



PURIFICACIÓN DE LA PAPAÍNA DEL LÁTEX DE LA LECHOSA Y CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Tovar-Colmenárez Yanny¹, Ávila de Hernández Rita², Pire-Sierra María C.³ y González-Ortíz Marie T.⁴

Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" Programa Ingeniería Agroindustrial,
Decanato de Agronomía. Barquisimeto, estado Lara-Venezuela.

¹Lab. Desechos Agroindustriales II, Dpto. Ecología y Control de Calidad tyanny@ucla.edu.ve

²Lab. Bioingeniería, Dpto. Procesos Agroindustriales ritaavila@ucla.edu.ve

³Lab. Investigación Ambiental, Dpto. Ecología y Control de Calidad mcpirre@ucla.edu.ve

⁴Dpto. Procesos Agroindustriales. Posgrado de Horticultura marieg@ucla.edu.ve.

ASA/EX 2018-02

Recibido: 13-06-2018

Aceptado: 14-07-2018

RESUMEN

El látex es un fluido tixotrópico contenido en vasos latíferos bajo el exocarpo de la lechosa. Su contenido de enzimas proteolíticas lo ha hecho un sujeto muy estudiado, en particular la papaína, que aún estando entre los menores constituyentes de esas enzimas es la de mayor uso industrial. En esta investigación se purificó la papaína del látex de la lechosa y se evaluó el efecto de dos condiciones de secado sobre la actividad enzimática. Se extrajo el látex del exocarpo de la fruta, se deshidrató bajo dos condiciones (C), C1: 25°C y 20 h y C2: 60°C y 4 h, se calculó el rendimiento seco y se caracterizó. Posteriormente, se purificó la papaína y se cuantificó la actividad enzimática; luego se estimó el factor de purificación (FP) y finalmente, se determinó la actividad proteolítica evaluando la eficiencia de remoción de proteínas de un efluente industrial. El látex seco en C1, con un rendimiento de 1,38%, se caracterizó por poseer 52 °Brix, pH 6,26, humedad 8,50%, 39,48% de cenizas; mientras que en C2 rendimiento 1,45%, 42,96 °Brix, pH 6,76, humedad 4,73%, 30,80% de cenizas. El FP fue de 91,19-108,64%. Finalmente, se demostró el poder de la enzima al determinar la eficiencia de remoción del contenido proteico de un efluente lácteo obteniéndose que, con la papaína purificada, se removió en promedio 60,03%.

Palabras Clave: *Carica papaya L.*, extracción alcohólica en dos pasos, Balls y Hoover, suero lácteo.



PURIFICATION OF THE PAPAÍNA FROM PAPAYA LATEX AND QUANTIFICATION OF THE ENZYMATIC ACTIVITY

ABSTRACT

Latex is a thixotropic fluid contained in latiferous vessels under the exocarp of the papaya. Its content of proteolytic enzymes has made it a highly studied subject, in particular papain, which, even being among the minor constituents of these enzymes, it has the highest industrial use. In this investigation papain was purified from papaya latex and the effect of two drying conditions on enzyme activity was evaluated. The latex was extracted from the fruit's exocarp, dehydrated under two conditions (C), C1: 25°C and 20 h and C2: 60°C and 4 h, the dry yield was calculated and characterized. Subsequently, the papain was purified and quantified the enzymatic activity; then the purification factor (FP) was estimated and finally, the proteolytic activity was determined by evaluating the efficiency of removal of proteins from an industrial effluent. The dry latex in C1, with a yield of 1.38%, was characterized by having 52 ° Brix, pH 6.26, humidity 8.50%, 39.48% ash; while in C2 yield 1.45%, 42.96 ° Brix, pH 6.76, humidity 4.73%, 30.80% ash. The FP was 91.19-108.64%. Finally, the power of the enzyme was demonstrated by determining the efficiency of removal of the protein content of a dairy effluent. With the purified papain, an average protein removal of 60.03% was achieved.

Keywords: *Carica papaya L.*, alcohol extraction in two steps, Balls and Hoover, dairy effluent.



INTRODUCCIÓN

El látex de la lechosa es un fluido tixotrópico que se encuentra almacenado principalmente en vasos latíferos distribuidos debajo del exocarpo de la fruta (El Moussaoui et al. 2001). La extracción del látex se hace por exudado, mediante el estriado del fruto verde, pero plenamente desarrollado (Mejía y Vega, 2010). Una que vez emerge el látex coagula prontamente sobre la herida con un efecto cicatrizante que previene la entrada de patógenos al floema de la planta (Azarkan et al. 2003). Aún cuando el proceso de extracción afecta la apariencia del fruto, no impide su posterior utilización una vez colectado el látex, debido a que la maduración continúa y es posible utilizarlo como materia prima en la elaboración de colados de frutas, néctares y otras preparaciones (Fernández, 2005; García y Roldán, 2005; Arana y Quijano, 2012).

El látex está conformado por 85% de agua, una fracción insoluble de composición desconocida y una fracción soluble que a su vez contiene carbohidratos (10%), sales (10%), lípidos (5%) y biomoléculas como la glutatona, la cisteína proteinasa (30%) y varias proteínas (10%). Si bien la papaína está entre los menores constituyentes de las enzimas del látex de la lechosa, ha sido la más estudiada debido a que es fácil purificarla y es la de mayor uso industrial (El Moussaoui et al. 2001; Arana y Quijano, 2012).

La papaína es una proteasa endolítica cisteína activa (EC 3.4.22.2), que tiene un amplio intervalo de especificidad, entre las enzimas proteolíticas, y es térmicamente estable (Islam y Molinar, 2013). Además de la importancia que tienen las enzimas proteolíticas para la vida, ellas poseen una vasta gama de aplicaciones comerciales, encontrándose entre los tres mayores grupos de enzimas industriales y siendo responsables del 60% del comercio internacional de



enzimas (Toledo et al. 2008). Entre los usos de la papaína, destaca su aplicación en ámbitos como el alimenticio (Gutiérrez y Velásquez, 2009; Yanza, 2010), el textil (Fernández, 2005), curtiembre (Gutiérrez y Velásquez, 2009), detergentes (Fernández, 2005), médico-farmacéutica (Soares et al., 2015; Islam et al. 2015) y ambiental (García y Roldán, 2005; Curvelo et al. 2015).

Dado el interés industrial de esta enzima y considerando que su importancia comercial está asociada a su pureza y posterior utilización (Quino et al. 2008), en esta investigación se purificó la papaína del látex de la lechosa y se evaluó el efecto de dos condiciones de secado sobre la actividad enzimática, para luego finalizar con una potencial aplicación de la papaína purificada en el tratamiento de un efluente industrial, de naturaleza proteica.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio de tipo descriptivo y experimental se realizó en el Laboratorio

de Investigación Ambiental del Programa Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (Barquisimeto, Venezuela)-UCLA. La población estuvo conformada por 34 frutos de lechosa del cultivar Criolla, procedentes de un huerto familiar ubicado en las proximidades del Parque Nacional Terepaima, Municipio Palavecino (Venezuela) y cosechados en un estado de maduración tipo 1 (verde oscura), según recomiendan Gutiérrez y Velásquez (2009). La investigación se estructuró en tres fases:

Fase I. Extracción del látex y caracterización.

Se lavaron, secaron los frutos y se les determinó la masa fresca. El látex se colectó de cada fruto en cápsulas de Petri estériles, haciendo incisiones de aproximadamente 2 mm en la superficie, con un cuchillo de acero inoxidable. Se consideró para la evaluación el látex que fluía a la cápsula y el que coaguló en la superficie del fruto debido a que no se ha encontrado diferencia en la actividad



proteolítica entre la papaína del látex exudado y la del que coagula sobre la incisión (Mundo y Serrano, 2012). Finalmente, se reservó en el mismo recipiente colector, se pesó, se calculó el rendimiento fresco y se secó inmediatamente.

Para el secado se empleó una estufa Heraeus Thermolyne® y se probaron las condiciones que se muestran en el Cuadro 1 con la finalidad de verificar su impacto en la actividad enzimática de la papaína.

Cuadro 1. Condiciones de secado del látex de la lechosa (*Carica papaya L.*)

Método	Condiciones (C)	Referencia
Secado en estufa	C1 25°C, 20h	Quino <i>et al.</i> (2008)
Secado en estufa	C2 60°C, 4h	Curvelo <i>et al.</i> (2015)

Luego de secar el látex proveniente de cada fruto, se pesó para calcular el rendimiento por masa de fruto fresco y se caracterizó, considerando cada fruto como una repetición. Se determinó el contenido de sólidos solubles totales

(COVENIN 924-83), pH (COVENIN 1315-79), humedad (COVENIN 1553-80) y cenizas (AOAC 923.03-2005).

Fase II. Purificación de la papaína y cuantificación de la actividad enzimática.

Para la purificación de la papaína se utilizó una adaptación del método de extracción alcohólica en dos pasos (Andrade *et al.*, 2011), procediéndose de la siguiente manera. A una muestra de látex, se le adicionó sulfato de amonio (40% de saturación) y ácido etilendiaminotetracético (EDTA 0,1N), para eliminar moléculas orgánicas e inorgánicas pequeñas y otras proteínas presentes. La proporción empleada fue 1:10 (látex: sulfato de amonio + EDTA). Durante esta etapa se solubilizó el látex para posteriormente diluirlo con etanol (96% v/v) hasta una concentración de alcohol de 10% (v/v, en relación al volumen total de la suspensión). Se agitó hasta su total disolución.

Luego, se eliminaron por filtración las impurezas utilizando tierra de diatomeas.



Al filtrado, se le adicionó etanol en proporción 1:3 (volumen de filtrado: etanol) para obtener un precipitado que se recuperó por filtración (Whatman N.º 40). Finalmente el precipitado se secó en estufa (50° C, 2 h), luego se pulverizó y el polvo resultante correspondió a la papaína purificada, que se reservó en frasco ámbar y se mantuvo bajo congelación a -20 °C hasta su uso.

La cuantificación de la actividad enzimática de la papaína se realizó mediante el método de Balls y Hoover (Andrade et al. 2011), para lo cual se colocó en un tubo de ensayo 10 mg de solución de papaína (0,05 g papaína purificada en 10 g ácido acético 0,01%) y se mezcló con una solución de 10 mL de leche (2,5 g de leche en polvo en 100 g de agua) que se calentó en un baño (50 °C). Posteriormente, se agitó el tubo hasta el primer signo de coagulación. El tiempo que tardó en formarse el coágulo se empleó para estimar la actividad enzimática, que se expresó en Unidades de Potencia de Coagulación de Leche por

gramo de enzima seca (U_{pe}), según la expresión 1. Donde, E: miligramos de papaína utilizados para 10 mL del sustrato precipitante (leche) en el momento t (min) (Andrade et al. 2011).

$$U_{pe} = \frac{1000}{E * t} \quad (1)$$

Finalmente, para cuantificar la papaína extraída se empleó el factor de purificación (FP) que se calculó con la expresión 2 (Rojas, 2009; Cucaíta, 2010) y permitió determinar el porcentaje de recuperación de la actividad enzimática (AE) de la enzima purificada, en relación con una actividad enzimática inicial referencial (AE_i), de la enzima sin purificar (en el látex seco).

$$(FP) = \frac{AE}{AE_i} * 100 \quad (2)$$

Fase III. Determinación de la actividad proteolítica de la papaína en un efluente industrial.

Esta última etapa tuvo por finalidad probar un potencial uso industrial de la papaína obtenida en las fases anteriores. Consistió en poner a prueba su actividad



proteolítica, empleándola para tratar un efluente industrial de naturaleza proteica (suero lácteo) a escala de laboratorio, al que previamente se le comprobó la presencia de caseína de la siguiente manera: el suero lácteo se homogenizó y se llevó a temperatura ambiente (29 °C). Se tomaron 5 mL en un tubo de ensayo, y se calentó mediante baño termostatado hasta 30 °C. Luego se agregaron 5 mL de solución de ácido tricloroacético al 10%, y se observó la formación, o no, de un precipitado (caseína).

Para determinar la concentración de proteínas durante el tratamiento enzimático, se empleó el método Sorensen-Walker, que consistió en transferir 9 mL de suero lácteo a una fiola, luego se le adicionó 1 mL de fenolftaleína y se valoró con NaOH (0,1 N) hasta la permanencia de una tonalidad rosa suave. Luego, se agregaron 2 mL de solución de formaldehído (40%, la muestra se reacidificó y desapareció el color rosa).

Se valoró nuevamente hasta la aparición del rosa y se anotó el volumen de valorante final (gasto 2). El porcentaje de proteínas se calculó mediante la expresión 3 (Faría et al. (1988), citados por Hernández *et al.* (1992).

$$\text{proteína, \%} = \text{gasto} 2 * 2,0 \quad (3)$$

Tratamiento enzimático del suero lácteo. Para evaluar la acción enzimática de la papaína sobre el efluente se utilizó una combinación de la metodología propuesta por Curvelo et al. (2015) y la de García y Roldán (2005).

Se ajustó a 6 unidades el pH del suero lácteo, mediante la adición de NaOH (0,1 N) y se estimó la concentración inicial de proteínas (Co). Se prepararon 6 fiolas agregándole 30 mL de suero y 160 mg de papaína purificada, se mantuvo en agitación durante 6 horas utilizando una plancha con agitación magnética. Cada hora se determinó la concentración de proteínas. La actividad proteolítica de la enzima (ap), se calculó según la expresión 4. Donde Co es la concentración de



proteínas inicial en el suero y C_i , la proteína para cada instante t del tratamiento.

$$ap = \frac{C_i}{C_o} \quad (4)$$

-Para estimar el porcentaje de remoción de la proteína (R_p) en el efluente, se empleó la siguiente expresión.

$$R_p = 100(1 - ap) \quad (5)$$

Análisis estadístico

El experimento se condujo bajo un diseño completamente al azar con dos tratamientos (C1: 20 °C-24 h y C2: 60 °C - 4 h) y siete repeticiones cada uno. La evaluación de los resultados de las etapas I y II se realizó mediante un análisis de varianza, seguido de una prueba de separación de medias a través de la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$) utilizando el programa Origin Pro 8.0® bajo ambiente Windows®. Para las variables de la etapa III, se hicieron tres repeticiones y los resultados fueron analizados por estadística descriptiva señalando promedio y desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase I. Extracción del látex y caracterización

I.a) Rendimiento del látex. Se obtuvo 0,017 y 0,013 g látex/fruto, a las condiciones de secado C1 y C2, respectivamente, sin diferencia estadística entre ellos. Estos fueron inferiores a los publicados por Vidal *et al.* (2009) quienes reportan 0,63 g látex/fruto; Borella y Stavanato (2015) 0,042 g látex/fruto, y Arana y Quijano (2012) 0,066 g látex/fruto.

Las diferencias entre esos valores y los encontrados en la presente investigación pueden atribuirse a factores genéticos y de cultivo (suelo, clima y manejo hortícola) debido a que influyen directamente en la producción de látex (Arana y Quijano, 2012; Borella y Stavanato, 2015).

Respecto a las condiciones de secado (Cuadro 2) se observa que éstas no



tuvieron efecto sobre la masa de látex seco ($p > 0,05$).

Cuadro 2. Rendimiento del látex de lechosa en las condiciones de secado C1 y C2

Condición de secado	Rendimiento de látex seco (%)
C1	1,38 a
C2	1,45 a

C1: Secado en estufa 25 °C, 20 h; C2: Secado en estufa 60 °C, 4 h. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0,05$). (n=7).

I.b) Caracterización del látex. El Cuadro 3 muestra el resultado de la caracterización del látex. Se observa que los valores promedios de pH estuvieron cercanos a la neutralidad, pero la condición C2 provocó un pH estadísticamente superior a la condición C1 ($p \leq 0,05$). Por su parte, para las muestra secas en condición C1, el valor promedio de los SST fue de 52,00 °Brix y para las secadas en condición C2, de 42,96 °Brix, notándose un efecto de la temperatura y el tiempo, sobre el contenido de sólidos solubles en la

muestra. Por su parte, los contenidos de ceniza y humedad para las muestras secadas en condición C1 (25 °C, 20 h), fueron en promedio 39,48% y 8,50%, respectivamente y mayores que en la condición de secado C2 (60 °C, 4 h) 30,80% humedad y 4,73% cenizas.

Cuadro 3. Caracterización del látex de lechosa (*Carica papaya* L.) en las condiciones de secado C1 y C2

Látex seco	C1		C2	
	x	ds	x	ds
pH	6,26a	0,16	6,76b	0,04
SST, °Brix	52,00a	1,15	42,96b	2,85
Cenizas, %	39,48a	5,09	30,80b	2,02
Humedad, %	8,50a	3,11	4,73b	1,16

SST: Sólidos solubles totales; C1: Secado en estufa 25 °C, 20 h; C2: Secado en estufa 60 °C, 4 h. x: promedio, ds: desviación estándar. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0,05$). (n=7).

La importancia que reviste cuantificar el contenido de humedad y cenizas en el látex está asociada a parámetros de calidad. Particularmente, la humedad es determinante en la vida útil y en la



selección del tipo de empaque final para envasar el producto. Los resultados de esta investigación, están en concordancia con lo que se establece en la teoría (Brennan et al. 1998), donde se tiene que entre la temperatura y el tiempo de secado debe existir un compromiso; puesto que se espera que a altas temperaturas el tiempo sea menor. Caso contrario si la temperatura de secado es baja. Así mismo, ocurre con la humedad. A mayor temperatura el contenido de humedad deberá ser menor que con un secado a temperatura baja.

Ahora bien, ese compromiso que se menciona sólo se determina haciendo una curva de secado. Realizar la curva no estuvo entre los objetivos de esta investigación, debido a que se probaron condiciones de secado recomendadas por otros autores. En una futura investigación se podrán establecer las condiciones óptimas de secado, teniendo como variable de selección aquella temperatura y tiempo en los que la actividad enzimática muestre un máximo.

Es importante acotar, para el contenido de cenizas, que si bien se empleó el mismo método de secado (estufa) Brennan et al. (1998) establecen que una de las limitaciones de éste es que a mayor temperatura se promueve la degradación de la muestra, por el desprendimiento de materiales que son removidos con el agua y la formación de costra en la superficie del material; ambas, constituyen una fuente de variación importante cuando se prueban distintas condiciones de secado. De allí la diferencia encontrada en los contenidos de humedad y ceniza en las muestras de látex secas en las condiciones C1 y C2.

Continuando con el análisis de la caracterización del látex seco, Arana y Quijano (2012) señalaron que para el látex proveniente de los cultivares de lechosa (Criolla, Golden y Maradol) se obtuvieron valores de pH (6,10 en promedio), similares a los reportados en esta investigación. No así con respecto a los SST que fue de 17 °Brix en promedio para los autores citados, y entre 39-52



°Brix en el presente estudio. Estas diferencias pueden atribuirse al factor genético, pues el material empleado fue el criollo.

Fase II. Purificación de la papaína y verificación de la actividad enzimática.

II.a) Rendimiento de la papaína purificada del látex seco. El rendimiento de la papaína estuvo comprendido entre 71,67 y 78,47% (Cuadro 4) sin diferencias significativas entre los resultados obtenidos ($p > 0,05$). Por tanto, las condiciones de secado no influyeron sobre la cantidad de papaína que se puede purificar con este método.

Cuadro 4. Rendimiento de la papaína de la lechosa (*Carica papaya* L.) en condiciones de secado C1 y C2

Condición de secado	Rendimiento de papaína (%)
C1	78,47a
C2	71,67a

C1: Secado en estufa 25 °C, 20 h; C2: Secado en estufa 60 °C, 4 h. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0,05$). (n=7).

Quino et al. (2008) obtuvieron un rendimiento de 80% al producir papaína liofilizada, mientras que Sarote et al. (2006) señalaron un rango más amplio comprendido entre 20 a 90% al optimizar las condiciones para la extracción por precipitación salina en dos pasos. Finalmente, Andrade et al. (2011) registraron rendimientos de 10,83 a 11,53% al estudiar las variables que influyen en la extracción alcohólica en dos pasos, previo a dos métodos de secado (al vacío y con ventana refractaria).

Al contrastar los resultados de esta investigación con los de los autores citados, se tiene que están próximos a los de Quino et al. (2008), y a los de Sarote et al. (2006); y a su vez fueron mayores a los de Andrade et al. (2011); la razón de ello posiblemente se deba a que si bien se empleó el mismo método de purificación, en esta investigación se utilizó una combinación de las mejores condiciones de estos últimos autores con un método de secado en estufa.



II.b. Actividad enzimática y factor de purificación de la papaína. La actividad enzimática estuvo comprendida entre 157,28 a 159,67 Upe (Cuadro 5), se observa que no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) cuando se comparó la actividad enzimática de la papaína purificada del látex seco a C1 con la de la muestra proveniente del látex seco a condición C2. Por tanto, el tiempo y la temperatura no influyeron en la actividad de la enzima purificada.

Cuadro 5. Actividad enzimática de la papaína

	Actividad enzimática de la papaína, Upe	
	C1	C2
x	159,67a	157,28a
ds	21,74	25,96

C1: Secado en estufa 25 °C por 20h; C2: Secado en estufa 60 °C por 4h; x: promedio; ds: desviación estándar. Upe: Unidad de poder de coagulación de la leche por gramo de enzima seca. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0,05$). (n=7).

Confrontando estos resultados con los de Andrade et al. (2011), quienes obtuvieron que la actividad enzimática estuvo

comprendida entre 150 – 200 Upe, para papaína purificada en el laboratorio, se puede decir que el método y sus resultados se consideran confiables, puesto que la enzima analizada en el presente estudio, reporta valores de actividad enzimática en el mismo rango, independientemente del tiempo y la temperatura usada durante el secado del látex.

Con los valores de la actividad enzimática de la papaína purificada proveniente de látex seco a dos condiciones diferentes y la del látex sin purificar, se obtiene el factor de purificación (FP) de la papaína (Cuadro 6).

Cuadro 6. Factor de purificación de la papaína

	Factor de purificación de la papaína, %	
	C1	C2
x	108,64a	91,19b
ds	14,81	15,06

C1: Secado en estufa 25 °C por 20 h; C2: Secado en estufa 60 °C por 4h. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0,05$). (n=7).



En el Cuadro 6 se muestra que el FP promedio de la enzima purificada del látex seco a condición C1 fue de 108,64% y que la papaína proveniente del látex secado en condición C2, registró un valor promedio de 91,19%. Las diferencias estadísticas entre ambos valores, se debe probablemente a que si bien las condiciones de secado no tuvieron efecto sobre la actividad enzimática de la papaína purificada, si afectó la actividad enzimática del látex (sin purificar) a las dos condiciones de secado comparadas en este estudio, 147 Upe y 172,02 Upe para las condiciones C1 y C2, respectivamente, valores a partir de los cuales se calculó el factor de purificación (Ecuación 2).

Quino et al. (2008) obtuvieron un FP del 80%, al recuperar papaína liofilizada; Sarote et al. (2006) reportaron un FP de 2,7 a 39% al emplear la precipitación salina como método de purificación; mientras que Minglian et al. (2010) un FP de 20,82 a 43,3% cuando utilizaron la

extracción acuosa en dos pasos. La diferencia entre los FP, pudiera atribuirse a los distintos métodos de purificación, así como a las características propias de la fruta fuente del látex; no obstante, los resultados de esta investigación, son factibles de realizar pues los métodos empleados son sencillos y de fácil puesta en marcha en el laboratorio.

Fase III. Determinación de la actividad proteolítica de la papaína en un efluente industrial.

Al tratar el efluente con la papaína purificada (5,33 mg enzima/mL suero lácteo) se obtuvo que de un contenido de proteínas inicial en el suero de 33,53%, al cabo de 6 horas de tratamiento disminuyó hasta 13,20%. Esto representó una remoción de 60,3% mostrando una actividad proteolítica promedio de 0,425. Los resultados coinciden con los que obtuvieron García y Roldán (2005), quienes concluyeron que la papaína purificada e inmovilizada en gel de agar, puede utilizarse en el



tratamiento de aguas residuales de la industria alimenticia como la cárnica (embutidos), láctea (cremería) y panadera, al lograr una disminución del 43,37, 63,30 y 22,72%, respectivamente de las unidades de absorbancia, en dichos efluentes a las 6 h de tratamiento.

CONCLUSIONES

Se obtuvo un rendimiento de látex seco entre 1,38 y 1,45%, con respecto a la masa de fruto fresco.

El rendimiento de la extracción y la actividad enzimática de la enzima resultaron independientes de las condiciones de temperatura y tiempo empleadas durante el secado del látex. Lográndose un rendimiento de la extracción de papaína entre 71,67 y 78,47% con actividad enzimática de 157,28 a 159,67 Upe.

La papaína purificada a partir del látex de la lechosa presentó una actividad proteolítica eficiente al disminuir la carga proteica durante el tratamiento de

depuración de un efluente de la industria láctea, Logrando una remoción de 60,3%.

REFERENCIAS

- Andrade, M., Morales, O. y Martínez, H. (2011). *Estudo do processo de extracao de papaina a partir do látex do fruto de mamao (Carica papaya L.) cv. Maradol*. [En línea]. Tesis de Grado. Universidad Estatal de Campinas, Brasil. Disponible: <https://goo.gl/qEL5f9> [Consulta: 29 de Marzo 2017].
- AOAC (2005). *Official Methods of Analysis* 18th edition. Cenizas en alimentos, AOAC N.º 923.03. Cap. 32, pág. 2.
- Arana P. y Quijano M. (2012). *Extracción, caracterización y comparación de látex obtenido, en secado por aspersion, de tres variedades de lechosa (Carica papaya L.)*. [En línea] Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Ecuador. Disponible: <https://goo.gl/eG14tb> [Consulta: 8 de Marzo 2017].
- Azarkan, M., Wintjens, R., Looze, Y. y Baeyens-Volant, D. (2003). *Detection of three wound-induced proteins in papaya latex*. *Phytochemistry* 65, 525-534.



- Borella, J. y Stavanato, M. (2015). *Análise sazonal da produção e da atividade enzimática de látex fresco coletado de frutos de plantas femininas e hermafroditas de mamão (Carica papaya L.)*. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas 17(4), supl. III:1112-1117.
- Brennan, J.G., Butters, J.R., Cowell, N.D. y Lilley, A.E.V. (1998). *Las operaciones de la ingeniería de los alimentos*. Zaragoza: ACRIBIA.
- Castellanos, O., Jiménez, C., Montañez V., Sinitsyn A. y Sinitsyna O. (2006). *Análisis del desarrollo tecnológico en la aplicación de enzimas en la industria textil*. [En línea]. Ingeniería y Competitividad, 8(1), 37-46. Disponible: <https://goo.gl/TQu3FH> [Consulta: 7 de Febrero 2017].
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (1979). Norma 1315-79. *Alimentos. Determinación del pH (Acidez iónica)*. Caracas – Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (1980). Norma 1553-80. *Productos de cereales y leguminosas. Determinación de humedad*. Caracas – Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (1981). Norma 1783-81. *Productos de cereales y leguminosas. Determinación de cenizas*. Caracas – Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (1983). Norma 924-83. *Frutas y productos derivados. Determinación de sólidos solubles por refractometría*. Caracas – Venezuela.
- Cucaíta, N. (2010). *Separación y caracterización bioquímica de la enzima 1,3-propanodiol oxidoreductasa proveniente de una cepa nativa de Clostridium spp IBUN 158*. [En línea]. Universidad Nacional de Colombia, Colombia. Disponible: <https://goo.gl/P9BMLK> [Consulta: 15 de Febrero 2018].
- Curvelo, J., de Araujo, S., de Souza, R. y Biazus, J. (2015). *Simulación del proceso de biodegradación de aguas residuales de la industria de carne mediante una red neuronal artificial perceptrón multicapa*. *Ingeniare*. Revista Chilena de Ingeniería [En línea]. Disponible: <https://goo.gl/ZNiu5o> [Consulta: 27 de Marzo 2017].
- El Moussaoui, A., Nijs, M., Paul, C., Wintjens, R., Vicentelli, J., Azarkan, M. y Looze, Y. (2001). *Revisiting the enzymes stored in the laticifers of Carica papaya in the context of their possible*



- participation in the plant defense mechanism. Cell. Mol. Life Sci.* 58, 556-570.
- Fernández J., (2005). *Plan de negocio para la producción de papaína en la séptima región.* [En línea]. Trabajo de Grado. Universidad de Talca, Chile. Disponible: <https://goo.gl/A1e9qF> [Consulta: 8 de Febrero 2017].
- García V., y Roldan E. (2005). *Ensayo de actividad de la enzima papaína inmovilizada y su aplicación en aguas residuales de la industria alimenticia.* [En Línea]. Trabajo de Grado. Universidad de El Salvador, El Salvador. Disponible en: <https://goo.gl/jpx3SL> [Consulta: 15 de Febrero 2017].
- Gutiérrez, G., y Velásquez, V. (2009). *Determinación del efecto de la maduración de la lechosa (Carica papaya L.) sobre la concentración de la papaína.* [En línea]. Trabajo de Grado. Universidad Rafael Urdaneta, Venezuela. Disponible: <http://200.35.84.131/portal/bases/marc/texto/2101-09-02932.pdf> [Consulta: 8 de Febrero 2017].
- Hernández, M., Pérez, J., Faría, J. y Boscán, L. (1992). *Variación de los valores proteicos en muestras de leche de la región zuliana (Venezuela).* *Rev. Científica FCV-LUZ* 2(1), 49-52.
- Islam, M. y Molinar, E. (2013). *Development of a meat tenderizer based on lechosa peel.* *RIDTEC* 8(9), 24-29.
- Islam, A., Al-Mamum, N., Parvin, S., Sarker, M., Zaman, M. Farhana, P., Shahriar, Z., Salah, U. (2015). *Evaluation of antibacterial activities of latex of caricaceae (Carica papaya L.).* *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 8(1), 308-311.
- Mejía R. y Vega 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.* [En línea]. Trabajo de Grado. Universidad del Salvador, El Salvador. Disponible: ri.ues.edu.sv [Consulta: 28 de Enero 2017].
- Minglian, L., Erzheng, S., Pengyong, Y., Xiangyu, G., Ming, S., Diansheng, X. y Dongzhi, W. (2010). *Purification and in situ immobilization of papain with two-phase system.* *PlosOne* 5(12), 1-10. [En línea]. Disponible: www.plosone.org [Consulta: 4 de Abril 2017].



- Mundo, J. y Serrano D. (2012). *Extracción de La Enzima Papaína del Látex de Carica papaya (Papayo) Cultivado en el País y su Aplicación en Cicatrices Tipo Queloides y Verrugas*. [En línea]. Trabajo de Grado. Universidad de El Salvador, El Salvador. Disponible: <https://goo.gl/2RKJyR> [Consulta: 6 de Marzo 2017].
- Quino J., Bernal N. y Yácono J. (2008). *Diseño de un proceso experimental para la producción de papaína liofilizada*. [En línea]. Universidad de Lima, Perú. Disponible: <https://goo.gl/AGS2AW> [Consulta: 8 de Febrero 2017].
- Rojas, V. (2009). *Evaluación de métodos de extracción y purificación de enzimas pectinolíticas obtenidas por fermentación en estado semisólido del Aspergillus niger*. [En línea]. Disponible: <https://goo.gl/d8Wkob> [Consulta: 15 de Febrero 2018].
- Sarote, N., Rajni, H. y Pawinee, K. (2006). *Purification of papain from Carica papaya latex: aqueous two-phase extraction versus two-step salt precipitation*. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(5), 1103-1107.
- Soares, A., Guitton, B., Futuro, D. y Secoli, S. (2015). *Efectividad del gel de papaína en el tratamiento clínico de úlceras venosas: ensayo clínico aleatorio*. [En línea]. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. Disponible en: www.eerp.usp.br/rlae [Consulta: 18 de Abril 2017].
- Toledo, S., Bispo, M., Ruela, R., Kimura, A., De Lima R. y Fernandes, L. (2008). *Estudo da atividade proteolítica de enzimas presentes em frutos*. *Quimica Nova Na Escola*, 28: 47-49.
- Vidal, L., Finot, V., Mora, K. y Venegas, F. (2009). *Características físico-químicas del látex del papayuelo (Vasconcellea cundinamarcensis Badillo, Caricaceae)*. *Información Tecnológica*, 20(6), 93-103.
- Yanza, E. (2010). *Utilización del látex de las hojas, tallos y fruto de la papaya (tipo hawaiana) como coagulante natural en la elaboración de queso fresco*. [En línea]. Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador. [Documento en línea]. Disponible: <https://goo.gl/rX7QQZ> [Consulta: 15 de Febrero 2018].