía 5. Extracción del látex a partir de la papayita de monte.



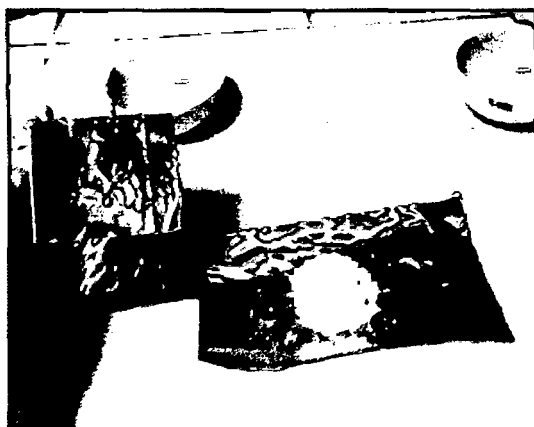
Fotografía 6. Congelación del látex extraído.



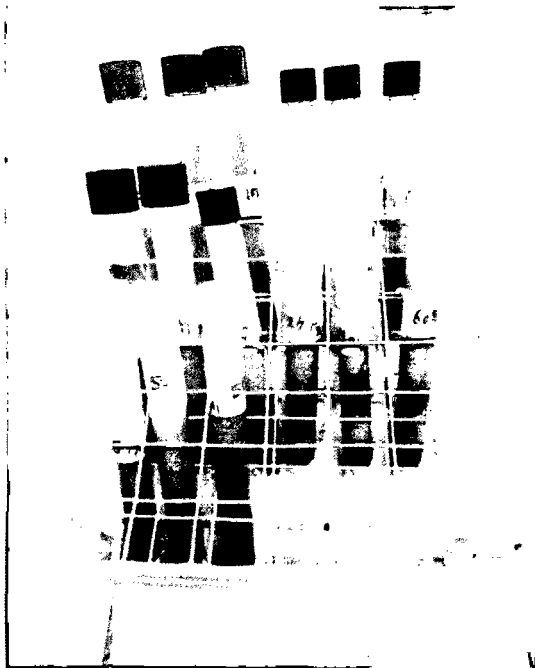
Fotografía 7. Liofilización del látex.



Fotografía 8. Pulverización del látex liofilizado.



Fotografía 9. Envasado del látex liofilizado.



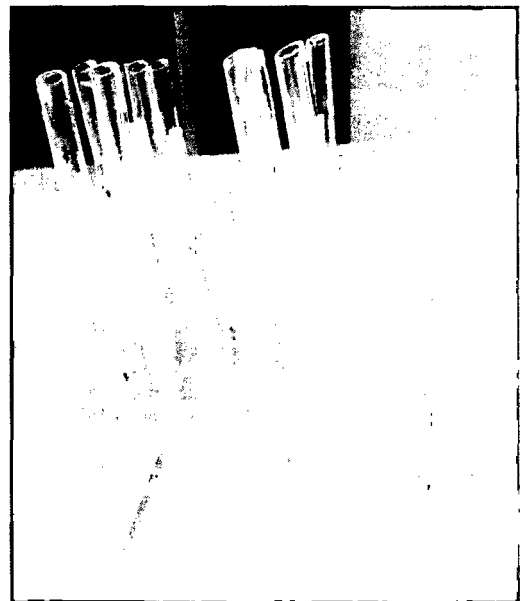
Fotografía 10. Solución de látex.

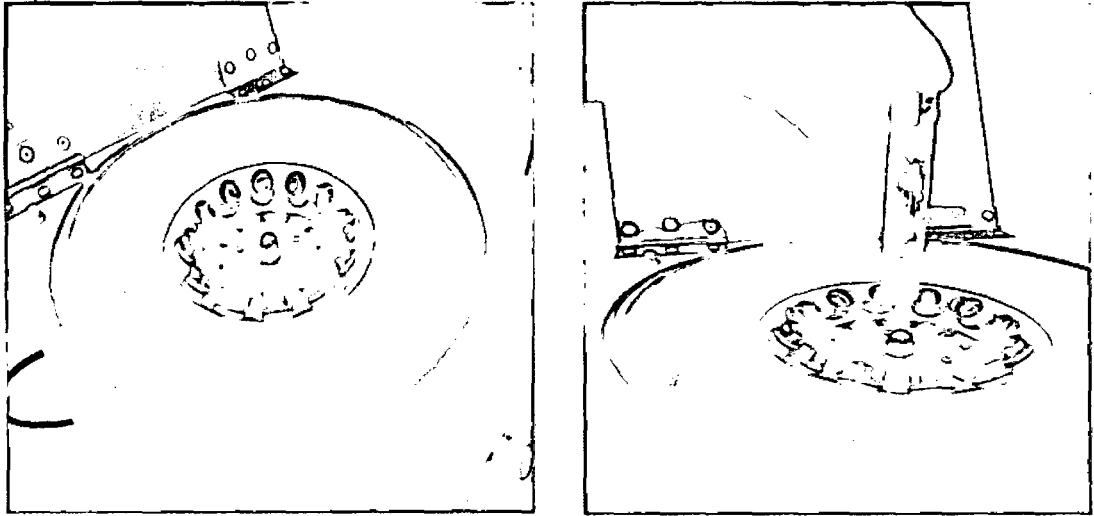


Fotografía 11. Muestras de látex y sustrato de leche de vaca en baño maría.

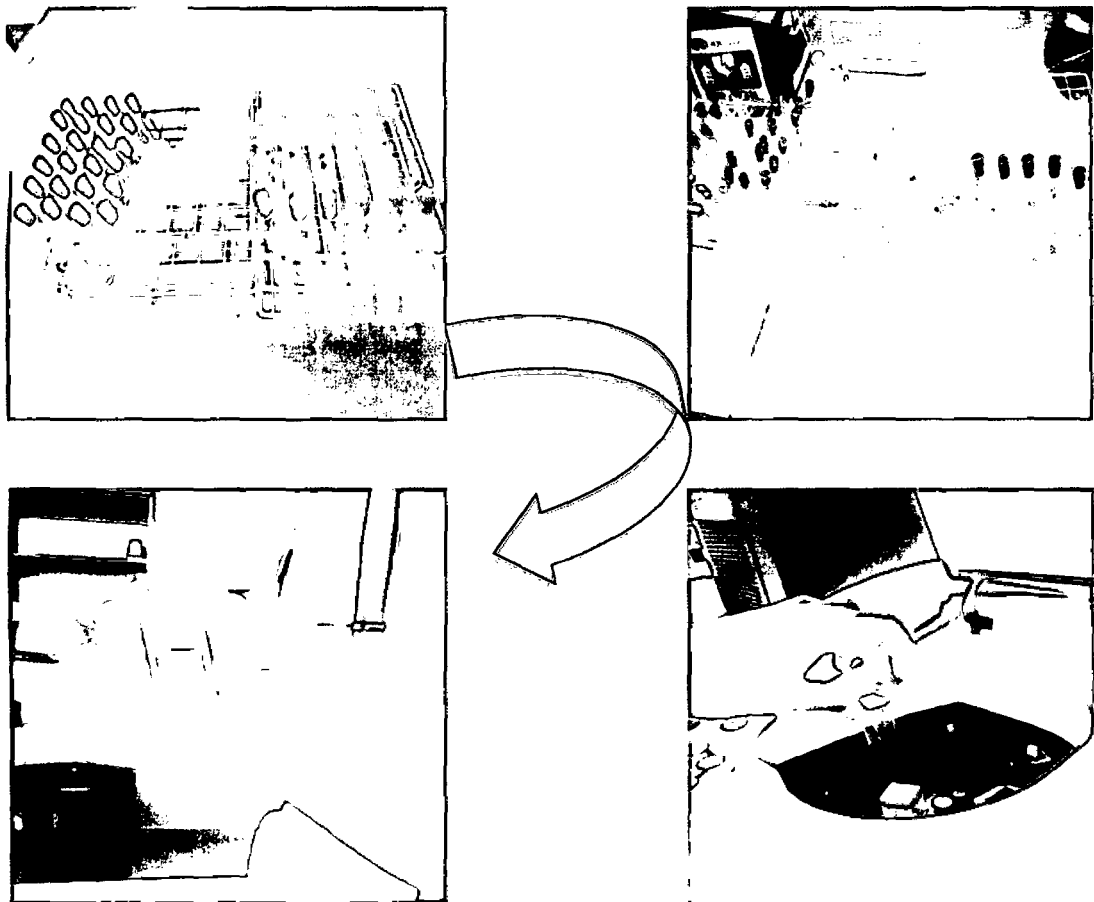


Fotografía 12. Muestras de látex en sustrato de leche de vaca hidrolizadas con TCA.





Fotografía 13. Centrifugación de la solución para realizar las lecturas de absorbancia.



Fotografía 14. Lectura de absorbancia a 280 nm de la solución centrifugada para determinar las UTP.