

PROPUESTA DE APROVECHAMIENTO DE PIÑA MAYANES (*ANANAS COMOSUS*)
PARA EXTRACCIÓN DE BROMELINA CON ETANOL



UNIMETA
▪ *Fundada en 1985* ▪

LAURA VANESSA RAMIREZ CAICEDO

CORPORACION UNIVERSITARIA DEL META
FACULTAD DE INGENIERIAS
PROGRAMA DE INGENIERIA DE ALIMENTOS
VILLAVICENCIO, META 2024

APROVECHAMIENTO INTEGRAL DE PIÑA MAYANES EN DOS ESTADOS DE
MADURACIÓN PARA EXTRACCIÓN DE BROMELINA: ALTERNATIVA SOSTENIBLE EN
EL META

PARA EL REFUERZO DE HABILIDADES ACADÉMICAS
Y PERSONALES EN LOS UNIMETENSES.

LAURA VANESSA RAMIREZ CAICEDO

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO OPCIÓN DE GRADO PARA
OPTAR AL TÍTULO DE PROFESIONAL EN INGENIERIA DE ALIMENTOS

ASESOR DISCIPLINAR
ANA LUCIA DELGADO SOLANO

ASESOR METODOLÓGICO
NICOLAS ANDRES BARRETO MONTENEGRO

CORPORACIÓN UNIVERSITARIA DEL META
FACULTAD DE INGENIERIA
PROGRAMA DE INGENIERIA DE ALIMENTOS
VILLAVICENCIO – 2024

Notas de aceptación

Firma del jurado 1

Firma del jurado 2

Contenido

Lista de ilustraciones	¡Error! Marcador no definido.
Lista de gráficas.....	¡Error! Marcador no definido.
Lista de tablas.....	¡Error! Marcador no definido.
Glosario.....	8
Resumen ejecutivo	9
Palabras clave	10
Introducción	11
Estado del arte.....	12
Planteamiento del Problema y la pregunta de investigación:.....	16
Objetivos	17
General:	17
Específicos:.....	17
Justificación	18
Marco de Referencia	20
Marco geográfico	20
Marco histórico.....	20
Marco Teórico.....	24
Enzimas.....	24
Acción de la bromelina en la carne.....	24
Acción de la bromelina en la elaboración de cuajada	24
Generalidades De La Piña	25
Estados De Maduración De La Piña.....	27
Piña variedad mayanes o piña llano moreno.	27
Marco conceptual.....	27
Bromelina	27
Métodos de extracción	29
Extracción con etanol.....	29
Centrifugación	30
Destilación	30
Marco legal.....	31
Metodología:	32
Muestreo:	¡Error! Marcador no definido.
Procedimiento experimental	32
Preparación de la piña:	32

Homogeneización:	32
Centrifugación:	32
Recuperación del etanol:	33
Evaluación enzimática de la bromelina obtenida:	34
1. Uso de bromelina como ablandador de carne	34
2. Elaboración de cuajada con cuajo comercial (renina)	35
Materiales: Para el ensayo experimental se requerirán los siguientes materiales y equipos:.....	36
Resultados y discusión.....	38
Aplicación prueba T-Student.....	38
Recuperación de etanol:.....	42
Análisis de la calidad enzimática de la bromelina extraída	45
Análisis de la calidad enzimática de la bromelina como ablandador de carne	45
Producción de queso a partir de bromelina extraída de pulpa y cascaras de la piña como enzima proteolítica precipitadora de la caseína de la leche.	48
Conclusiones	52
Bibliografía	53

Lista de graficas

Gráfica 1. Trabajos académicos a lo largo del tiempo sobre bromelina [2].	12
Gráfica 2. Países más activos en la publicación de trabajos académicos sobre bromelina [2].	13
Gráfica 3. Participación en la producción de Piña en el Departamento del Meta. [12]	22
Gráfica 4. Evaluación agropecuaria de la piña en el municipio de Puerto Rico, Meta 2019- 2022 [24].	23
Gráfica 5. Distribución de bromelina y algunas características fisicoquímicas [24]	29
Gráfica 6. Comparación de extracción de bromelina en cascara y pulpa según estado de maduración. Fuente propia.	41
Gráfica 7. Diagrama de caja y bigotes. Fuente propia	41
Gráfica 8. Curva de calibración. Fuente propia	43
Gráfica 9. Prueba hedónica de preferencia de producto – Carne. Fuente propia	47
Gráfica 10. Prueba hedónica de preferencia de producto – Quesos. Fuente propia	51

Lista de ilustraciones

Ilustración 1. Ubicación finca Villa Daniela [14].	20
Ilustración 2 Caracterización Zonas De Producción [23].	22
Ilustración 3 Energía de activación de una reacción química [15].	24
Ilustración 4. Características morfológicas de la Piña (annanas c-) [5].	26
Ilustración 5. Estados de Maduración de la Piña [22].	27
Ilustración 6. Estructura de la bromelina [16].	28
Ilustración 7. Centrifugación [25].	30
Ilustración 8. Montaje de un proceso de destilación simple [26].	31
Ilustración 9. Obtención de bromelina. Fuente propia	33
Ilustración 10. Uso de bromelina como ablandador de carne. Fuente propia.	34
Ilustración 11. Elaboración de cuajada. Fuente propia	35
Ilustración 12. PFD extracción de bromelina. Fuente propia	36
Ilustración 13. Recirculación de etanol. Fuente propia	44
Ilustración 14. Formato de prueba hedónica de carne. Fuente propia.	46
Ilustración 15. Formato de prueba hedónica de queso. Fuente propia.	50

Lista de tablas

Tabla 1. Cuadro comparativo sobre la extracción de bromelina con solventes orgánicos y sales. Fuente propia	14
Tabla 2. Exportación de piña en toneladas a nivel mundial [22].	20
Tabla 3. Área, Producción y Rendimiento Nacional [23].	21
Tabla 4 Valor agregado de las actividades económicas Meta [14].	23
Tabla 5. Taxonomía de la piña [19].	25
Tabla 6. Composición nutricional en 100 g de piña [20].	25
Tabla 7. Porcentaje de bromelina presente en la piña [19].	28
Tabla 8. Marco legal. Fuente propia.	31
Tabla 9. Materiales y equipos. Fuente propia	36
Tabla 10. Resultados obtenidos. Fuente propia	38
Tabla 11. Prueba Shapiro-Wilk. Fuente propia.	39
Tabla 12. Promedio de bromelina extraída. Fuente propia.	40
Tabla 13. recuperación de etanol. Fuente propia	42

<i>Tabla 14. Concentración de etanol vs grados Brix. Fuente propia</i>	43
<i>Tabla 15. concentración de etanol del destilado. Fuente propia</i>	43
<i>Tabla 16. Prueba hedónica – Carne. Fuente propia</i>	46
<i>Tabla 17. Prueba hedónica de quesos. Fuente propia</i>	50

Glosario

Bromelina: Enzima proteolítica extraída de la piña, activa en un amplio rango de pH. Se encuentra principalmente en la cáscara y corona del fruto.

Extracción con etanol: Método de extracción que se basa en la mayor solubilidad de la bromelina en etanol en comparación con el agua. Implica precipitación y centrifugación.

Estado de maduración: Etapa de desarrollo de la piña clasificada en rangos de 1 a 6 según el color externo y la translucidez interna.

Recirculación de etanol: Proceso de recuperación y reutilización del etanol empleado en la extracción, mediante destilación y medición de grados Brix.

Residuos agroindustriales: Subproductos orgánicos generados en los procesos productivos de la agroindustria, como cáscaras y coronas de piña.

Centrifugación: es un método por el cual se pueden separar sólidos de líquidos de diferente densidad por medio de una fuerza giratoria

Destilación: es el proceso de separar los componentes o sustancias de una mezcla líquida mediante el uso de la ebullición selectiva y la condensación

Resumen ejecutivo

Esta investigación evaluó el método de extracción con etanol para obtener bromelina de la piña mayanes en diferentes estados de maduración. Se encontró que el porcentaje de extracción fue significativamente mayor en la pulpa de piñas maduras (estado 6) con 25.3%, comparado a piñas verdes (estado 1) con sólo 5.42%. Esto sugiere que el contenido de bromelina varía según la madurez y que las piñas maduras son una fuente más rica.

Por otro lado, se evidenció que, mediante la destilación del etanol, se puede realizar una recuperación del 82% del volumen utilizado, con una concentración del 81%, lo que permite la reutilización del disolvente, disminuyendo costos y mejorando el aprovechamiento y la sostenibilidad ambiental del proceso de extracción de bromelina

Los resultados demuestran que el estado de madurez 6, normalmente desechado como residuo, es valioso para extraer mayor cantidad de bromelina. Aprovechar esta enzima de residuos de piña genera oportunidades económicas adicionales para la agroindustria local, alineadas con prácticas más sostenibles.

Palabras clave

- Bromelina
- Extracción con etanol
- Estado de maduración
- Recirculación de etanol
- Residuos agroindustriales
- Sostenibilidad
- Valor agregado
- Agroindustria
- Piña mayanes
- Solvente
- Centrifugación
- Enzima
- Destilación

Introducción

La presente investigación se enfoca en la extracción de bromelina de la piña Mayanes, con especial atención a dos estados de maduración: 1 y 6. La bromelina, presente principalmente en la cáscara y corona de la fruta, se ha identificado como un componente valioso desde el punto de vista nutricional y como un recurso potencial para generar valor en la agroindustria. La hipótesis central de la investigación sugiere que existe una diferencia significativa en la cantidad de bromelina extraída entre estos dos estados de maduración.

La piña Mayanes, perteneciente a la familia de las bromeliáceas, se ha destacado no solo por sus propiedades nutricionales sino también por ser una fuente rica en bromelina, una enzima proteolítica valiosa [1]. En el departamento del Meta, Colombia, la agroindustria de la piña ha sido una parte integral de la economía, sin embargo, los procesos productivos generan toneladas de residuos orgánicos. Aunque estos residuos contienen propiedades nutricionales y enzimáticas valiosas, la mayoría de ellos se destinan a usos convencionales como la alimentación animal o la producción de fertilizantes [2].

La crisis económica desencadenada por la pandemia de COVID-19 ha planteado nuevos desafíos para la agroindustria, resaltando la necesidad de encontrar alternativas rentables y sostenibles para aprovechar al máximo los subproductos de la piña. Este contexto ha generado una urgencia para no solo reducir los desechos agroindustriales sino también para diversificar las fuentes de ingresos y mejorar la sostenibilidad del sector [3].

El diseño experimental implementado se basa en la prueba T-Student para variables independientes, que permite comparar muestras y establecer diferencias significativas entre las medias. La elección de un intervalo de confianza del 95% y un margen de error del 5% refuerza la solidez de los resultados. Los hallazgos no solo respaldan la hipótesis de diferencias significativas en la cantidad de bromelina entre los estados de maduración 1 y 6, sino que también sugieren oportunidades estratégicas para la agroindustria [4].

El estado de maduración 6, comúnmente considerado como residuo, se revela como una fuente valiosa de bromelina. Este descubrimiento tiene el potencial de transformar la percepción de los residuos y abrir nuevas posibilidades de aprovechamiento. La aplicación de métodos estadísticos robustos agrega confianza a estos hallazgos, proporcionando una base sólida para la toma de decisiones en la agroindustria [5].

Además, la investigación aborda no solo la extracción de bromelina sino también la recuperación y reutilización del etanol empleado en el proceso. Esta estrategia no solo contribuye a reducir los costos asociados al solvente, sino que también mejora la sostenibilidad del proceso al minimizar su impacto ambiental. La circularidad en el uso del etanol no solo beneficia económicamente, sino que también alinea la agroindustria con prácticas más sostenibles.

Estado del arte

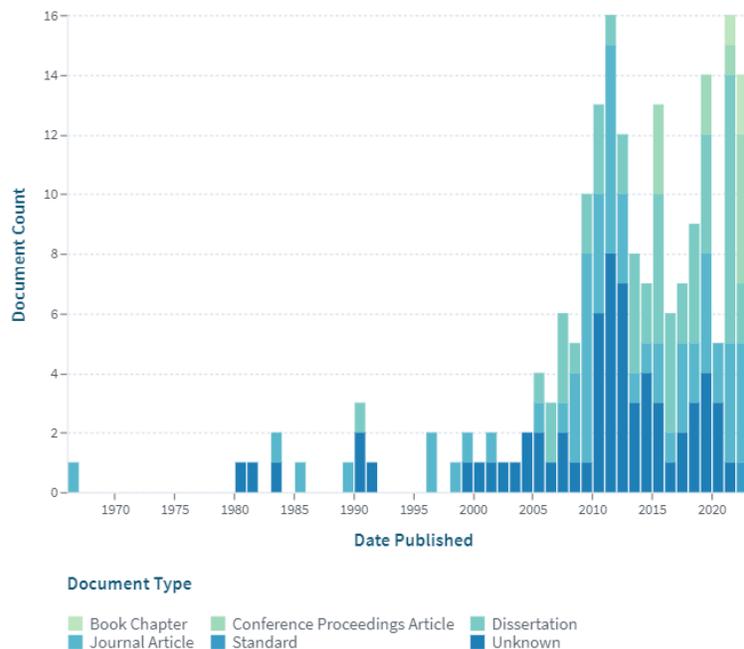
La bromelina, un complejo enzimático que se encuentra en la piña (*Ananas comosus*), ha sido objeto de mucha investigación debido a su amplia gama de usos industriales y medicinales [1].

La aplicación de la bromelina en la industria abarca diferentes campos, siendo la industria alimentaria su ámbito de acción más común, gracias a su capacidad para desnaturalizar proteínas [4]. A continuación, se presenta un resumen de sus aplicaciones

- Industria alimentaria: Debido a su capacidad para descomponer las proteínas, la bromelina se utiliza como ablandador de carne y precipitador de caseína [4].
- Industria farmacéutica: Se ha demostrado que la bromelina beneficia el sistema digestivo debido a sus propiedades analgésicas, antiácidas, antiinflamatorias, inmunomoduladores, prebióticas y probióticas. También se ha estudiado por sus efectos anticancerígenos y su capacidad para mejorar el vaciado gástrico [9].
- Industria de la papelería: La bromelina se ha utilizado en el tratamiento de pulpa de papel para reducir la viscosidad y mejorar la calidad del papel [4].
- Industria cosmética: La bromelina se incorpora en productos cosméticos como exfoliante cutáneo debido a su capacidad para eliminar células muertas de la piel [9].

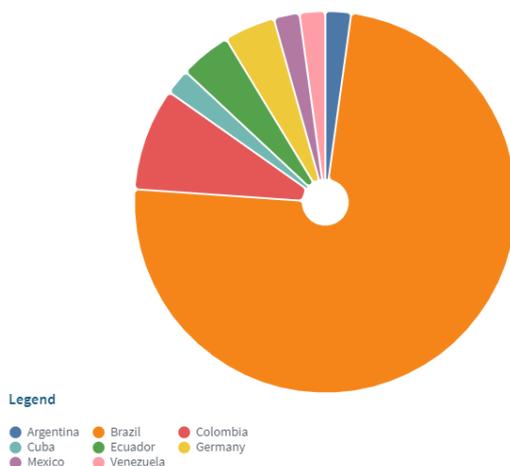
La investigación en torno a la bromelina es un tema relativamente reciente para la humanidad, ya que la primera publicación académica sobre el tema se realizó en el año 1966. A medida que ha avanzado el tiempo, el interés en la bromelina ha ido en aumento, experimentando un notable auge desde el año 2000 hasta la actualidad, como se puede observar en la Gráfica 1 [2].

Gráfica 1. Trabajos académicos a lo largo del tiempo sobre bromelina [2].



A medida que la bromelina ha ganado popularidad en el ámbito científico, los países latinoamericanos han destacado en su investigación y desarrollo. Esto se debe a que la piña, de la cual se extrae la bromelina, se cultiva mayoritariamente en América Latina, aprovechando los climas tropicales que favorecen su crecimiento. En la actualidad, Brasil lidera en este campo con un total de 34 publicaciones académicas sobre la bromelina, seguido por Colombia con un total de 4 publicaciones, según se observa en la Gráfica 2 [2].

Gráfica 2. Países más activos en la publicación de trabajos académicos sobre bromelina [2].



Dado que la bromelina es una enzima presente en la piña, para aprovechar todas sus propiedades es necesario extraerla. En este proceso, es fundamental garantizar que la enzima conserve todas sus propiedades y no se desnaturalice; además, se busca maximizar el porcentaje de extracción [3]. A lo largo de la historia, se han probado diversos métodos de extracción, implementando distintas metodologías y tecnologías.

Extracción por solventes orgánicos

Uno de los métodos más utilizados para la extracción de bromelina es el de extracción por solvente orgánico. Este método implica la precipitación de la bromelina mediante el uso de un solvente orgánico. Al agregar este solvente a la bromelina, sus propiedades fisicoquímicas se ven alteradas, lo que resulta en una disminución de la solubilidad de la bromelina en agua. Como consecuencia, la bromelina se disuelve en el solvente orgánico y luego se separa mediante la operación unitaria de centrifugación [4]. En este tipo de extracción, se emplean comúnmente dos solventes orgánicos: la acetona y el etanol. La efectividad de ambos solventes es relativamente similar [4]; las únicas variables a considerar son los precios de los solventes y el tiempo de exposición a ellos. Es importante destacar que un tiempo prolongado de exposición a la acetona puede causar daños a la salud y al medio ambiente [5].

Esta técnica es una de las más utilizadas debido a su facilidad y efectividad, aunque la principal problemática que enfrenta es su alto costo. Esto se debe a que, por lo general, la proporción de zumo de piña y solvente orgánico para llevar a cabo la extracción de bromelina es de 1:1, lo que implica el uso de grandes cantidades de solvente y, por ende, un elevado costo asociado. Por esta razón, se ha estado trabajando en la purificación del solvente con el objetivo de recircularlo en el proceso, lo que permitiría reducir los costos [6].

Extracción con sales

Otro método comúnmente usado para la extracción de proteínas, específicamente la bromelina, es la precipitación con sales. Este método se basa en la capacidad de ciertas sales para modificar la solubilidad de las proteínas y posteriormente causar su precipitación. Las sales más comúnmente utilizadas en este tipo de extracción son el sulfato de amonio, cloruro de amonio y el sulfato de sodio [3]. La elección de la sal depende principalmente de la solubilidad de esta, ya que, al disminuir la solubilidad del agua, las proteínas se empiezan a precipitar, esto se conoce como el efecto “*salting out*” [7]. Aunque esta técnica puede tener un porcentaje de extracción alto, también tiene una gran desventaja y es que las sales utilizadas para la extracción pueden desnaturar la bromelina, afectando de esta forma su actividad enzimática. Por otra parte, también pueden quedar trazos de las sales utilizadas en la bromelina extraída, por lo cual, la bromelina estaría contaminada con sales residuales. Para llevar a cabo el proceso de extracción en grandes volúmenes, es necesario la utilización de grandes cantidades (entre el 20% y 40% de la solución), por lo cual, resulta ser un procedimiento bastante costoso y los métodos para recuperar las sales utilizadas son también bastante costosos [8].

A continuación, se presenta un cuadro comparativo sobre la extracción de bromelina con solventes orgánicos y sales:

Tabla 1. Cuadro comparativo sobre la extracción de bromelina con solventes orgánicos y sales. Fuente propia

Aspecto	Extracción con Solventes Orgánicos	Extracción con Sales
Principio de Extracción	Disolución de bromelina en un solvente orgánico.	Precipitación de bromelina por adición de sales.
Método de Acción	Disolución de la enzima en el solvente orgánico.	Cambio en la solubilidad de la bromelina mediante la adición de sales.
Solventes Comunes	Etanol, cloroformo, hexano, etc.	Cloruro de amonio, sulfato de amonio, sulfato de sodio, etc.
Selectividad	Puede ser más selectivo, dependiendo del solvente elegido.	La selectividad puede variar según la sal utilizada y las condiciones específicas.
Reversibilidad	La extracción suele ser reversible.	Puede o no ser completamente reversible.
Condiciones de Proceso	Generalmente se realiza a temperatura ambiente o en frío.	La precipitación puede ocurrir a temperaturas bajas.
Complejidad del Proceso	Puede ser más sencillo y directo.	Requiere la adición de sales y posterior purificación de la bromelina extraída.
Efectos en la Actividad Enzimática	Puede haber cierta afectación de la actividad enzimática, dependiendo del solvente.	Puede haber cierta afectación de la actividad enzimática durante la precipitación.
Purificación Adicional	Requiere un proceso de evaporación sencillo	Requiere un proceso de purificación para aislar los trazos de sales presentes en la bromelina extraída.

Como se puede observar en la Tabla 1, ambos métodos de extracción son similares, siendo la extracción con solventes orgánicos más directa y sin una complejidad mayor en la purificación de la proteína extraída.

Planteamiento del Problema y la pregunta de investigación:

La piña, una fruta tropical perteneciente a la familia de las bromeliáceas, es reconocida por sus beneficios nutricionales, destacando su contenido en vitaminas A, B y C y de la enzima proteolítica bromelina, la cual se ubica principalmente en la cáscara y corona de la fruta. A pesar de estas propiedades valiosas, la agroindustria en el departamento del Meta genera toneladas de residuos orgánicos derivados de los procesos productivos de la piña, los cuales no tienen un aprovechamiento y generan contaminación al medio ambiente [10].

La generación de contaminación a partir de los residuos orgánicos derivados de los procesos productivos de la piña en el departamento del Meta ocurre principalmente por la falta de una adecuada disposición de estos residuos. Estos residuos, que incluyen principalmente cáscaras y coronas de piña, tienen un alto contenido de materia orgánica y nutrientes, lo que los hace susceptibles a la descomposición anaeróbica cuando se descartan de manera inapropiada [16].

Cuando no se gestionan adecuadamente estos residuos, pueden terminar siendo arrojados en vertederos a cielo abierto o simplemente abandonados en los campos agrícolas. Esto puede resultar en varios problemas ambientales, incluida la contaminación del suelo, el agua y el aire. La descomposición anaeróbica de los residuos de piña puede generar gases de efecto invernadero, como el metano, contribuyendo al calentamiento global. Además, los nutrientes presentes en los residuos pueden lixiviar hacia el suelo y las aguas subterráneas, causando problemas de eutrofización y contaminación del agua [16].

La agroindustria en el departamento del Meta genera toneladas de residuos orgánicos derivados de los procesos productivos de la piña. Colombia ha establecido como meta aprovechar el 20% de los residuos agroindustriales, pero actualmente no supera el 17%. La falta de aprovechamiento óptimo de los subproductos de la piña representa una pérdida económica y ambiental significativa [12].

En este contexto, la pregunta de investigación es: ¿Cómo se puede desarrollar una alternativa rentable y sostenible que permita aprovechar al máximo este subproducto?

Objetivos

General:

Evaluar la eficacia de la extracción de bromelina de la piña Mayanes en cascara y pulpa, considerando diferentes estados de maduración, por medio del método de extracción por etanol

Específicos:

- Extraer la bromelina presente en la cáscara y pulpa de la piña mayanes (*Ananas comosus*) en los estados de maduración 1 y 6.
- Comparar el contenido de bromelina extraído de las muestras en cascara y pulpa de la piña correspondientes a los estados de maduración 1 y 6.
- Determinar la viabilidad de recuperación, concentración y reutilización del etanol utilizado como solvente durante la extracción de la bromelina.
- Analizar la función enzimática de la bromelina obtenida de diferentes partes del fruto y estados de maduración, a través de procesos de gelificación, desnaturalización y ablandamiento de proteínas de origen animal.

Justificación

La generación masiva de residuos agroindustriales en el departamento del Meta, especialmente derivados de la producción de piña Mayanes, plantea un desafío significativo desde el punto de vista económico, ambiental y social [14]. En respuesta a esta problemática, la presente propuesta de aprovechamiento de la piña Mayanes para la extracción de bromelina con etanol se posiciona como una alternativa innovadora y sostenible para maximizar el valor de estos subproductos, ofreciendo beneficios tangibles a diversos niveles [15].

En primer lugar, la implementación de esta propuesta busca abordar la ineficiencia en la gestión de residuos agroindustriales, un problema que afecta no solo al departamento del Meta, sino también a muchas otras regiones agrícolas del mundo. Al convertir los desechos de piña en un recurso aprovechable, se reduce la presión sobre los vertederos y se minimiza la contaminación ambiental asociada con la descomposición anaeróbica de estos residuos. Este enfoque alinea la gestión de residuos con principios de economía circular, donde los subproductos se convierten en materias primas para nuevos procesos, contribuyendo así a la mitigación del impacto ambiental y al uso más eficiente de los recursos naturales [16].

Además, la extracción de bromelina de la piña Mayanes representa una oportunidad para la diversificación económica y la creación de valor agregado en el sector agroindustrial del departamento del Meta. Al ofrecer una nueva fuente de ingresos a los productores de piña y a las empresas locales, se fomenta el desarrollo económico en la región y se fortalece la resiliencia de la cadena de suministro agrícola. Esta iniciativa también puede contribuir a reducir la dependencia de los agricultores de los ingresos derivados únicamente de la venta de la fruta fresca, lo que los hace más susceptibles a fluctuaciones de precios y condiciones climáticas adversas [17].

En términos sociales, la implementación de esta propuesta tiene el potencial de mejorar las condiciones de vida de las comunidades rurales del departamento del Meta. Al generar empleo en actividades relacionadas con la recolección, procesamiento y comercialización de los subproductos de la piña, se promueve la inclusión económica y se contribuye a la reducción de la pobreza en áreas rurales. Además, al impulsar la seguridad alimentaria a través del aprovechamiento de la bromelina en la industria alimentaria local, se fortalece la capacidad de las comunidades para acceder a alimentos nutritivos y de calidad [12].

Por último, la recuperación y recirculación del etanol utilizado en el proceso de extracción de bromelina constituye un elemento clave en la estrategia de sostenibilidad ambiental de esta propuesta. Al reducir la dependencia de disolventes frescos y minimizar el consumo de recursos no renovables, se promueve un enfoque más ecoeficiente y responsable desde el punto de vista ambiental. Esta práctica también puede generar ahorros significativos en costos operativos a largo plazo, mejorando la viabilidad económica del proyecto y su capacidad para escalar a nivel comercial [24].

En resumen, la propuesta de aprovechamiento de la piña Mayanes para la extracción de bromelina con etanol representa una respuesta integral y holística a los desafíos planteados por la generación de residuos agroindustriales en el departamento del Meta. Al combinar beneficios económicos, ambientales y sociales, esta iniciativa tiene el potencial de transformar positivamente el panorama agrícola y económico de la región, al tiempo que

contribuye a la construcción de un futuro más sostenible y resiliente para las generaciones venideras [15].

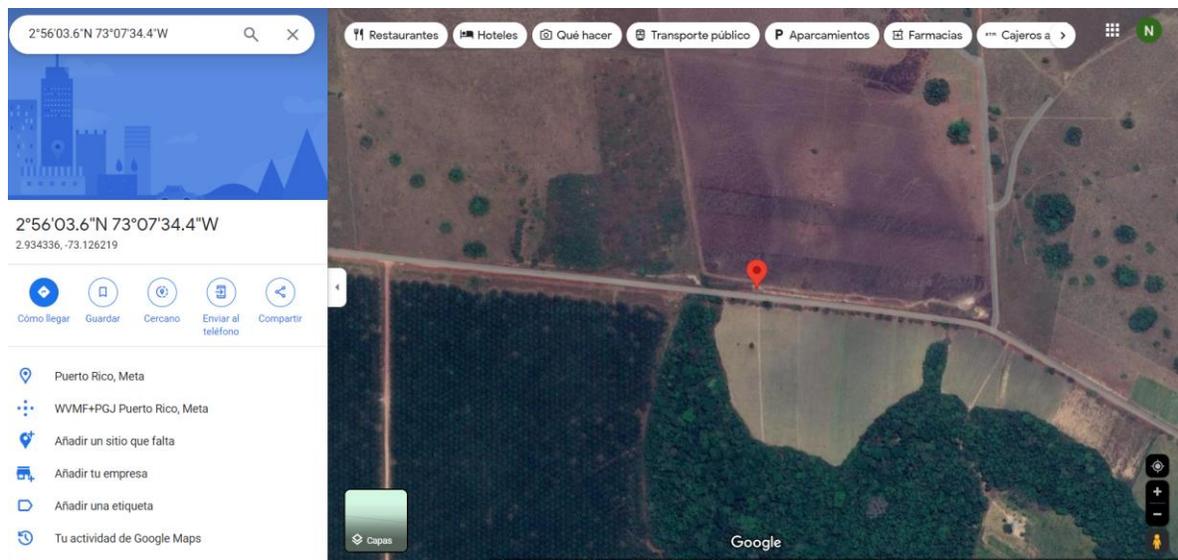
Marco de Referencia

Marco geográfico

El proyecto se llevará a cabo en el departamento del Meta, ubicado en la región central de Colombia. El departamento cuenta con una amplia diversidad geográfica que incluye extensas áreas de selva amazónica, zonas de sabana, y terrenos dedicados a la agricultura.

Las piñas que se utilizarán en el presente proyecto de investigación serán recolectadas en la finca Villa Daniela, ubicada en el kilómetro 9 de la vía Guacamayas, vereda La Venada, dentro de la jurisdicción del municipio de Puerto Rico, Meta. Las coordenadas exactas son 2°56'03.6"N 73°07'34.4"W

Ilustración 1. Ubicación finca Villa Daniela [14]



Marco histórico

Producción de piña a nivel mundial

La piña se sitúa en el undécimo lugar entre las frutas más cultivadas, de acuerdo con los datos proporcionados por la FAO, con una producción de aproximadamente 25 millones de toneladas en el periodo 2020-2021. A lo largo de los años, la producción mundial de piña ha experimentado un crecimiento constante, incrementándose en más de 3 millones de toneladas entre los años 2015y 2020 [22].

Tabla 2. Exportación de piña en toneladas a nivel mundial [22].

Primeros 10 países productores de piña	
País	Toneladas

Tailandia	2650000
Costa rica	2484729
Brasil	2478178
Filipinas	2397628
India	1780889
Nigeria	1456000
China	1456000
México	1000000
Colombia	551133

Colombia se ubica en el decimo lugar a nivel mundial en cuanto a exportaciones de piña se refiere.

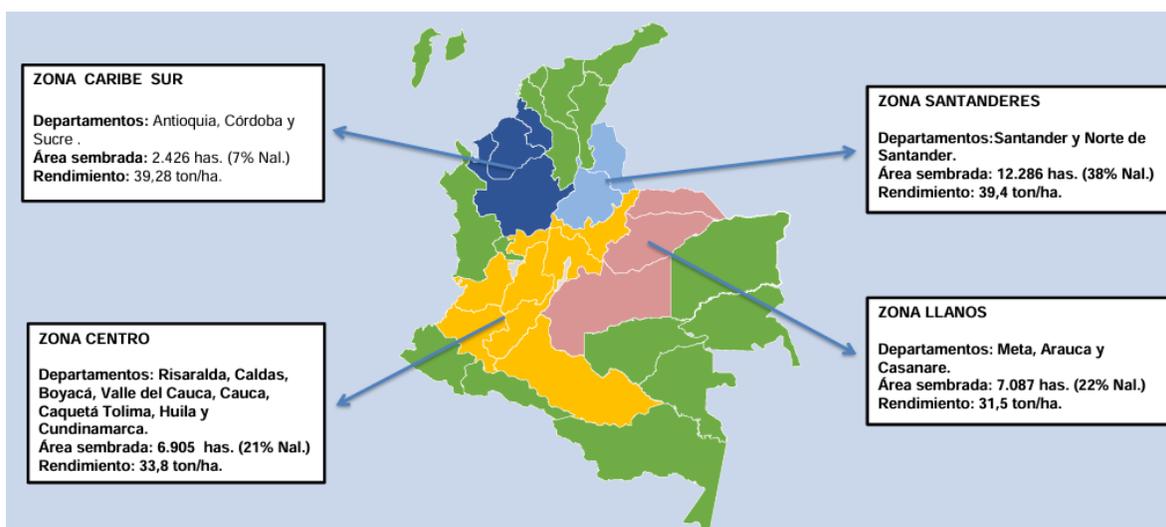
Producción de piña a nivel nacional

En Colombia, se estima que hay aproximadamente 32,700 hectáreas de cultivos de piña, que incluyen variedades como MD2 (Oro Miel), Manzana, Petrolera y Cayena Lisa. En los últimos cinco años, el área dedicada al cultivo de piña ha experimentado un aumento del 49%, pasando de alrededor de 22,000 hectáreas en 2014 a 32,736 hectáreas en 2018. Asimismo, la producción en este mismo período ha aumentado un 62%, principalmente debido a la adopción de paquetes tecnológicos en algunas regiones del país, los cuales han tenido un impacto positivo en la productividad y rendimiento de los cultivos [23].

Tabla 3. Área, Producción y Rendimiento Nacional [23].

Valores	2014	2015	2016	2017	2018	2019*
Área Sembrada (Ha)	21.927	25.755	27.241	30.380	32.736	36.205
Área Cosechada (Ha)	15.121	19.299	18.340	22.312	25.093	28.183
Producción (Ton)	652.759	776.893	755.471	944.210	1.058.109	1.174.995
Rendimiento (Ton/Ha)	43,2	40,3	41,2	42,3	42,2	46,5

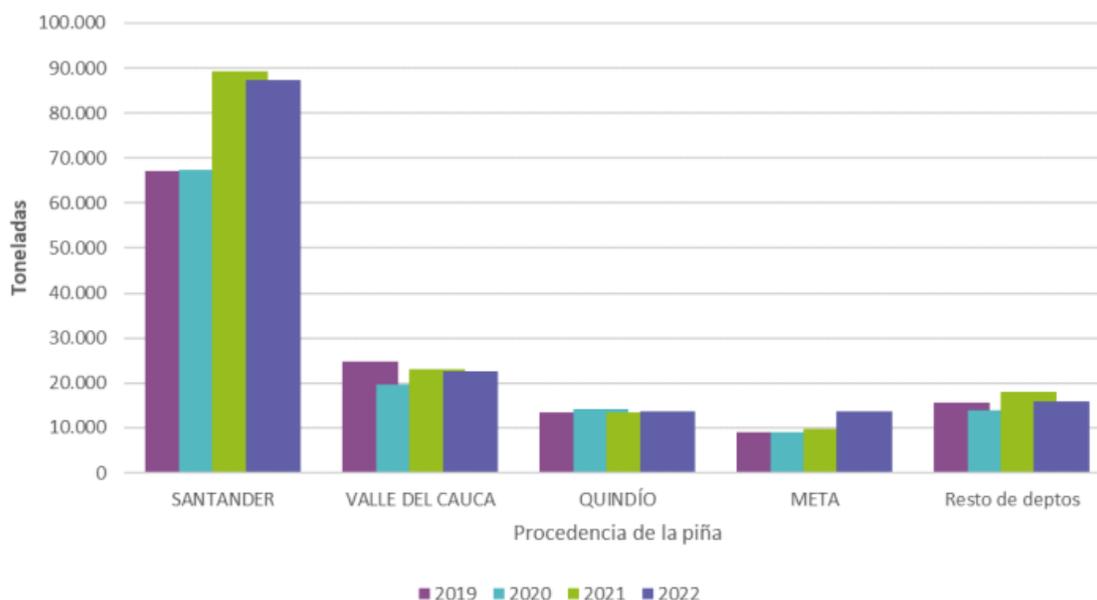
Ilustración 2 Caracterización Zonas De Producción [23].



Producción de piña a nivel departamental

El departamento del Meta es el cuarto productor de piña detrás de Santander, Valle del Cauca y Quindío, el área cultivada es de 2.882 en el 2022 para una producción de 14.000 toneladas. Según cifras oficiales de la cadena productiva de la piña, la producción ha crecido en un 11.6% en los últimos 3 años (2019 al 2022) [13] como se evidencia en la gráfica 3.

Gráfica 3. Participación en la producción de Piña en el Departamento del Meta. [12]



Resulta innegable el protagonismo de la rama de actividad económica de producción agrícola como una de las principales contribuyentes al Producto Interno Bruto (PIB) del departamento del Meta, ubicándose en el tercer lugar. Esto se da después de las actividades mineras extractivas en primer lugar y el sector de Comercio, reparación de

vehículos automotores, transporte, alojamiento y servicios de comida en segundo lugar, como se puede observar en la Tabla 2 [14].

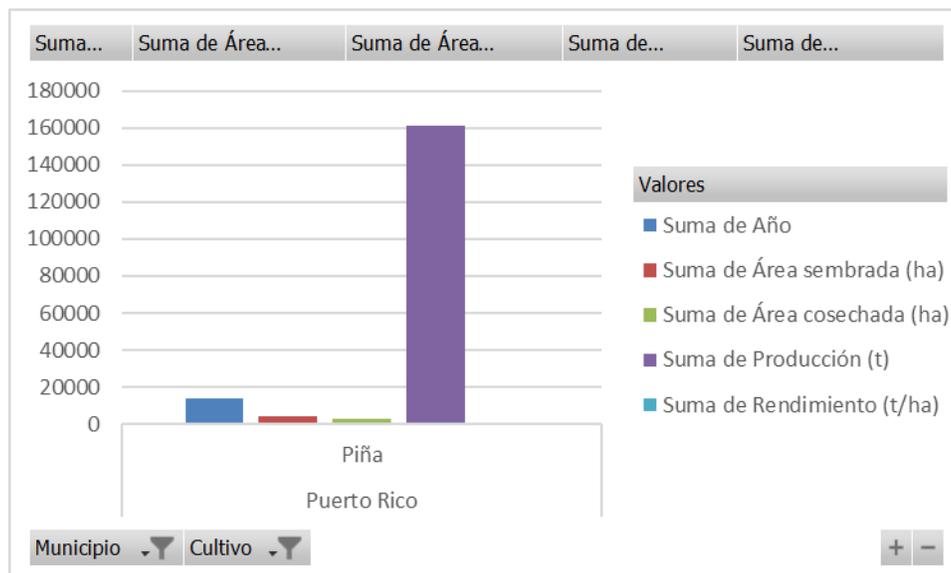
Tabla 4 Valor agregado de las actividades económicas Meta [14]

Actividades económicas	Valor agregado* 2019 ^{PR} (Miles de millones de pesos)	Participación * %	Variación anual ** (%) (2019 ^{PR} /2018 ^R)
Agricultura, ganadería, silvicultura y pesca	4.174	10,6	0,8
Explotación de minas y canteras	19.830	50,3	6,2
Industrias manufactureras	786	2,0	2,4
Suministro de electricidad, gas y agua	445	1,1	3,6
Construcción	1.845	4,7	4,5
Comercio, reparación de vehículos automotores, transporte, alojamiento y servicios de comida	4.439	11,3	3,8
Información y comunicaciones	405	1,0	1,1
Actividades financieras y de seguros	544	1,4	4,3
Actividades inmobiliarias	1.021	2,6	2,5
Actividades profesionales, científicas y técnicas; servicios administrativos y de apoyo	878	2,2	3,8
Administración pública, educación y salud	3.093	7,9	5,1
Actividades artísticas, de entretenimiento y recreación; y de los hogares individuales	229	0,6	3,4
Subtotal Valor Agregado	37.686	95,7	4,8
Impuestos	1.706	4,3	4,8
Producto Interno Bruto (PIB)	39.393	100,0	4,8

Producción de piña a nivel municipal (Puerto Rico, Meta)

En el municipio de Puerto Rico, en los últimos tres años, se ha mantenido una actividad significativa en el cultivo de piña, con un promedio de 117 hectáreas sembradas anualmente. A pesar de que el área cosechada ha sido ligeramente inferior, con un promedio de 107 hectáreas, la producción total ha sido considerable, alcanzando las 1390 toneladas en este período. Esto indica un rendimiento promedio de 12.1 toneladas por hectárea, lo que sugiere una eficiente gestión y aprovechamiento de los terrenos dedicados a este cultivo en el municipio [24].

Gráfica 4. Evaluación agropecuaria de la piña en el municipio de Puerto Rico, Meta 2019- 2022 [24].

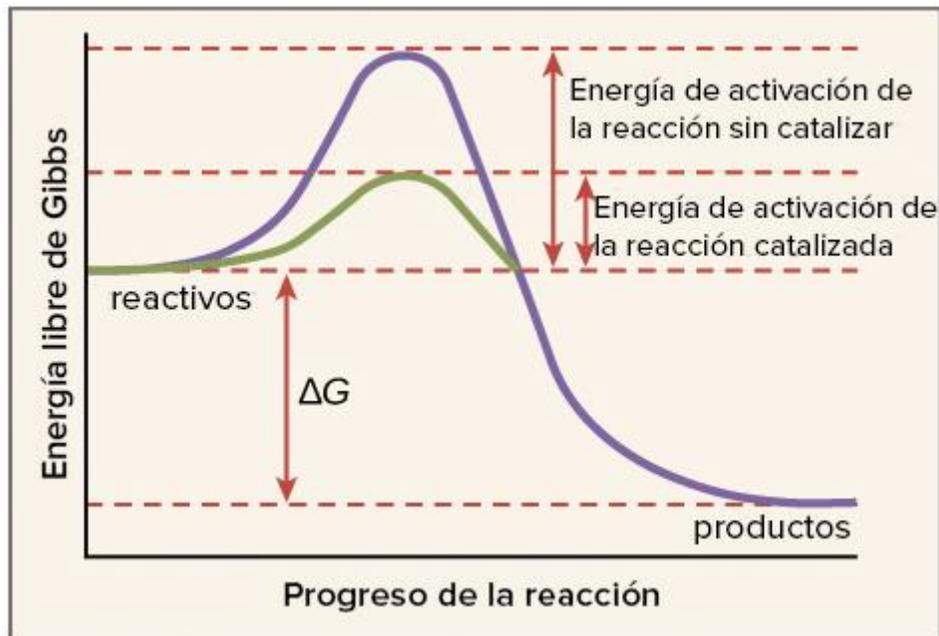


Marco Teórico

Enzimas

Las enzimas son proteínas especializadas que facilitan reacciones químicas en organismos vivos sin experimentar transformación ni agotamiento. Estas moléculas biológicas aceleran procesos bioquímicos fundamentales para la vida celular. En otras palabras, las enzimas actúan como catalizadores en los sistemas biológicos [15].

Ilustración 3 Energía de activación de una reacción química [15].



Acción de la bromelina en la carne

La bromelina actúa en el ablandamiento de la carne al descomponer las proteínas que la constituyen. Más específicamente, esta enzima cataliza la ruptura de los enlaces peptídicos que conectan los aminoácidos en las proteínas musculares y del tejido conectivo [16].

Al fragmentar estas cadenas proteicas más extensas, la bromelina facilita su descomposición en péptidos y aminoácidos de menor tamaño. Como consecuencia, se produce la degradación parcial de proteínas estructurales esenciales, como las fibras musculares, el colágeno y la elastina [16].

En consecuencia, se modifica la textura del tejido conectivo que mantiene unidas las fibras y proporciona firmeza al corte. Al desestabilizarse esta estructura proteica, la carne se vuelve más tierna, pierde consistencia y resulta más fácil de masticar [16].

Acción de la bromelina en la elaboración de cuajada

La bromelina desempeña un papel significativo en la elaboración de cuajada al funcionar como alternativa a la renina para interactuar con la caseína, la proteína predominante en la leche. A través de su actividad enzimática, la bromelina cataliza la ruptura de los enlaces peptídicos de la caseína, dividiéndola en péptidos más pequeños. Este proceso, a su vez, desestabiliza la estructura de la micela de caseína, que normalmente mantiene dispersas las proteínas lácteas [17].

Las micelas de caseína parcialmente hidrolizadas por la bromelina tienden a unirse entre sí, favoreciendo la agregación micelar mediante interacciones hidrofóbicas y puentes de iones calcio. Como resultado, se forma una extensa matriz tridimensional que incluye agua, glóbulos grasos, sales y las micelas agregadas. Esta red, conocida como paracaseinato cálcico coagulado, constituye la cuajada [17].

Generalidades De La Piña

Actualmente la piña comprende 56 géneros y 3000 especies donde se destacan *Ananás sativus*, *Ananás comosus*, *Ananás lucidus*; se originó en América del sur, entre Brasil, Paraguay y el norte de Argentina; su fruto tiene forma cilíndrica, es fibroso y cuenta con un buen aroma debido a la presencia de esteres, cultivado de manera satisfactoria en altitudes entre los 800 y 1200 metros sobre el nivel del mar, sin embargo, dependiendo de la variedad del fruto también se puede cultivar a nivel del mar. Demanda un suelo con propiedades permeables al aire, con un pH óptimo de 5 a 5.8 [18].

Tabla 5. Taxonomía de la piña [19]

Reino	Vegetal
división	Monocotiledóneas
Familia	Bromeliaceae
Nombre científico	Ananás sativus
Nombres comunes	Pineapple, Ananás, Nanas, Piña
Especie	Ananás comosus

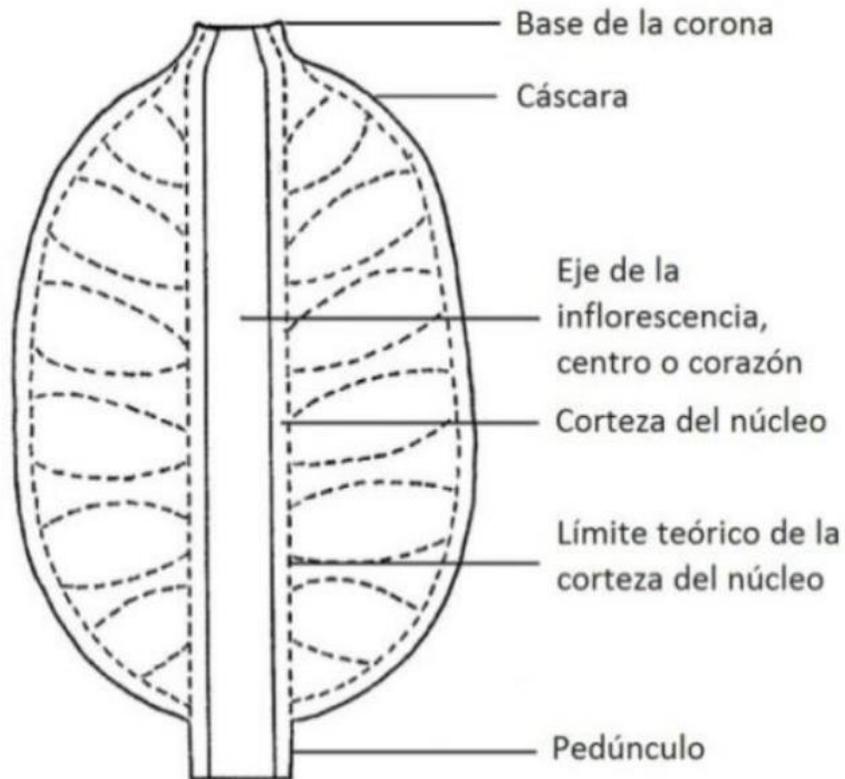
Está conformada por un conglomerado de hojas duras, más o menos espinosas, que se organizan alrededor de un tallo el cual tiene la función de eje, para su correcto desarrollo la temperatura del cultivo no puede ser menor a 25 °C lo cual garantiza un crecimiento normal y buena fructificación. Es un cultivo que no demanda grandes cantidades de agua, a cambios bruscos de temperatura el desarrollo morfológico se ve afectado, por esta razón se presentan maduraciones prematuras. Luego de la maduración la planta busca lograr una reproducción a partir de brotes generados en las yemas axilares; la planta adulta logra alcanzar una altura y anchura de 1 a 2 metros, el fruto presenta una parte comestible correspondiente al 60% del fruto fresco, que se compone de los ovarios, brácteas, corteza del eje y bases de los sépalos [5].

Tabla 6. Composición nutricional en 100 g de piña [20]

Componente	Cantidad
calorías	50 Kcal
Proteína	0,5 g
Hidratos de carbono	11,5 g

Fibra	1,2 g
Agua	86,8 g
Calcio	12 mg
Hierro	0,5 mg
Yodo	30 μ m
Magnesio	14 mg
Sodio	2 mg
Zinc	0,15 mg
Potasio	250 mg
Fosforo	11 mg
Tiamina	0,07 mg
Riboflavina	0,002 mg
Folatos	11 μ g
Vitamina C	20 mg
Vitamina A: Eq Retinol	13 μ g
Vitamina E	0,1 mg

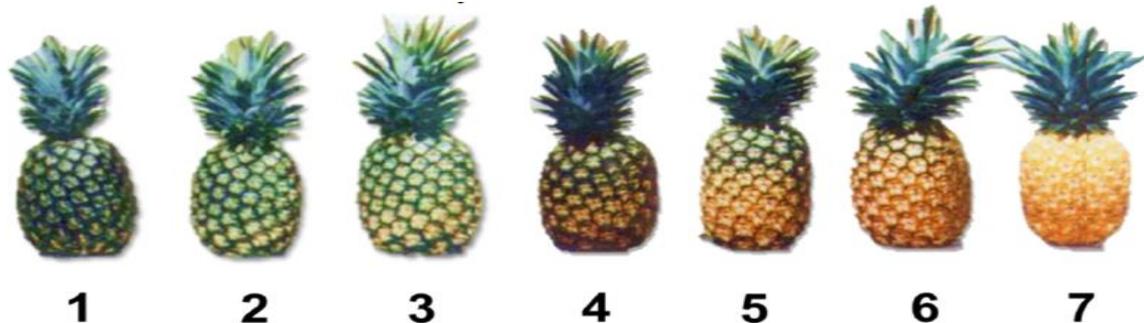
Ilustración 4. Características morfológicas de la Piña (*annanas c-*) [5]



Estados De Maduración De La Piña

El color de la cáscara muestra el porcentaje de cáscara de coloración amarilla. Este puede variar en un rango de 1 a 7 según el grado de maduración externa de la fruta. La traslucidez es el índice que indica la coloración interna de la pulpa de la fruta relacionada, medido en rangos de 1 a 6. El rango 1 indica pulpa blanca y poco madura; el rango 6 indica pulpa amarilla y fruta madura. La traslucidez en la piña comienza a diferenciarse desde abajo hacia arriba [21].

Ilustración 5. Estados de Maduración de la Piña [22]



Piña variedad mayanes o piña llano moreno.

Es una especie nativa que se originó en la inspección de Maya, perteneciente al municipio de Paratebueno (Cundinamarca), sus principales características involucran ser un fruto endémico, sin procesos químicos; tiene un alto nivel de dulzor lo cual hace que se vea favorecido en su alto consumo. Posee vitaminas B1, B6, C, E, ácido fólico y cítrico, proporciona minerales como lo son potasio, magnesio y yodo. Esta especie es bastante apetecida por poseer una textura muy suave, no lastima el paladar y esta característica hace que sea una de las mejores especies del país. Presenta una gran variedad de tamaños debido a la aridez de la tierra en donde es sembrada, suceso que la hace apetecida al consumidor según sus requerimientos y presupuesto. El peso promedio de la piña oscila entre (2 kg - 2.5 kg) [20]. Una de sus principales ventajas es poseer un alto rendimiento de Bromelina, además de ser cultivada en los llanos orientales, varios agrónomos admiten que en esta región las características estructurales de los suelos, las condiciones climáticas y geográficas hacen que sea la mejor zona del país para el cultivo de la piña. Esta especie es uno de los motores económicos de la región, la economía es altamente controlada por la comercialización de esta variedad. Los productores ejecutan la agricultura verde u orgánica, lo que le confiere al producto ser natural debido a que es libre de sustancias químicas [23].

La piña Mayanes tiene propiedades significativas en procesos de digestión, acidez estomacal, pesadez, llenura, problemas intestinales debido a que tiene un alto contenido de fibra, además de ser un diurético 100% natural, lo cual proporciona mejoría en problemas de obesidad [8].

Marco conceptual

Bromelina

La bromelina es una enzima proteolítica extraída del tallo o el fruto de la piña (*Ananas comosus*). Esta enzima es activa en un amplio rango de pH, lo que permite su actuación en distintos medios, desde el ambiente ácido del estómago hasta el alcalino del intestino delgado. Sin embargo, es poco estable a altas temperaturas, por lo que ciertos tratamientos térmicos o un almacenaje en condiciones desfavorables pueden alterar sus propiedades [19].

Ilustración 6. Estructura de la bromelina [16].

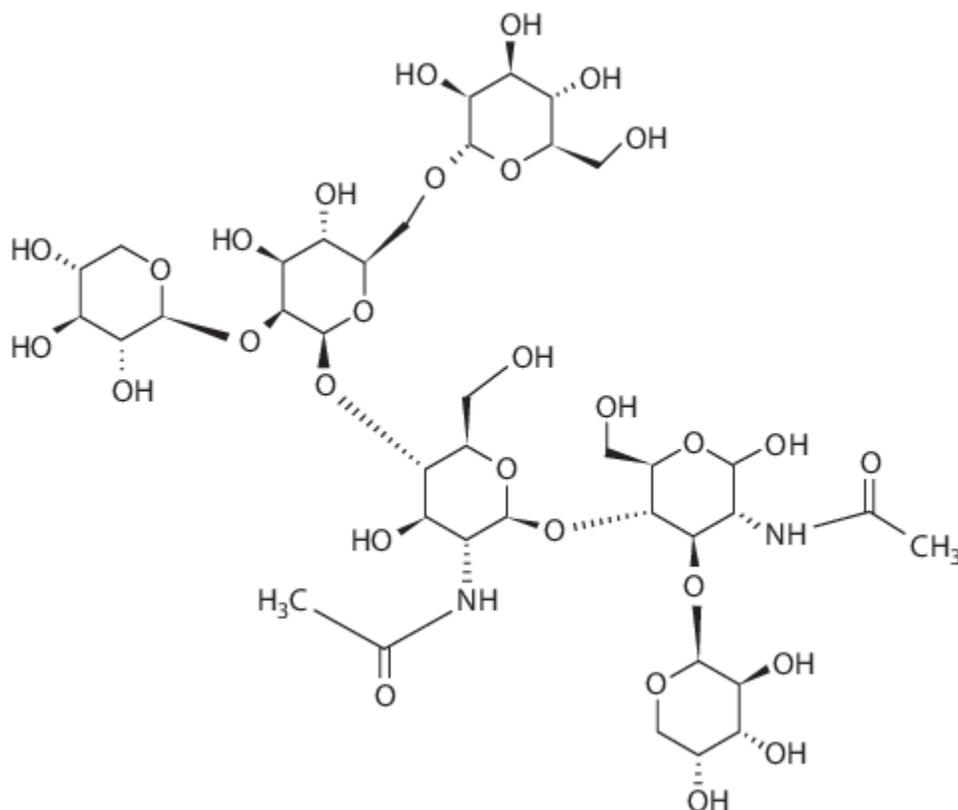


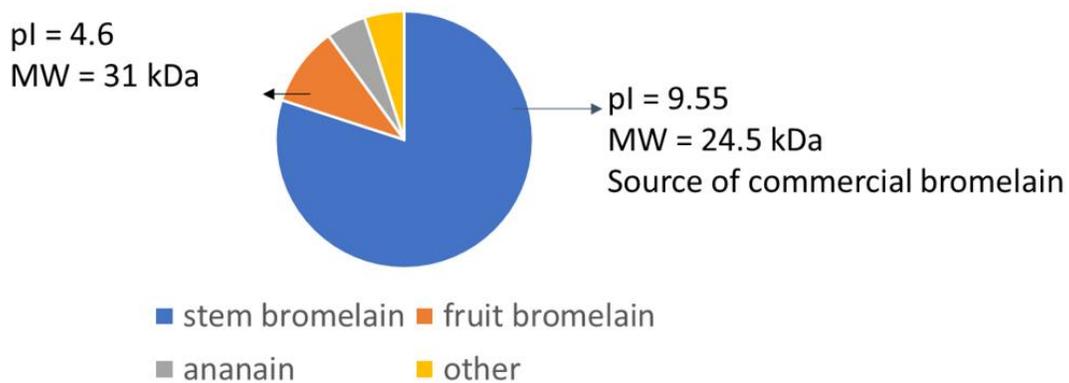
Tabla 7. Porcentaje de bromelina presente en la piña [19]

Parte del fruto	Bromelina
Fruto verde	
Corona	1,0%
Piel	1,4%
Pulpa	0,8%
Fruto maduro	
Corona	0,4%
Piel	1,8%
Pulpa	1,3%

La acción de la bromelaína se produce precisamente en el estómago y el intestino. Su propiedad más conocida es su capacidad de digerir proteínas de los alimentos, contribuyendo a facilitar este proceso al estómago y al páncreas. A la recomendación de comer piña tras las comidas como remedio digestivo, el extracto de piña conserva estas propiedades. Esta enzima se encuentra en suplementos que han recibido tratamientos bajo controles térmicos específicos para no destruirla. [1].

La bromelina es una composición compleja que engloba tanto proteasas como no proteasas. Esta mezcla está compuesta principalmente por un 80% de bromelina del tallo, seguida de la bromelina de la fruta con un 10%, mientras que el penacho contribuye con aproximadamente un 5%, según se indica en la gráfica 4 [24].

Gráfica 5. Distribución de bromelina y algunas características fisicoquímicas [24]



Métodos de extracción

Existen varios métodos para extraer bromelina de la piña, y la elección depende de los objetivos específicos y las aplicaciones previstas. Dos métodos comunes son la extracción con solventes orgánicos y la precipitación con sales. Varios factores influyen en la eficiencia de la extracción de bromelina, como la temperatura, el pH, la concentración de la solución extractora y el tiempo de contacto. La optimización de estos parámetros es esencial para obtener un rendimiento máximo [8].

Extracción con etanol

La extracción de bromelina se fundamenta en la mayor solubilidad de esta enzima en etanol en comparación con el agua. La adición de etanol a un extracto acuoso que contiene bromelina disuelta facilita la transferencia preferencial de la enzima hacia la fase orgánica. Esta migración se beneficia de la naturaleza anfifílica de la bromelina, permitiendo una interacción débil con un solvente moderadamente polar como el etanol. Al mismo tiempo, este alcohol altera las asociaciones proteicas y la hidratación de la enzima en la solución acuosa original, lo que reduce significativamente su solubilidad y favorece la precipitación de la bromelina en forma de sólidos insolubles [24].

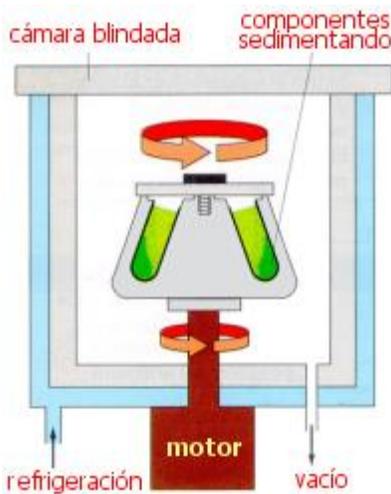
Una vez obtenida la fracción de etanol que contiene la enzima, esta se puede separar fácilmente mediante centrifugación o filtración. Gracias al bajo punto de ebullición del etanol (78 °C), es posible recuperarlo del extracto y reciclarlo mediante evaporación o simple

destilación. De esta manera, se logra reutilizar el solvente orgánico, contribuyendo a la eficiencia y economía del proceso de extracción [24].

Centrifugación

La centrifugación es una operación unitaria de transferencia de masa. Se trata de un proceso de separación de partículas, ya sea en estado sólido o líquido. Esta separación se logra mediante el uso de la fuerza centrífuga generada al girar rápidamente un rotor alrededor de un eje central. Las partículas se separan debido a sus diferencias de densidad [25].

Ilustración 7. Centrifugación [25]

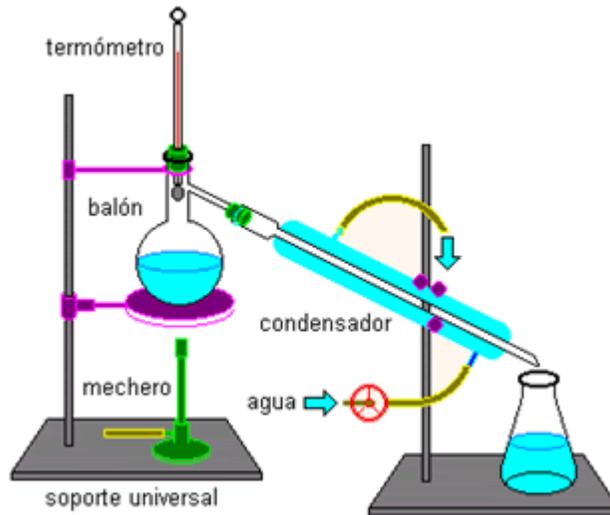


Destilación

La destilación es una operación unitaria de transferencia de masa y energía utilizada en la separación de mezclas miscibles, cuyos componentes tienen puntos de ebullición con una diferencia de +/- 20°C. El proceso implica calentar la mezcla en un recipiente con un desprendimiento lateral conectado a un condensador. La mezcla se calienta hasta alcanzar la temperatura de ebullición más baja de los constituyentes. Una vez alcanzada la temperatura de ebullición del componente más volátil, este se convierte en fase gaseosa y se dirige hacia el condensador. Allí, a través de un proceso de transferencia de calor, se condensa y vuelve a la fase líquida. El líquido resultante cae en un recipiente, obteniendo así el destilado, que está más concentrado en comparación con la entrada al proceso [26].

Es importante destacar que, si se busca obtener un destilado más puro, se pueden realizar procesos de destilación continua. En esta operación unitaria, es crucial controlar variables como la temperatura, presión, concentración, caudal del refrigerante y tipo de refrigerante [26].

Ilustración 8. Montaje de un proceso de destilación simple [26]



Marco legal

Tabla 8. Marco legal. Fuente propia.

Norma	Ámbito que regula
ley 27314	Fomentar el reaprovechamiento de los residuos sólidos y la adopción complementaria de prácticas de tratamiento y adecuada disposición final. Promover el manejo selectivo de los residuos sólidos y admitir su manejo conjunto, cuando no se generen riesgos sanitarios o ambientales significativos.
CONPES 3874 de 2016	Implementar la gestión integral de residuos sólidos como política nacional de interés social, económico, ambiental y sanitario, para contribuir al fomento de la economía circular, desarrollo sostenible, adaptación y mitigación al cambio climático.

Metodología:

Se llevará a cabo Metodología de investigación experimental, cuantitativa descriptiva, donde se tendrán en cuenta variables cualitativas y cuantitativas como:

- Estado de maduración de la piña (1 y 6)
- Grados Brix
- % bromelina extraída
- % de etanol recuperado

Procedimiento experimental

Preparación de la piña:

1-Lavar y pelar las piñas frescas

2-Cortar la piña en trozos pequeños para facilitar su procesamiento y separar la pulpa de la cascara

Homogeneización:

1-Coloca los trozos de pulpa o cascara en la licuadora o procesador de alimentos.

2-Agregar etanol al 90% en relación 1:1

3-Licuar la mezcla hasta obtener una suspensión homogénea de piña y etanol.

4-Dejar en congelación a -4°C por 7 días

5-A continuación, la muestra se lleva a refrigeración a 2°C por un día

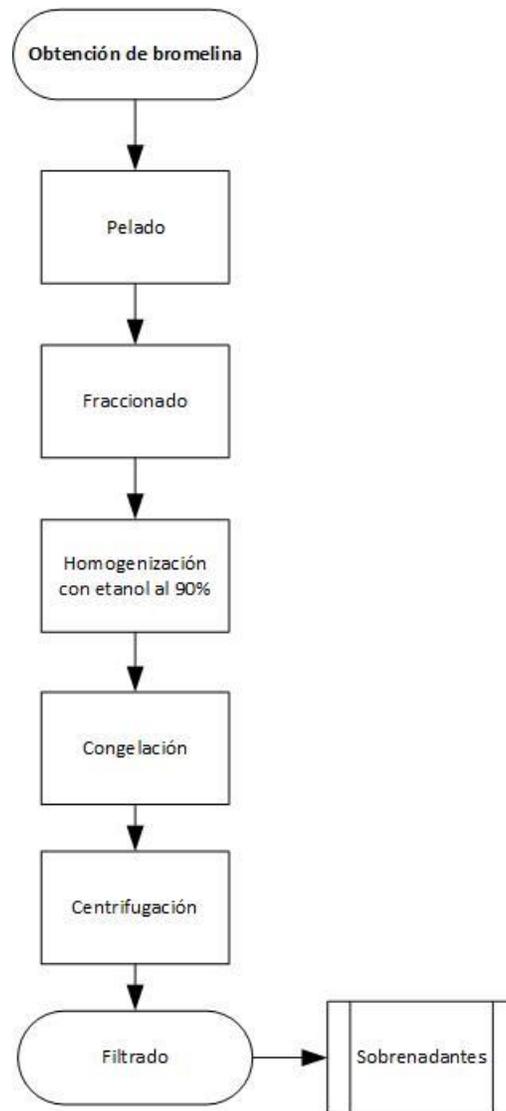
Centrifugación:

1-Después del período de refrigeración, se coloca la mezcla en los tubos de falcón para luego introducirla en la centrifuga

2-Se centrifuga a 4500 rpm durante 20 minutos para separar los sólidos de la fase líquida.

3-Se separa el sobrenadante del precipitado

Ilustración 9. Obtención de bromelina. Fuente propia



Recuperación del etanol:

1-Se adiciona todo el sobrenadante resultante de la centrifugación en un montaje de destilación sencilla a 80 °C por 2 horas.

2-Se preparan 6 soluciones para realizar una curva de calibración, las concentraciones de dichas soluciones son:

- Etanol 96%
- Etanol 80%
- Etanol 70%
- Etanol 60%
- Etanol 40 %
- Etanol 20 %

3-Posteriormente se miden los grados Brix de las soluciones patrón y se procede a graficar; en el eje X se sitúan los grados Brix y en el eje Y la concentración de etanol correspondiente

4-Se establece una tendencia lineal y se obtiene la ecuación de la recta

5-Terminada la destilación, se mide el volumen del destilado y se procede a tomar los grados Brix. A continuación, se reemplaza el valor de los grados Brix en la ecuación obtenida en la curva de calibración y de esta forma obtener la concentración del etanol destilado.

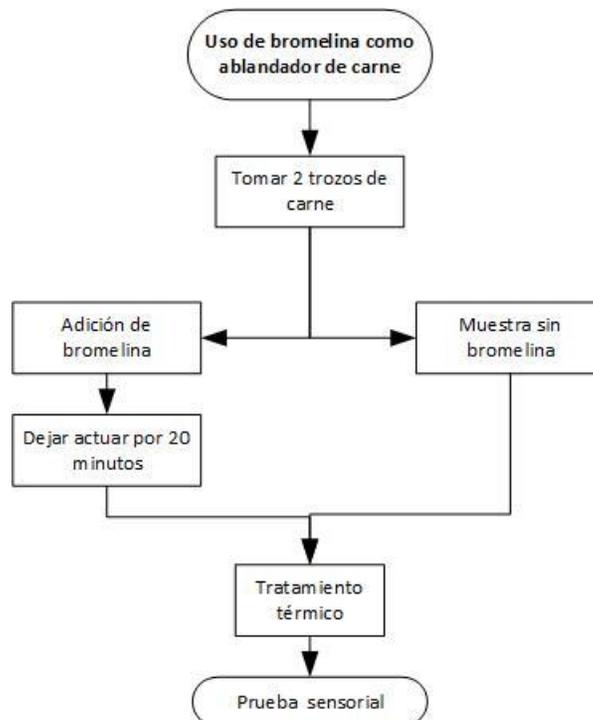
Evaluación enzimática de la bromelina obtenida:

Para la evaluación enzimática se realizarán dos procedimientos, los cuales se describen a continuación:

1. Uso de bromelina como ablandador de carne

- Se toma un corte de carne de res el cual comercialmente no es muy valorado como lo es el murillo por la dureza que presenta este corte y se realiza el siguiente procedimiento:
- Se divide el corte en 2
- A uno de los trozos de carne se le adiciona la bromelina y se deja actuar por 20 minutos
- Se ponen a azar ambos trozos de carne y se realiza un análisis sensorial para determinar si se encuentran diferencias entre la porción de carne que se le adiciono bromelina y a la que no

Ilustración 10. Uso de bromelina como ablandador de carne. Fuente propia



2. Elaboración de cuajada con cuajo comercial (renina)

- Calentar 5 L de leche a una temperatura de 32-38 °C
- Adicionar $\frac{1}{4}$ de pastilla de cuajo a la leche y mezclar suavemente
- Dejar reposar durante 1 hora
- Cortar el coagulo formado y desuerar
- Realizar el mismo procedimiento sustituyendo el cuajo comercial por 5 g de la bromelina extraída anteriormente.
- Evaluar sensorialmente las dos cuajadas obtenidas

Ilustración 11. Elaboración de cuajada. Fuente propia

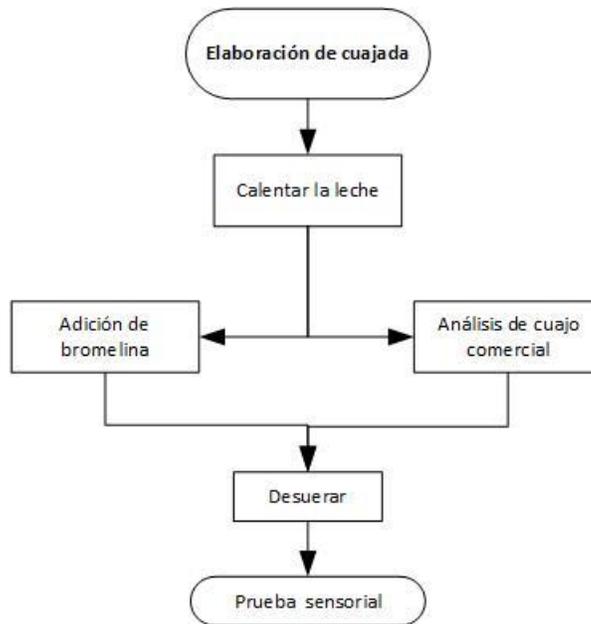
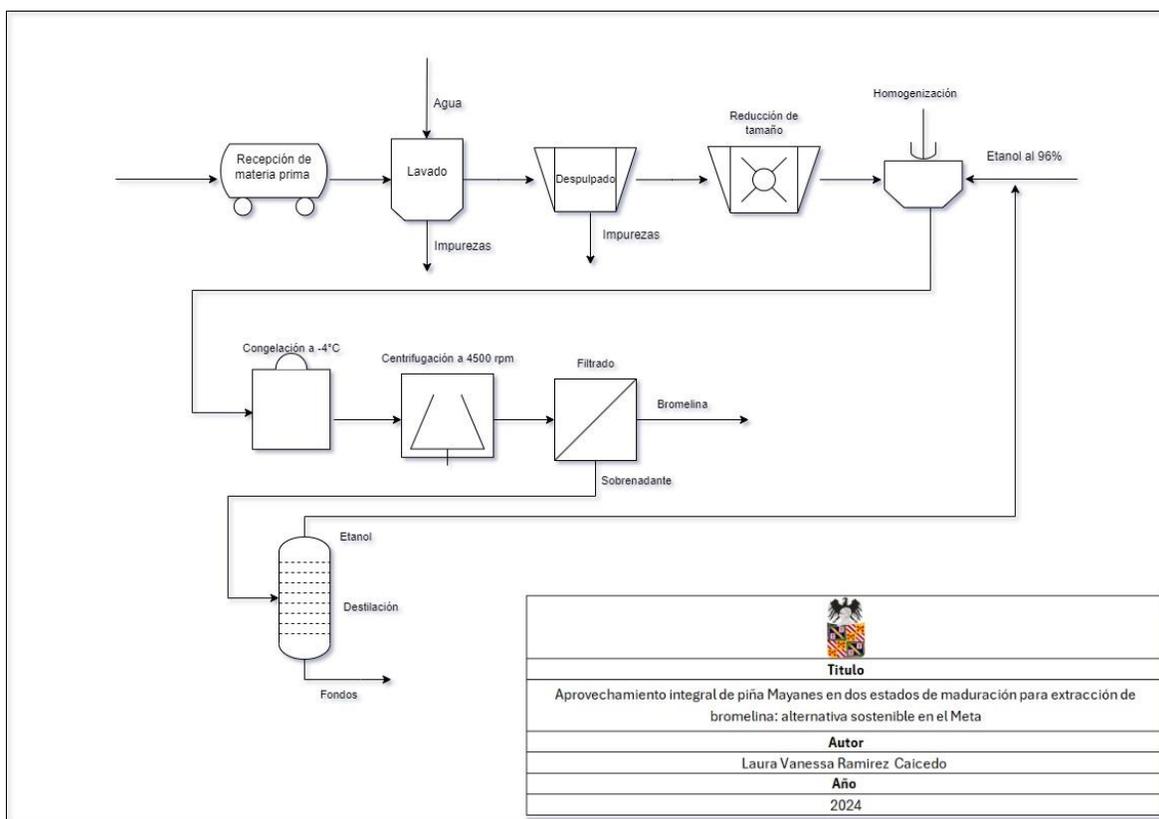


Ilustración 12. PFD extracción de bromelina. Fuente propia



Materiales: Para el ensayo experimental se requerirán los siguientes materiales y equipos:

Tabla 9. Materiales y equipos. Fuente propia

Cant.	Materiales y Equipos	Cant.	Reactivos o de Consumo *
	Recipiente para desinfección de fruta		Jeringas de 3 ml
	Desinfectante alcohol etílico al 70%		Agua destilada
	Agua potable		Etanol al 90%
	Tabla de picar y cuchillos		2 porciones de carne de 150 g
	Licuada o extractor de jugo		10 litros de leche
	Filtro		1 pastilla de cuajo comercial
	Recipientes estériles		Refractómetro

	Nevera-Congelador		Plancha de calentamiento
	Tubos Falcon de 15 ml		Termómetro
	Centrifuga		Balón con desprendimiento lateral
	Condensador esmerilado		Piñas en estado de maduración 1 y 6
	Probeta de 205 ml		Mangueras y tapones

Resultados y discusión

Para el análisis de resultados de las pruebas paramétricas (Normalidad e igualdad de varianza) se usó SPSS versión 13, tabulación y gráficos en hoja de Cálculo Excel, con un intervalo de confianza de un 95% y margen de error del 5%.

Pregunta

¿Existe diferencia en la cantidad de bromelina extraída de la piña Mayanes en estado de maduración 1 y estado de maduración 6?

Unidad Experimental: La bromelina

Planeación de las hipótesis:

Hipótesis Nula (Ho): No existe diferencia en la cantidad de bromelina extraída de la piña Mayanes en estado de maduración 1 y estado de maduración 6

Hipótesis alternativa (Ha): Existe diferencia entre la cantidad de bromelina extraída de la piña Mayanes en estado de maduración 1 y estado de maduración 6

Se implementará un diseño experimental de prueba T-Student para variables independientes ya que es el más acertado al tipo de estudio que se está llevando a cabo, la prueba t-Student se fundamenta en dos premisas; la primera: en la distribución de normalidad, y la segunda: en que las muestras sean independientes. Permite comparar muestras, $N \leq 30$ y/o establece la diferencia entre las medias de las muestras. El análisis matemático y estadístico de la prueba con frecuencia se minimiza para $N > 30$, utilizando pruebas paramétricas, cuando la prueba tiene suficiente poder estadístico.

Aplicación prueba T-Student

Tabla 10. Resultados obtenidos. Fuente propia

Estado de maduración			
1		6	
Pulpa	Cascara	Pulpa	Cascara
4,63	1,54	27,66	8,28
4,8	1,73	29,56	9,38
6,5	1,52	22,06	11,28
4,5	1,99	27,99	8,17
5,8	1,15	24,55	11,9
4,9	1,78	22,67	11,98
4,1	1,02	22,98	8,29
4,3	1,89	29,02	11,92
6,3	1,43	26,08	9,02
4,24	1,76	22,99	11,89
5,2	1,9	29,28	9,45

5,87	1,33	25,15	9,83
4,21	1,12	29,76	10,29
5,1	1,66	22,54	8,39
5,6	1,23	22,67	12,89
4,9	1,88	23,67	10,34
6,2	1,76	27,99	11,29
5,8	1,66	22,9	10,29
6,6	1,4	22,02	10,65
5,13	2	23,45	10,78
5,24	1,74	22,73	11
6,65	1,23	27,93	9,12
5,98	1,62	22,03	9,56
4,37	1,45	29,39	10,56
6,45	1,23	23,98	11,32
6,25	1,92	26,78	11,56
6,67	1,58	23,78	8,87
4,55	1,22	26,67	11,67
6,09	1,78	22,99	11,2

Tabla 11. Prueba Shapiro-Wilk. Fuente propia

	(I)Estado de maduración y Materia Prima	(J)Estado de maduración v Materia Prima	Sig.	Intervalo de ...
				Límite inferior
DMS	Estado de maduración 2 (Cascara)	Estado de maduración 1 (Pulpa)	,000	3,8908
		Estado de maduración 1 (Cascara)	,000	7,7325
		Estado de maduración 2 (Pulpa)	,000	-15,9141
	Estado de maduración 1 (Pulpa)	Estado de maduración 1 (Cascara)	,000	3,0189
		Estado de maduración 2 (Pulpa)	,000	-20,6276
		Estado de maduración 2 (Cascara)	,000	-5,7966
	Estado de maduración 1 (Cascara)	Estado de maduración 1 (Pulpa)	,000	-4,6645
		Estado de maduración 2 (Pulpa)	,000	-24,4694
		Estado de maduración 2 (Cascara)	,000	-9,6383
	Estado de maduración 2 (Pulpa)	Estado de maduración 1 (Pulpa)	,000	18,9820
		Estado de maduración 1 (Cascara)	,000	22,8237
		Estado de maduración 2 (Cascara)	,000	14,0082
Estado de maduración 2 (Cascara)	Estado de maduración 1 (Pulpa)	,000	4,1510	
	Estado de maduración 1 (Cascara)	,000	7,9927	
	Estado de maduración 2 (Pulpa)	,000	-15,6538	

Los resultados obtenidos en este estudio revelan una situación relevante en cuanto a la cantidad de bromelina extraída de la piña Mayanes en diferentes estados de maduración. La hipótesis nula, que planteaba que no existiría diferencia en la cantidad de bromelina entre los estados de maduración 1 y 6, fue rechazada, debido a que la significancia tuvo un valor de 0. Este hallazgo sugiere que hay variabilidad significativa en el contenido de bromelina, dependiendo del estado de maduración de la piña.

La decisión de rechazar la hipótesis nula implica que la diferencia observada en los resultados no es atribuible al azar, sino que indica una verdadera disparidad en la concentración de bromelina entre los dos estados de maduración evaluados. Esta variabilidad podría tener implicaciones prácticas y estratégicas para la agroindustria y la producción de bromelina a partir de estos subproductos.

El hecho de que el estado de maduración 6, comúnmente considerado como residuo, presente una cantidad significativamente diferente de bromelina en comparación con el estado de maduración 1, sugiere que podría haber una oportunidad para reconsiderar la gestión de estos residuos. Este descubrimiento respalda la idea de que el estado de maduración 6, en lugar de ser descartado, podría aprovecharse como una fuente valiosa de bromelina.

Además, el hecho de que se hayan encontrado diferencias significativas entre los estados de maduración respalda la necesidad y la relevancia de realizar más investigaciones en esta área. Esto permitirá comprender mejor los cambios bioquímicos que ocurren durante el proceso de maduración de la piña y cómo estos afectan las propiedades y el contenido de componentes valiosos, como la bromelina.

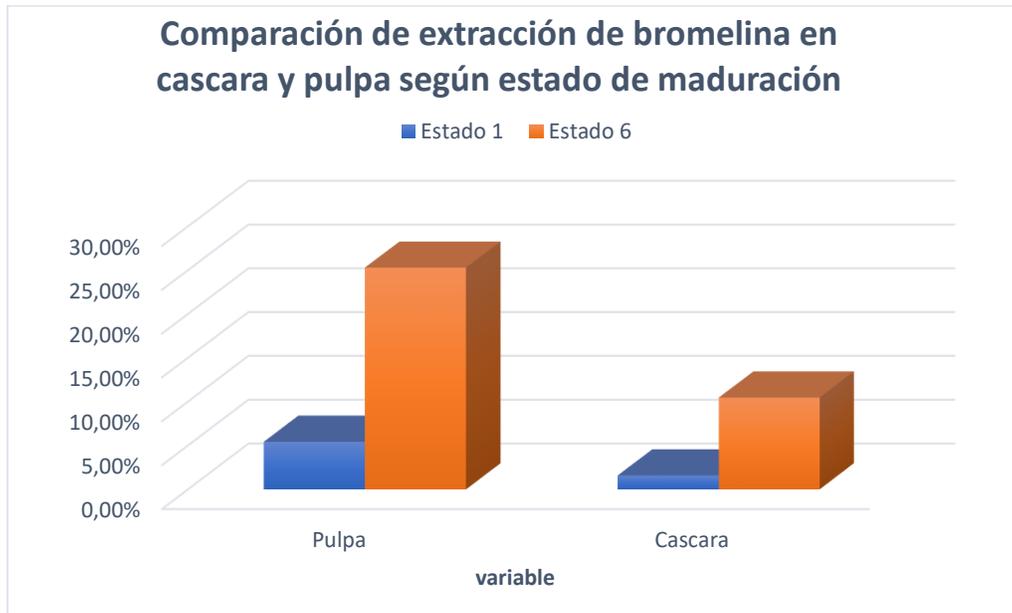
En términos prácticos, esto podría llevar a una reevaluación de los procesos de manejo de residuos en la agroindustria de la piña Mayanes en el departamento del Meta. La optimización del aprovechamiento de este subproducto, específicamente en su estado de maduración 6, podría generar beneficios económicos y sostenibles para los empresarios y fabricantes locales.

Tabla 12. Promedio de bromelina extraída. Fuente propia

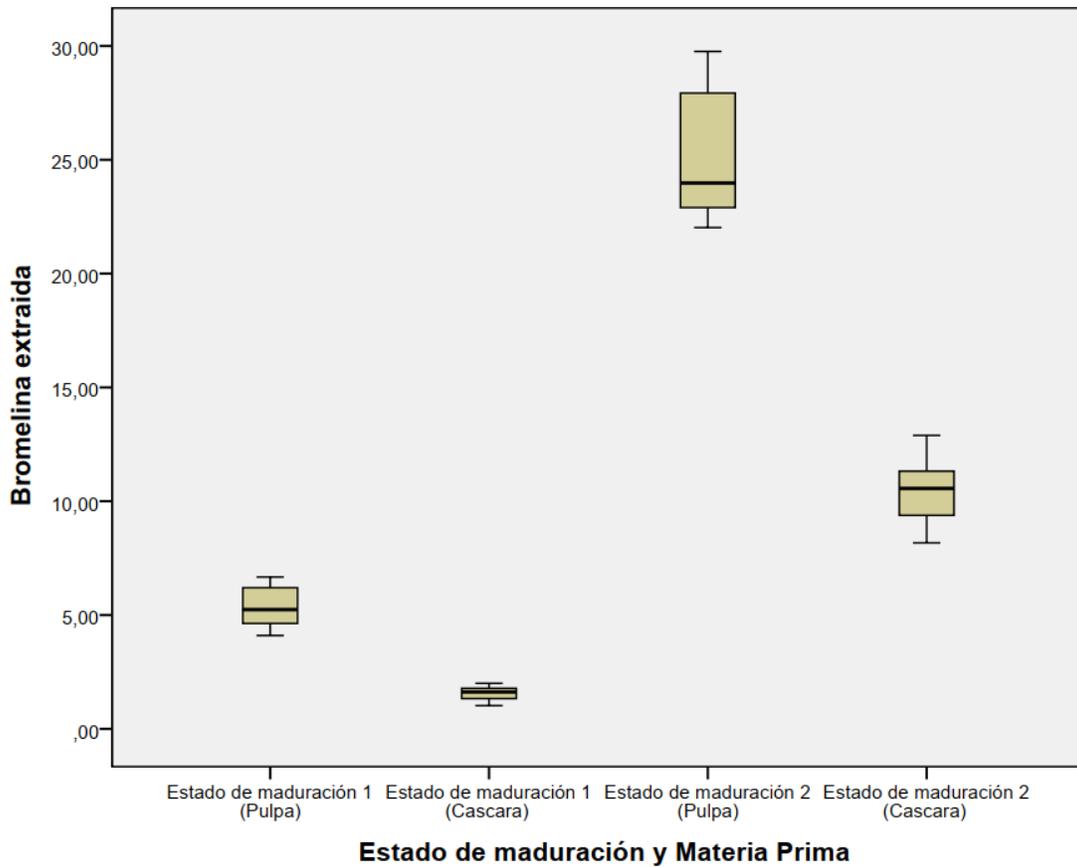
Estado de maduración	Variable	Promedio [g]	Porcentaje de extracción
1	Pulpa	5,42	5,42%
	Cascara	1,58	1,58%
6	Pulpa	25,30	25,30%
	Cascara	10,46	10,46%

Una vez establecido que existen diferencias en el contenido de bromelina según el estado de maduración y el lugar de extracción (cáscara o pulpa), se determinó que la pulpa en estado de maduración 6 contiene la mayor cantidad de bromelina. El promedio encontrado fue de 25.3 g de bromelina por cada 100 g de pulpa.

Gráfica 6. Comparación de extracción de bromelina en cascara y pulpa según estado de maduración. Fuente propia



Gráfica 7. Diagrama de caja y bigotes. Fuente propia



El menor contenido de bromelina se encuentra en la cáscara en el estado de maduración 1, con un promedio de 1.58 g de bromelina por cada 100 g de cáscara. En comparación, el contenido de bromelina en la pulpa del estado de maduración 6 es 16 veces mayor que el contenido de bromelina en la cáscara en el estado de maduración 1.

Recuperación de etanol:

El procedimiento para la recuperación de etanol, al igual que en la extracción de bromelina, se llevó a cabo en un total de 29 repeticiones. A continuación, se ejemplificará cómo se procesaron los datos obtenidos mediante el cálculo del promedio de estas repeticiones.

Tabla 13. recuperación de etanol. Fuente propia

Recuperación de etanol				
Item	Volumen utilizado [ml]	Volumen recuperado [ml]	Porcentaje de volumen recuperado	concentración [V/V]
1	400	340	85%	82%
2	400	317	79%	79%
3	400	313	78%	81%
4	400	304	76%	81%
5	400	349	87%	78%
6	400	328	82%	80%
7	400	307	77%	84%
8	400	345	86%	80%
9	400	302	76%	81%
10	400	326	82%	81%
11	400	326	82%	80%
12	400	344	86%	83%
13	400	349	87%	82%
14	400	300	75%	85%
15	400	331	83%	77%
16	400	312	78%	76%
17	400	353	88%	75%
18	400	357	89%	82%
19	400	321	80%	84%
20	400	344	86%	84%
21	400	339	85%	79%
22	400	318	80%	75%
23	400	348	87%	76%
24	400	326	82%	76%
25	400	300	75%	76%
26	400	328	82%	82%
27	400	324	81%	85%
28	400	300	75%	75%
29	400	335	84%	85%

Promedio	327,2	82%	81%
-----------------	--------------	------------	------------

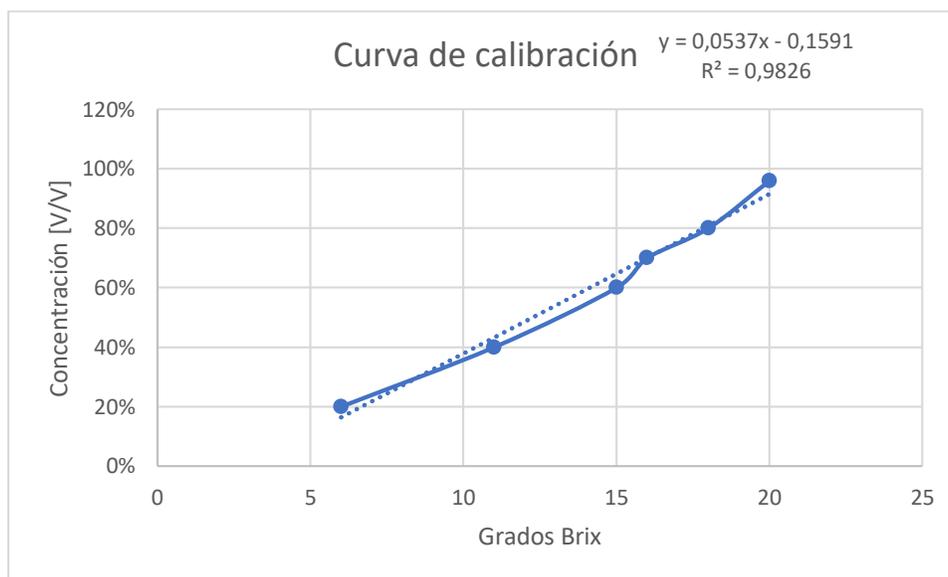
Para hallar la concentración de etanol en el destilado se prepararon 6 muestras de concentraciones conocidas y se midieron los grados brix, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 14. Concentración de etanol vs grados Brix. Fuente propia

Curva de calibración	
Grados Brix	Concentración [V/V]
20	96%
18	80%
16	70%
15	60%
11	40%
6	20%

A partir de los datos obtenidos se graficó grados Brix vs concentración

Gráfica 8. Curva de calibración. Fuente propia



Al realizar la curva de calibración, se obtuvo un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9826, y la ecuación de la recta asociada es la siguiente:

$$y = 0.0537x - 0.1591$$

Posteriormente, se llevaron a cabo las mediciones de los grados Brix en el destilado. Estos valores se sustituyeron en la ecuación de la recta, y el resultado obtenido fue el siguiente:

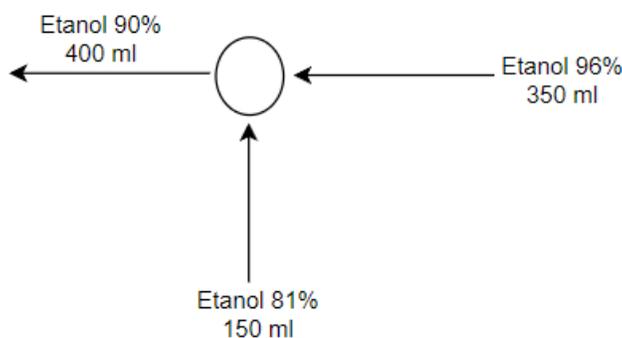
Tabla 15. concentración de etanol del destilado. Fuente propia

Curva de calibración

	Brix	Concentración [V/V]
	20	96%
	18	80%
	16	70%
	15	60%
	11	40%
	6	20%
Muestra problema	18	81%
% de Volumen recuperado	82%	

Como se observa en la Tabla 17, el porcentaje promedio de volumen recuperado es del 82%, con una concentración de 81% V/V. Esto representa un considerable ahorro en el consumo del compuesto. Al recircular el etanol recuperado, se podría llegar a cubrir hasta un 37,5% del consumo total, según se detalla a continuación:

Ilustración 13. Recirculación de etanol. Fuente propia



Los resultados relacionados con la recuperación de etanol también ofrecen información valiosa en el contexto de la optimización de procesos y la sostenibilidad en la extracción de bromelina de la piña Mayanes. Se logró recuperar un 82% de volumen de etanol con una concentración del 81%. Esta eficiencia en la recuperación de etanol tiene implicaciones económicas y ambientales significativas.

El alto porcentaje de recuperación de etanol indica que el proceso de destilación y reciclaje del solvente orgánico fue efectivo. La capacidad de recuperar más del 80% del etanol utilizado inicialmente es una ventaja económica considerable, ya que reduce los costos asociados con la adquisición de este disolvente. Además, la eficiente recuperación del etanol contribuye a la sostenibilidad del proceso, ya que disminuye la necesidad de utilizar grandes cantidades de este disolvente en cada ciclo de extracción.

La posibilidad de reutilizar el etanol recuperado para su reutilización en futuros procesos de extracción ofrece un enfoque ambientalmente consciente. La reducción del consumo de etanol mediante la recirculación no solo disminuye los costos operativos, sino que también contribuye a la reducción del impacto ambiental asociado con la producción y disposición de grandes cantidades de disolvente.

Análisis de la calidad enzimática de la bromelina extraída

Análisis de la calidad enzimática de la bromelina como ablandador de carne

Objetivo de la prueba:

Explorar el impacto de la bromelina como ablandador de carne en el corte murillo, un corte de res menos valorado, mediante una prueba hedónica.

Selección de la muestra:

Corte murillo de res

Preparación de muestras:

Corte A: Se adiciona bromelina

Corte B: No se adiciona bromelina

Criterios de evaluación

Apariencia:

- Evaluación visual del aspecto de ambas muestras

Aroma:

- Describir los aromas percibidos

Sabor:

- Evaluación de la intensidad y agrado del sabor

Textura:

- Evaluar la suavidad y firmeza al masticar

Global:

- Dar una puntuación global de preferencia para cada muestra.

Procedimiento:

Entrenamiento del panel:

- Explicar a los participantes los criterios de evaluación y cómo utilizar la escala de preferencia.

Degustación a Ciegas:

- Los participantes prueban ambas muestras sin conocer cuál fue tratada con bromelina.

Escala de preferencia:

- Utilizar una escala de preferencia, por ejemplo, de 1 a 5, donde 1 es "no me gusta en absoluto" y 5 es "me gusta mucho".

Registro de Datos:

- Registrar las puntuaciones individuales para cada criterio y la preferencia global.

Se llevó a cabo un análisis y evaluación sensorial mediante una prueba hedónica de preferencia de producto con la participación de 15 jueces consumidores, quienes fueron estudiantes y profesores de la Corporación Universitaria del Meta. En este estudio, se presentaron dos muestras de carne, una tratada con bromelina y la otra sin adicionar ningún tipo de ablandador. Se proporcionó a los panelistas una explicación detallada del proceso de evaluación de la carne en una cabina de análisis sensorial instalada en la terraza de ingenierías. Al finalizar la cata de ambas muestras de carne, se entregó una encuesta que debían completar, con el objetivo de recopilar información y realizar la evaluación sensorial del efecto de la bromelina en comparación con la muestra tratada con cuajo industrial en términos de como ablandador de carne

El formato implementado fue el siguiente:

Ilustración 14. Formato de prueba hedónica de carne. Fuente propia

Criterios de evaluación			Corte A	Corte B
Apariencia	Color			
	Presentación			
Aroma				
Sabor				
Textura				
¿Cuál producto escoge?				

Rubrica		Observaciones:
Escala	Descripción	
1	No me gusta en absoluto	
2	No me gusta	
3	No me gusta ni me disgusta	
4	Me gusta	
5	Me gusta mucho	

Se obtuvieron los siguientes resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 16. Prueba hedónica – Carne. Fuente propia

Criterios de evaluación	Corte A	Corte B
Color	4,1	4,3
presentación	4,5	4,6
Aroma	4,4	4,5
Sabor	4,8	4,8
Textura	4,5	3
¿Cuál producto escoge?	4,2	1,8

Gráfica 9. Prueba hedónica de preferencia de producto – Carne. Fuente propia



En términos de color y presentación, ambos cortes obtuvieron puntajes similares, lo que indica que la adición de bromelina no afectó significativamente la apariencia visual de la carne.

En cuanto al aroma, los puntajes son más cercanos en este conjunto de datos, con 4.4 y 4.5 para el Corte A y Corte B respectivamente. Esto sugiere que la bromelina no tuvo un impacto tan grande en el aroma en comparación con los resultados anteriores.

En el criterio de sabor, ambos cortes obtuvieron la misma puntuación de 4.8, lo que indica que la bromelina no tuvo un impacto negativo en el sabor de la carne en esta ocasión.

Nuevamente, el Corte A (con bromelina) obtuvo una puntuación más alta en textura (4.5) en comparación con el Corte B (3.0), lo que confirma la efectividad de la bromelina como ablandador de carne.

La bromelina demostró ser efectiva en mejorar la textura y suavidad del corte murillo. Esto se debe a que, como enzima proteolítica, la bromelina actúa descomponiendo las proteínas estructurales de la carne, como las fibras musculares, el colágeno y la elastina. Al fragmentar estas cadenas proteicas extensas en péptidos y aminoácidos más pequeños, se produce una degradación parcial de la estructura proteica del tejido conectivo que mantiene unidas las fibras musculares.

En consecuencia, el tejido conectivo se desestabiliza, lo que modifica la textura de la carne. Esto hace que el corte se vuelva más tierno, pierda consistencia y sea más fácil de masticar. Precisamente, los resultados de la prueba hedónica mostraron puntajes significativamente más altos en el criterio de textura para el corte tratado con bromelina, confirmando su eficacia como ablandador de carne mediante la ruptura de las proteínas estructurales.

Producción de queso a partir de bromelina extraída de pulpa y cascaras de la piña como enzima proteolítica precipitadora de la caseína de la leche.

Objetivo de la prueba:

Determinar la aceptabilidad y preferencia de los consumidores entre el Queso hecho con bromelina (Queso A) y el Queso hecho con renina (Queso B) mediante una prueba hedónica.

Selección de Muestras:

Queso A: Hecho con bromelina

Queso B: Hecho con renina

Preparación de Muestras:

- Asegurarse de que ambas muestras estén a temperatura ambiente.
- Cortar las muestras en porciones pequeñas y numerarlas para la identificación durante la prueba.

Criterios de Evaluación:

Apariencia:

- Color:
 - Evaluación de la atracción visual.
- Presentación:
 - Observar la textura y aspecto general.

Aroma:

- Oler las muestras y describir los aromas percibidos.

Sabor:

- Evaluar la intensidad y agrado del sabor.
- Identificar notas distintivas en cada muestra.

Textura:

- Suavidad:
 - Evaluar la suavidad al masticar.
- Firmeza:
 - Determinar la firmeza al presionar la muestra.

Deseo de consumir:

- Dar una puntuación global de preferencia para cada muestra.

Procedimiento:**Entrenamiento del Panel:**

- Explicar a los participantes los criterios de evaluación y cómo utilizar la escala de preferencia.

Degustación:

- Los participantes prueban ambas muestras de queso, tomando pequeños bocados entre ellas.

Escala de Preferencia:

- Utilizar una escala de preferencia, por ejemplo, de 1 a 5, donde 1 es "no me gusta en absoluto" y 5 es "me gusta mucho".

Registro de Datos:

- Registrar las puntuaciones individuales para cada criterio y la preferencia global.

Se realizó un análisis y evaluación sensorial con una prueba hedónica de preferencia de producto a 15 jueces consumidores quienes fueron estudiantes y profesores de la Corporación Universitaria del Meta, donde se tuvo 2 muestras de queso fresco, el primero realizado con la bromelina y el segundo realizado con el cuajo que produce de manera industrial (renina), se explicó el proceso de cata de quesos a los panelistas el cual se realizó en un cabina de análisis sensorial que se instaló en la terraza de ingenierías y se entregó una encuesta que debía diligenciar al momento de terminar la cata de los dos quesos mencionados anteriormente con el fin de recopilar información y realizar la evaluación sensorial del queso producido con bromelina respecto a la otra muestra.

El formato implementado para la elaboración de la prueba hedónica fue el siguiente:

Ilustración 15. Formato de prueba hedónica de queso. Fuente propia



Prueba hedónica de preferencia de producto

Nombre: _____ Fecha: _____

Edad: _____

Criterios de evaluación		Queso A	Queso B
Apariencia	<i>Color</i>		
	<i>Presentacion</i>		
Aroma			
Sabor			
Textura			
Deseo de consumir			

Rubrica	
Escala	Descripcion
1	No me gusta en absoluto
2	No me gusta
3	No me gusta ni me disgusta
4	Me gusta
5	Me gusta mucho

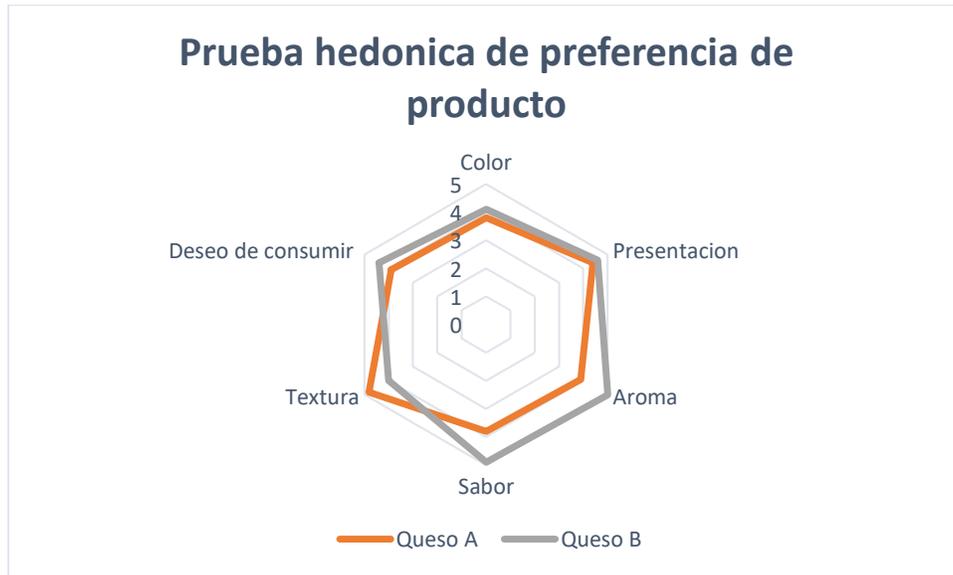
Observaciones:

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 17. Prueba hedónica de quesos. Fuente propia

Criterios de evaluación	Queso A	Queso B
<i>Color</i>	3,8	4,1
<i>presentación</i>	4,4	4,6
Aroma	3,9	5
Sabor	3,8	4,9
Textura	4,8	4
Deseo de consumir	3,9	4,4

Gráfica 10. Prueba hedónica de preferencia de producto – Quesos. Fuente propia



Según los resultados de la prueba hedónica, se observan diferencias en la preferencia entre el Queso A (elaborado con bromelina) y el Queso B (elaborado con renina).

En aspectos como color y presentación, el Queso B obtuvo calificaciones ligeramente más altas, lo que sugiere una mejor apariencia visual general para el producto hecho con renina. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la diferencia en las puntuaciones es mínima.

En cuanto al aroma y el sabor, el Queso B presentó puntuaciones significativamente más altas, lo que indica una mayor preferencia por parte de los consumidores. Esto podría deberse a que la renina, al ser una enzima más específica, permite obtener un sabor más limpio y neutral en el queso.

Es interesante notar que, en lo que respecta a la textura, el Queso A elaborado con bromelina obtuvo una puntuación más alta. Esto sugiere que la bromelina puede contribuir a una textura más suave y deseable en el queso, a pesar de que su impacto en el aroma y el sabor podría ser menos favorable.

Finalmente, al evaluar el deseo de consumir cada producto, el Queso B, hecho con renina, obtuvo una preferencia ligeramente mayor, lo que puede estar relacionado con su mejor desempeño en los aspectos de aroma y sabor.

Conclusiones

- Los resultados obtenidos a través de la comparación cuantitativa del método de extracción por etanol indican que se logra un porcentaje significativo de extracción de bromelina, destacándose especialmente en la pulpa de piña en estado de maduración 6, con un 25.3%. Este hallazgo sugiere que el método utilizado es eficaz para aprovechar la bromelina de manera considerable.
- Se observa una variabilidad notable en los porcentajes de extracción de bromelina entre los estados de maduración 1 y 6. Este hallazgo sugiere que el contenido de bromelina en la piña varía a lo largo de su proceso de maduración, lo cual debe ser considerado al diseñar estrategias de aprovechamiento de este subproducto agroindustrial.
- Los resultados de la recuperación de etanol indican un alto porcentaje de volumen recuperado (82%) con una concentración del 81% V/V. Esto demuestra que el proceso de recirculación del etanol puede ser implementado de manera eficiente, contribuyendo a la sostenibilidad del proceso y a la reducción de costos asociados a este reactivo.
- La propuesta de aprovechar los residuos agroindustriales de piña para la extracción de bromelina, junto con la recirculación del etanol, no solo contribuye a la generación de ingresos adicionales para los empresarios locales en el Meta, sino que también se alinea con los objetivos de sostenibilidad al reducir los desechos orgánicos.
- El análisis de la función enzimática de la bromelina obtenida de diferentes partes del fruto y estados de maduración, mediante procesos de gelificación, desnaturalización y ablandamiento de proteínas de origen animal, sugiere la versatilidad de esta enzima en aplicaciones industriales alimentarias. Esta versatilidad abre oportunidades para el desarrollo de productos alimentarios con valor agregado a partir de la bromelina extraída de residuos de piña.
- Las piñas en estado de maduración 6, por lo general son descartadas para su procesamiento agroindustrial, debido que en esta etapa inicio a procesos enzimáticos y fermentativos por la concentración de azúcares, afectando la calidad sensorial de la misma. Sin embargo, en esta etapa se encontró el mayor porcentaje de bromelina en los ensayos realizados, lo cual amerita continuar investigando sobre esta variable y su importancia para la propuesta de aprovechamiento de estos frutos que son desechados por la industria en la actualidad, como una alternativa económica para los productores de piña en la región.
- En los resultados del análisis sensorial de los subproductos elaborados a partir de la enzima bromelina obtenida en el estudio fueron satisfactorios, lo cual implica la viabilidad de proponer el aprovechamiento integral de la piña mayanes (*Ananas comusus*) para la obtención de la enzima bromelina para diferentes usos y aplicaciones de la industria alimentaria, generando un impacto positivo entre los productores a nivel local, regional y nacional.

Bibliografía

- [1] Muñoz., Murillo., Zambrano, Vélez, Párraga y Verduga., «Uso de papaína y bromelina y su efecto en las características organolépticas y bromatológicas de,» *Revista electronica Cooperación - Universidad Sociedad*, p. 5, 2019.
- [2] LENS, «The Lens,» 18 Diciembre 2023. [En línea]. Available: <https://www.lens.org/lens/search/scholar/analysis?q=Bromelina>.
- [3] Q. C. S. N. Castillo S, «Extracción, purificación parcial y secado de la enzima bromelina obtenida a partir del corazón de la piña (ananas comosus),» *Espol*, 2013.
- [4] Chakraborty, Mitra, Tallei., Tareq, Nainu., Cicia, Dhama., Emran, Simal-Gandara y R. Capasso, «Bromelain a Potential Bioactive Compound: A Comprehensive Overview from a Pharmacological Perspective,» *Life*, 2021.
- [5] P. Chetpattananondh y J. Pornpunyapat, «Bioethanol Production from Pineapple,» de *Advanced Materials Research*, 2014, pp. 875-877.
- [6] Misran, Idris, Hajar y Yakob, «Properties of bromelain extract from different parts of the pineapple variety Morris,» *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2019.
- [7] M. L.C., N. I.C.O., Batista., S. M.L.M. y V. T.T., «RECUPERACIÓN DE PROTEÍNAS DE LA HOJAS DE ENREDADERA LIMÓN,» *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, p. 12, 2019.
- [8] M. Agudelo, A. Herrera y J. Bibiana, «Evaluación de la obtención de bromelina por los métodos de extracción: bifases acuosas y salting out contenida en los corazones de las tres variedades de piña procesadas en la Empresa Betters International SAS,» 2019.
- [9] G. M., V. K. y L. E., «Aplicaciones terapéuticas de la bromelina en el sistema gastrointestinal en humanos: una revisión de alcance.,» *RESPYN Revista Salud Pública y Nutrición*, 2022.
- [10] O. Ortigoza, G. Hernandez, D. Perez, N. Franco y B. Cantú, «Extracción, purificación y cuantificación de bromelina a partir de cáscara de,» p. 6, 2020.
- [11] L. Peñaranda Gonzalez, S. Montenegro Gómez y P. Giraldo Abad, «Aprovechamiento de residuos agroindustriales,» p. 10, 2017.
- [12] V. D. Linares J., «PLAN DE NEGOCIOS PARA LA CREACIÓN DE UNA EMPRESA,» Villavicencio , 2019.
- [13] DANE, «Sistema de Información de Precios y abastecimiento del sector agropecuario componente de abastecimiento de alimentos (SISPA),» Bogota , 2023.
- [14] DANE, «Desafíos economicos Villavicencio, Meta,» Bogota , 2021.

- [15] J. Ramírez Ramírez y M. Ayala Aceves, «ENZIMAS: ¿QUÉ SON Y CÓMO FUNCIONAN?,» p. 13, 2020.
- [16] L. D. Castillo Ordeñana, M. D. Ocampo Obregón y J. H. Mendoza Alvarado, «Ablandador líquido sazonado para carne, utilizando extracto de bromelina obtenido por extracción líquido-líquido a partir de cascara y corazón de piña (Ananas Comosus) variedad monte lirio,» *Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua Managua* , p. 179, 2020.
- [17] D. L. Domínguez Díaz, «ELABORACIÓN DE QUESO DE CAPAS UTILIZANDO COMO AGENTE DE CUAJO, UNA MEZCLA DE RENINA Y EXTRACTO DE BROMELINA DEL EPICARPIO DE LA PIÑA VARIEDAD CAYENA LISA,» p. 75, 2023.
- [18] Jaramillo, «APROVECHAMIENTO ENERGÉTICO DE LA CASCARA DE PINA COMO,» p. 56, Diciembre 2022.
- [19] Mora y Ventura, «Propuesta para la elaboración de una harina a base de cascara de piña (ananás comosus) y su aplicación en la pastelería,» 2018.
- [20] J. V. Tinoco, «Incorporación de harina de cáscara de piña como fuente de fibra,» p. 84, 2022.
- [21] «ENRIQUE QUINZA GUERRERO,» [En línea]. Available: https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1978_25.pdf.
- [22] Gao, Yao, Chen, Wu, Wu, Liu, Guo y Zhang, «Metabolomic and transcriptomic analyses reveal the mechanism of sweet-acidic taste formation during pineapple fruit development,» *Frontiers in Plant Science*, 2022.
- [23] J. I. Garzón Serrato , «Establecimiento Y Manejo De Un Cultivo De Piña En La Sede De La Asociación De Ingenieros Agrónomos Del Llano En Villavicencio,» Villavicencio , 2016.
- [24] Abreu y Figueiro, «BROMELAIN SEPARATION AND PURIFICATION,» *Brazilian Journal*, 2019.
- [25] L. Seguí, «Centrifugación a escala de laboratorio,» *Universidad Politécnica de Valencia*, 2022.
- [26] M. L. S. Osorio, «Diseño de un simulador para la operación tipo batch de la Torre de Destilación del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle de Guatemala para separación de etanol de mezclas etanol-agua.,» 2022.
- [27] Salibay, Mahboob, Kumar, Jonnacar, Anne, Samudi y Nissapatorn, «Natural product-derived drugs for the treatment of inflammatory bowel diseases (IBD),» de *Salibay C., Mahboob T., Kumar A., Jonnacar S., Anne H., Samudi C., Nissapatorn V.*, Academic Press, 2021, pp. 191-215.

- [28] «Agencia para sustancias tóxicas y el registro de enfermedades,» 18 Diciembre 2023. [En línea]. Available: https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts21.html.
- [29] DANE, «Principales características del cultivo de la Piña (*Ananas comosus* L.),» 2016.
- [30] «Khan Academy,» 08 2021. [En línea]. Available: <https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/cellular-energetics/enzyme-structure-and-catalysis/a/enzymes-and-the-active-site>. [Último acceso: 01 31 2024].