

UNIVERSIDAD NACIONAL TECNOLÓGICA DE LIMA SUR

FACULTAD DE INGENIERÍA Y GESTIÓN
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



**“EFECTIVIDAD DE LA ENZIMA BROMELINA DE *Ananas comosus*
COMO COAGULANTE NATURAL EN EL TRATAMIENTO DE LAS
AGUAS RESIDUALES PROVENIENTES DEL FRIGORIFICO CAMAL
SAN PEDRO EN LURÍN”**

TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL

Para optar el Título Profesional de

INGENIERO AMBIENTAL

PRESENTADO POR EL BACHILLER

TUCTO ESPINOZA, JOSÉ ANTONIO

Villa El Salvador

2019

DEDICATORIA

El presente trabajo se lo dedico a Dios, quien es el que me guía en este regalo que se llama vida; y a mi familia, quienes me enseñan a apreciar este hermoso regalo.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre que me inculcó los valores que ahora porto y soy responsable, sin ella no hubiera llegado donde me encuentro ahora, mis logros son sus logros también.

A mi tía Guisella que siempre me ha apoyado y supo forjarme con sabiduría para afrontar los obstáculos de la vida.

A mi asesor, el Doctor Joaquín Vertiz, quien supo guiarme en el desarrollo de este trabajo de investigación, que Dios lo bendiga a él y a su familia.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I.....	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.1. Descripción de la Realidad Problemática	2
1.2. Justificación del Problema.....	3
1.3. Delimitación del Proyecto	3
1.3.1. Teórica.....	3
1.3.2. Temporal	3
1.3.3. Espacial	3
1.4. Formulación del Problema.....	3
1.4.1. Problema General.....	3
1.4.2. Problemas Específicos	4
1.5. Objetivos	4
1.5.1. Objetivo General.....	4
1.5.2. Objetivo Específicos	4
CAPITULO II.....	5
MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes.....	5
2.2. Bases Teóricas.....	6
2.2.1. Ananas comosus	6
2.2.2. COAGULACION	8
2.2.3. Aguas Residual de Camal	12
2.3. Definición de Términos Básicos	13
CAPITULO III.....	14
DESARROLLO DEL TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL	14
3.1. Modelo de Solución Propuesto.....	14
3.1.1. Tipo de Investigación.....	14
3.1.2. Diseño de Investigación.....	14
3.1.3. Metodología o Técnica para la Obtención de Datos	14
3.2. Resultados.....	19

3.2.1. Determinación de la efectividad de la enzima bromelina como coagulante natural en el tratamiento de las aguas residuales provenientes del frigorífico camal San Pedro del distrito de Lurín.....	19
3.2.2. pH.....	20
3.2.3. Olor.....	21
CONCLUSIONES	23
RECOMENDACIONES	24
BIBLIOGRAFIA	25
ANEXOS	26

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de la bromelina del fruto.	7
Tabla 2. Tipo y características de coloides	10
Tabla 3. Coagulantes Inorgánicos y Orgánicos	11
Tabla 4. Concentraciones de bromelina en cisteína	16
Tabla 5. Preparados de concentraciones de bromelina en cisteína para un volumen final de 5ml	17
Tabla 6. Descriptivos estadísticos de los valores de los tratamientos evaluados a diferentes dosis	20
Tabla 7. pH de muestras a diferentes dosis y concentraciones	21
Tabla 8. pH de muestra control y estándar	21
Tabla 9. Distancia de percepción de olor de muestras a diferentes dosis y concentraciones	22
Tabla 10. Distancia de percepción de olor de muestra control y muestra estándar ...	22

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Coagulación.....	9
Figura 2. Diagrama del diseño experimental	14
Figura 3. Muestra estándar con sulfato de aluminio y muestra control con presencia única de sanguaza.	18
Figura 4. Muestra en espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 Nm.	18
Figura 5. Determinación del olor mediante el cálculo de distancia en centímetros.	19
Figura 6. Banda de pH.....	19

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo se refiere al tema de la determinación de la efectividad de la enzima bromelina como coagulante natural en el tratamiento de aguas residuales de camales. La enzima bromelina es una proteasa que se encuentra en la cascara, pulpa, hojas y corazón de la piña, *Ananas comosus*, y que actualmente tiene muchos usos en diversas industrias, como la farmacéutica y la alimentaria. Se sabe también que la bromelina es usada como coagulante en la producción de queso, y que tiene mayor eficiencia enzimática cuando se extrae de la pulpa y corazón de la piña. Por otro lado, las aguas residuales provenientes de mataderos o camales contienen alta carga orgánica, sangre y heces de animales, lo cual se vierten al alcantarillado y finalmente son vertidas en ríos y mares. Estas aguas residuales al ser ricas en alta carga orgánica promueve la proliferación de organismos que contaminan el agua y a todo organismo que se abastezca de ella.

Por tal motivo, la presente investigación se realiza por el interés de tratar estas aguas usando una enzima natural en lugar de coagulantes químicos, y determinar su efectividad como coagulante y floculante. Para esto se realizó una serie de procesos que incluyen la extracción de bromelina del corazón de la piña Golden en estado maduro, pruebas de ensayo y error en sustrato a diferentes concentraciones de bromelina y cisteína, y aplicada a diferentes dosis como coagulante en la muestra de sanguaza o agua residual proveniente del camal San Pedro. Se obtuvieron resultados que demostraron la efectividad de la bromelina como coagulante natural con respecto a turbidez mediante adsorbancia, pero no fue más efectiva que el sulfato de aluminio que es un coagulante convencional. Sin embargo, se observó también que la bromelina tiene propiedades que sobresalen en comparación con el sulfato de aluminio significativamente, como originar una muestra más cercana a la neutralidad, con respecto a pH, y con menos percepción de mal olor y/o resultando una muestra cercana a lo inodoro.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la Realidad Problemática

En el proceso de beneficio de animales se requiere una gran cantidad de agua al igual que para mantener buenas condiciones higiénicas del lugar. Para las aves, se estima entre 5 y 10 litros de agua por animal. Para vacuno unos 500-1000 litros por pieza y en el caso del porcino unos 250-550 litros por pieza. El consumo de agua se reparte en las siguientes actividades:

- Estabulación: orine y estiércol de reses que se produce por el limpiado de piezas o en pleno beneficio.
- Desangrado: vertidos de sangre con elevada carga orgánica y nitrogenada. La sangre aporta una DQO total de 375.000 mg/L y una elevada cantidad de nitrógeno, con una relación carbono/nitrógeno del orden de 3:4. Se estima que entre un 15% – 20% de la sangre va a parar a los vertidos finales representando una carga de 1 a 2 kg de DBO5 por cada 1.000 kg de peso vivo y este valor aumentaría hasta 5,8 kg de DBO5/t peso vivo si el vertido de la sangre es total.
- Escaldado: este proceso incluye el lavado de res y el despellejado o pelado, por lo cual estas aguas contendrán gran cantidad de pelo y alta carga orgánica por el sangrado superficial de la res.
- Lavado de canales: residuos con elevada carga orgánica y productos desinfectantes, siendo alto el volumen de vertido.

Para mejorar el proceso de tratamiento del agua y obtener los resultados deseados, muchas veces el proceso de tratamiento es realizado sin tener en cuenta los conceptos de Coagulación y Floculación, tales como: Dosis, adición del coagulante, puntos de aplicación, intensidad de mezcla, etc. Lo que sin duda trae como consecuencias: calidad del agua no deseada; costos de tratamiento variables; pérdida de la eficiencia de las unidades, entre otros. Por eso se desarrolla la aplicación de un coagulante natural donde se busca que sea igual o más eficiente que un coagulante químico usado en el tratamiento de aguas residuales en mataderos. (Enero 22, 2014. Origen

y Composición de Aguas Residuales en Mataderos. Recuperado de: www.aguasresiduales.es)

1.2. Justificación del Problema

El presente estudio realizó pruebas en la sustitución de coagulantes químicos por un coagulante natural, en este caso la bromelina por el sulfato de aluminio, determinando su efectividad en el proceso de coagulación en el tratamiento de aguas residuales provenientes del frigorífico camal San Pedro del distrito de Lurín.

1.3. Delimitación del Proyecto

1.3.1. Teórica

El proyecto de Suficiencia Profesional se circunscribió a la explicación de la actividad de la bromelina nativa, sin purificación bioquímica teniendo solamente un pretratamiento activador holoenzimático con Cisteína, en medio alcalino.

1.3.2. Temporal

El presente trabajo se realizó en 08 semanas según el cronograma establecido por la autoridad competente.

1.3.3. Espacial

La parte experimental del presente trabajo se realizó en los laboratorios pertenecientes a la carrera de ingeniería ambiental de la Universidad Nacional Tecnológica de Lima Sur.

1.4. Formulación del Problema

1.4.1. Problema General

¿Cuál es la efectividad de la enzima bromelina como coagulante natural en el tratamiento de las aguas residuales provenientes del frigorífico camal San Pedro del distrito de Lurín?

1.4.2. Problemas Específicos

¿Cuál es la dosis con mayor efectividad de la enzima bromelina como coagulante natural en el tratamiento de las aguas residuales provenientes del frigorífico camal San Pedro del distrito de Lurín?

¿Cuál es la efectividad de la enzima bromelina en la disminución de las características fisicoquímicas de las aguas residuales provenientes del frigorífico camal San Pedro del distrito de Lurín?

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Determinar la efectividad de la enzima bromelina como coagulante natural en el tratamiento de las aguas residuales provenientes del frigorífico camal San Pedro del distrito de Lurín.

1.5.2. Objetivo Específicos

Determinar la dosis con mayor efectividad de la enzima bromelina como coagulante natural en el tratamiento de las aguas residuales provenientes del frigorífico camal San Pedro del distrito de Lurín.

Determinar la efectividad de la enzima bromelina en la disminución de las características fisicoquímicas de las aguas residuales provenientes del frigorífico camal San Pedro del distrito de Lurín.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Dalgo (2012) en el proyecto de investigación se realizó la extracción y concentración de la BROMELINA de la piña y la determinación de su actividad enzimática en sustratos proteínicos. Se utilizó como materia prima piñas de la variedad milagreña, en estado de maduración verde, porque se conoce que en ese estadio las enzimas tienen mayor actividad sobre el sustrato. El jugo de piña fue extraído de la pulpa, y fue sometido a un proceso de precipitación de proteínas mediante precipitación alcohólica y salina, utilizando etanol al 96% y NaCl al 10% respectivamente. Posteriormente se realizó el proceso de concentrado de las muestras extracto-etanol y extracto-NaCl mediante el método de secado en estufa. Para determinar la actividad enzimática del concentrado de bromelina sobre el sustrato, se basó en el método de coagulación de la leche propuesto por Balls y Hoover. Se quiso utilizar otro sustrato para comprobar la acción del concentrado de bromelina, y se utilizó jugo de carne, su obtención se realizó mediante un método propuesto por la investigadora. De la misma manera que para el sustrato leche. Se realizó entonces una adaptación del método de coagulación de la leche al jugo de carne, en donde también se observó que su viscosidad va aumentando conforme aumenta el tiempo de acción del concentrado de bromelina, demostrando que se da la hidrólisis de enlaces peptídicos de sus proteínas como son caseína y actina respectivamente. Los resultados indicaron que el etanol permite una mayor precipitación de proteínas, por lo tanto su concentrado presenta mayor bromelina, acoplándose así de mejor manera a los sustratos, y en especial al jugo de carne.

Vergara-Alvarez, Arteaga-Márquez y Hernández –Ramos (2018) en esta investigación se evaluó la vida útil de un queso fresco usando la enzima bromelina seca como agente coagulante, aplicando tres concentraciones (5%, 10% y 15% p/p) en leche cruda o pasteurizada. Los resultados

mostraron que al 5% p/p de extracto seco de bromelina se obtuvo quesos de mayor aceptación sensorial, por lo que se determinó que el uso del extracto seco de bromelina como coagulante vegetal muestra un gran potencial como sustituto del cuajo tradicional.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Ananas comosus

2.2.1.1. Taxonomía

Se comprende en el reino plantae, división magnoliophyta, clase liopsida, subclase zingiberidae, orden bromeliales, familia bromeliaceae, género ananas, especie Ananas comosus y normalmente conocido como piña. Ananás Comosus es una planta con gran relevancia en el mercado, siendo de la familia Bromeliaceae, que se divide en tres subfamilias: Pitcarnioideae, Tillandsioideae y Bromelioideae. La familia Bromeliaceae contiene por lo menos 2.794 especies y 56 géneros que con el paso del tiempo se han adaptado a muchas habitas, estas comprenden desde aquellas llamadas epífitas que crecen en la tierra con sombra aunque haya sol, hasta los trópicos húmedos calientes a fríos y secos subtropicales. Pueden crecer en zonas donde necesiten humedecerse demasiado porque las condiciones son muy secas y en zonas altinas. Sus principales características son de poseer un tallo corto, hojas estrechas rígidos dispuestos en una agrupación circular, inflorescencias terminales (o racimos panículas), hermafroditas y flores actinomorfas trímeras. Los frutos son cápsulas o bayas que contienen pequeñas desnudas, con alas o semillas plumosas, con un endospermo reducido y un pequeño embrión. La subfamilia Bromelioideae, es la más diversa, con el mayor número de géneros, pero el menor número de especies. La mayoría de los miembros son epífitas que se caracterizan por una roseta al igual que la

forma, con hojas espinosas y frutos de baya que contiene las semillas húmedas. (Vargas, 2018).

2.2.1.2. Bromelina

Se podría decir que la bromelina no es tan solo una enzima, sino un grupo de enzimas digestivas de proteína como se muestra en la Tabla 1, estas reciben el nombre de enzimas proteolíticas. Esta enzima pertenece a la familia de las bromiláceas y es encontrada en el jugo extraído de la cascara, hojas, tallo, corazón y pulpa.

Tabla 1. Composición química de la bromelina del fruto.

AMINOACIDO	FRUTA VERDE	FRUTA MADURA
Ác. Aspartico	29.8	29.8
Ác. Glutamico	23.2	23.4
Glicina	32.6	32.2
Alanina	23.8	24.4
Valina	19.8	20.1
Leucina	10	10
Isoleucina	16.4	16.2
Serina	32.2	32
Treonina	13.5	13.8
Cisteína	10	10
Metionina	6	5.8
Prolina	11.6	12
Fenilalanina	7.6	8
Tirosina	22.4	22.2
Triptofano	5.6	-
Histidina	1.4	1.3
Lisina	7.8	8.3
Arginina	8.6	9.1
Amonio amida	43	43.4
Glucosamina	0.2	0.2
Carbohidratos	3.2	3.3

2.2.1.3. Características

Una de sus características es cuando se presenta en polvo amorfo, de color amarillento o blanco parcialmente soluble en agua e insoluble en alcohol. Su temperatura óptica es de 37°C. Cuando es mezclada en agua tiende a originar una solución coloidal, mediante la cual se activa. En comparación con catalizadores químicos, la bromelina tiene una actividad catalítica mayor. Tiene la propiedad de coagular la leche y de desdoblamiento de proteínas con una acción semejante a la de papaína. Es una enzima proteolítica porque cataliza la hidrólisis en los enlaces peptídicos en una molécula proteica. Para inhibir su actividad enzimática se usan agentes oxidantes como el oxígeno o agua oxigenada, el ferrocianuro, entre otros. Y para reactivarla se usan agentes reductores como los sulfuros, cianamidas, entre otros. (Abanto-Díaz y Rebaza Latoche. 2011).

De hecho, la pérdida de actividad enzimática puede ser recuperada por concentraciones crecientes de cisteína ya que el agente nucleófilo de la bromelina es el átomo de azufre de la cisteína, que formaría un intermediario covalente durante la reacción. (Lopez, Díaz y Merido. 1996).

2.2.2. COAGULACION

Es el desestabilizamiento químico de partículas coloidales cuando las fuerzas que los mantienen alejados son neutralizadas al momento de mezclarlos con aditivos o coagulantes químicos. La coagulación puede ser un tratamiento muy efectivo solo cuando se realiza de forma correcta, ya que por lo contrario, sería un tratamiento costoso. Indiscriminadamente, es el método universal porque elimina una gran cantidad de sustancias de diversas naturalezas y de peso de materia a un costo más bajo en

comparación con otros métodos. Como se había mencionado, este método debe ser aplicado correctamente, ya que podría disminuir la calidad del agua y representar gastos de operación innecesarias. Debido a esto se tiene en consideración la dosis del coagulante, que es la que condiciona el funcionamiento de las unidades de decantación y que es imposible de realizar una clarificación, si la cantidad usada de coagulante es incorrecta. En la siguiente figura se muestra como las sustancias químicas suprimen las cargas eléctricas sobre la superficie del coloide, permitiendo que las partículas coloidales se aglomeren formando flóculos. (Andia, 2000)

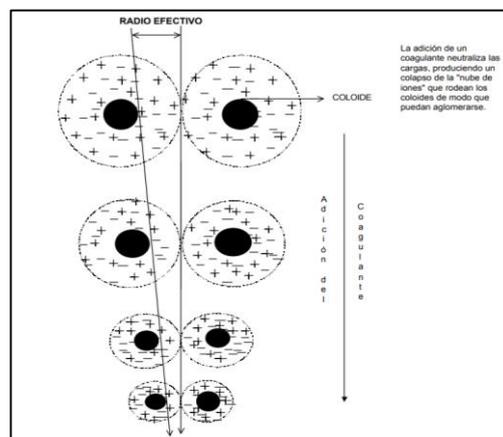


Figura 1. Coagulación

2.2.2.1. Desestabilización de Coloides

Existen muchos coagulantes químicos que tienen la propiedad de desestabilizar coloides mediante distintas técnicas. Sin embargo, según las condiciones de uso, algunos químicos pueden ser aplicados directamente como coagulantes o de ayuda para la coagulación, y algunos coagulantes pueden lograr la desestabilización por más de un solo camino.

Existen cuatro mecanismos diferentes de desestabilización (Aguilar, Saez, Llorens, Soler y Ortuño. 2002. p36).

- Comprensión de la capa difusiva.
- Absorción para producir la neutralización de la carga.
- Inmersión dentro de un precipitado.

- Adsorción que permita un enlace tipo puente entre partículas.

2.2.2.2. Clasificación de Coloides

- **Coloides Reversibles:** son los coloides que son estables termodinámicamente. Por ejemplo las micelas de jabón y detergente, proteínas y almidones.
- **Coloides Irreversibles:** son los coloides que son inestables termodinámicamente. Algunos ejemplos son las arcillas y óxidos metálicos.

2.2.2.3. Tipo y Características de los Coloides

Tabla 2. Tipo y características de coloides

Características	Hidrofobico	Hidrofilico
Tensión Superficial	Parecido al medio.	Menor que el medio.
Viscosidad	Es muy parecido a la de la fase dispersante sola.	Mayor que la de la fase dispersante sola.
Reacción a los electrolitos	Adición de pequeñas cantidades de electrolito pueden generar la agregación.	Se requiere mayor cantidad de electrolito para producir la agregación.
Aplicación de un campo eléctrico	Las partículas migran en una dirección bajo la acción de un campo eléctrico.	Puede migrar en ambas direcciones o no bajo la acción de un campo eléctrico.
Ejemplos	Óxidos metálicos, sulfuros, plata, metales.	Proteínas, almidones, gomas, virus, bacterias.

2.2.2.4. Adsorción y Enlace de Puente Interpartícula

Este modelo compone el cimiento de la actuación de los polímeros orgánicos sintéticos como agentes desestabilizantes para el tratamiento del agua residual. Se ha observado que el tratamiento más económico es aquel que usa un polímero aniónico, a pesar que las partículas sólidas del agua estén cargadas negativamente. Estas observaciones no se pueden explicar por un modelo electrostático simple. Para una efectiva desestabilización, la molécula de polímero debe contener grupos químicos que puedan interaccionar con los lugares de la superficie de la partícula coloidal. Cuando una molécula polimérica se pone en contacto con una partícula coloidal, algunos de estos grupos se adsorben en la superficie de la partícula dejando el resto de la molécula prolongada hasta la disolución. (Aguilar, Saez, Llorens, Soler y Ortuño. 2002. p37).

2.2.2.5. Tipo de coagulantes Químicos

Existen dos tipos de coagulantes químicos: orgánicos e inorgánicos. En la tabla 3 se listan algunos de los coagulantes más usados en el mercado.

Tabla 3. Coagulantes Inorgánicos y Orgánicos

INORGANICOS	ORGANICOS
Sales de aluminio	Corteza de caulote
Sales de Hierro	Floculante natural súper blue
Cal	Floculante con café
Sulfato de zinc	Almidón
Ácido clorhídrico	Moringa

Extraído de Aguilar, Saez, Llorens, Soler y Ortuño. 2002. P45-

47.

2.2.3. Aguas Residual de Camal

Son aguas residuales que contienen alta carga orgánica, grasas y de otros contaminantes. Estas son un foco de infección para el recurso hídrico, ya que puede contaminar severamente el agua y originando la proliferación de microorganismos patógenos y otros vectores (Lopez, 2015).

a) Olor

Los olores que se producen en las aguas residuales se deben a los gases producto de la biotransformación de materia orgánica, ya que al haber mucha carga orgánica y poco oxígeno, los organismos anaeróbicos pueden proliferar (Lopez, 2015).

b) pH

Mide la concentración de iones de hidrogeno presentes en el agua, tiene un rango de 0 a 14, donde 0 es el valor más ácido, 14 el valor más alcalino y 7 el valor neutro. El pH es un factor importante en la proliferación de microorganismos, por eso el agua con una concentración desfavorable de iones podría ser difícil de tratar por medios terciarios o biológicos, por ende, se recomienda tratarlos antes de ser expulsados por las empresas industriales (Lopez, 2015).

c) Turbidez

La turbidez funciona como un medidor de calidad de agua con respecto al material coloidal suspendido en las aguas residuales, debido a que mide el nivel de transmitancia de luz en el agua. Generalmente no existe relación directa entre la concentración de solidos suspendidos y la turbidez, ya que esto va a depender de factores como la fuente de luz y de la adsorción de luz del material suspendido (Trujillo, 2014).

2.3. Definición de Términos Básicos

- **Estabilidad Coloidal:** tendencia de las partículas coloidales a mantenerse en suspensión.
- **Sanguaza:** Líquido putrefacto, mayormente de sangre, proveniente de cámaras frigoríficas arrojadas al desagüe.
- **Flóculo:** coágulo de materia orgánica resultado de la agregación de sólidos en suspensión.
- **Sulfato de aluminio:** sal que permite clarificar el agua potable ya que es un coagulante químico de gran eficacia y uso.
- **Cisteína:** aminoácido no esencial componente de proteínas que puede ser sintetizado.
- **Muestra estándar:** muestra al cual se le añade un coagulante comercial.
- **Muestra control:** agua residual o sanguaza sin aditivos o coagulantes añadidos.
- **Proteasa:** enzima que rompe los enlaces de las proteínas.
- **Camal o matadero:** instalación industrial donde se sacrifican animales para su post comercialización.
- **Absorbancia:** transmitancia óptica de una longitud de onda que logra atravesar una muestra.

CAPITULO III

DESARROLLO DEL TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL

3.1. Modelo de Solución Propuesto

3.1.1. Tipo de Investigación

Investigación exploratoria y aplicada.

3.1.2. Diseño de Investigación

El siguiente estudio está basado en las pruebas de tipo ensayo y error. Se aplicará la bromelina en muestras de agua residuales proveniente del camal San Pedro y se determinará la efectividad de coagulación y sedimentación, comparándolo con una muestra estándar y una muestra control como se puede apreciar en la figura 2. La muestra estándar será el agua residual dosificada con coagulantes químicos de mayor comercialización en el mercado y la muestra control será el agua residual sin añadir ninguna sustancia.

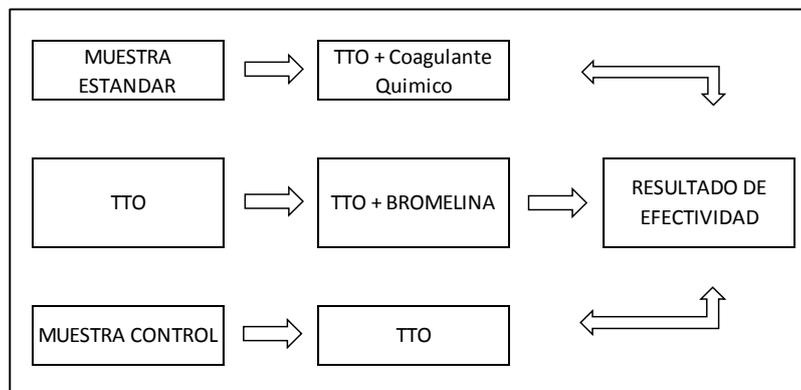


Figura 2. Diagrama del diseño experimental

3.1.3. Metodología o Técnica para la Obtención de Datos

3.1.3.1. Obtención del agua residual del frigorífico Camal San Pedro de Lurín

Se obtuvo una muestra solo de la etapa de sangrado, por lo cual la muestra contenía una gran cantidad de sangre con

agua de fregadero que se usaba para lavar los reses, esta fue obtenida de una canaleta que la conducía desde el lugar de sacrificio hasta antes que desemboque al desagüe.

3.1.3.2. Extracción de la bromelina

De acuerdo con Dalgo (2012) la extracción de la enzima bromelina se realiza de la siguiente manera: Se empieza con la selección de la materia prima (Ananas comosus) para seguidamente lavarla con agua potable y librarla de impurezas. La piña seleccionada fue la piña golden en estado maduro. En seguida se desinfecta con alcohol y se enjuaga con agua destilada. Luego el corazón de la piña para licuarlas por separado y obtener su jugo. Filtrar el jugo usando un colador.

Con una probeta medir la cantidad de jugo obtenida y separarla en una sola muestra. A la muestra se le añade etanol al 96%, la cantidad que se usa de este reactivo es 1.5 veces más que la cantidad de la muestra. Luego se almacena en frascos la muestra estrato-etanol en el congelador a -10°C por 7 días. Pasado los 7 días se centrifugan la muestra en tubos Falcón de 15ml a 4500rpm por 20 minutos. De la obtención, se elimina el sobrenadante y lo precipitados de ambas muestras se transfieren a vasos de precipitación.

Para la obtención del concentrado de bromelina en la muestra, primero se debe pesar una capsula de porcelana y luego adicionar de 5 a 6 gramos de muestra. Registrar el peso. Después se ponen a secar las muestras en la estufa a 40°C durante 48 horas. Sacar las muestras y enfriarlas en un desecador durante 10 minutos. Finalmente pesar las muestras secas y los concentrados proteínicos de bromelina obtenidos se mantienen en refrigeración a 5°C .

3.1.3.3. Activación de la Enzima Bromelina

En la activación de la enzima bromelina para el post tratamiento de nuestra muestra de aguas residuales se siguió la metodología usada por Gallardo, Sánchez, Montalvo, y Alonso (2008) con ciertas modificaciones, donde se usa la cisteína como agente activador enzimático. Para esto se debe tener una mezcla de reacción que debe contener 200uL de cisteína 50mM-20mM EDTA pH 8; 700 uL de solución tampón Tris-HCl 50 mM pH 8; 20 mg de concentrado de proteínas precipitadas.

3.1.3.4. Concentraciones Bromelina – Cisteína

Se probaron 3 concentraciones de bromelina en cisteína, una estándar, una alta y una de baja concentración, teniendo en cuenta las proporciones que indica Gallardo, Sánchez, Montalvo, y Alonso (2008). Estas concentraciones se variaron como se puede observar en la tabla 4 para luego tener un volumen final de 5ml de coagulante.

Tabla 4. Concentraciones de bromelina en cisteína

Concentraciones Bromelina - Cisteína		
Estándar	Alta	Baja
$\frac{0.02 \text{ g}}{0.9 \text{ ml}} \times 100$	$\frac{0.1 \text{ g}}{0.9 \text{ ml}} \times 100$	$\frac{0.01 \text{ g}}{0.99 \text{ ml}} \times 100$
2.22 %	11.0 %	1.01 %

Estas soluciones finales de 5 ml se prepararon como indica la tabla 5 a continuación:

Tabla 5. Preparados de concentraciones de bromelina en cisteína para un volumen final de 5ml

Preparados de Bromelina como Coagulante		
Estándar (5 ml)	Alta (5 ml)	Baja (5ml)
0.1 g Bromelina	0.5 g Bromelina	0.05 g Bromelina
4.9 ml Cisteína	4.5 ml Cisteína	4.95 ml Cisteína

Para activar la actividad catalítica de la bromelina en cisteína se tuvo que colocar en estufa a 37°C durante 5 minutos de acuerdo con Dalgo (2012).

3.1.3.5. Dosificación

Se propuso las siguientes proporciones de dosis para cada concentración de Bromelina – Cisteína en tubos de ensayo:

1.0 ml (Coag) + 4.0 ml (Sanguaza)

1.5 ml (Coag) + 3.5 ml (Sanguaza)

2.5 ml (Coag) + 2.5 ml (Sanguaza)

Para activar la reacción enzimática de bromelina (Dalgo, 2012) como coagulante en la sanguaza, se tuvo que colocar en estufa a 37°C durante 10 minutos. Finalmente estos concentrados se colocaron en tubos falcón de 15 ml y fueron llevados a la centrifuga a 6000 rev/min durante 20 minutos.

3.1.3.6. Muestra estándar y muestra control

En la muestra estándar se utilizó el sulfato de aluminio, que es un coagulante comercial muy usado en la actualidad. La dosis que se aplicó fue de 1.0 g de sulfato de aluminio por 4.0 ml de sanguaza. La muestra control fue la sanguaza sin añadir ningún reactivo.

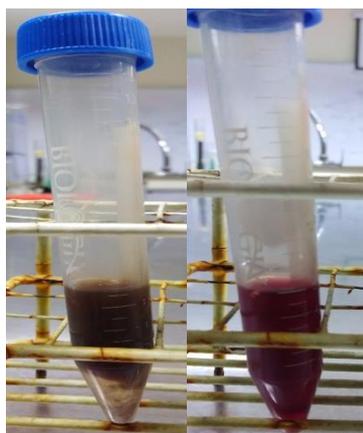


Figura 3. Muestra estándar con sulfato de aluminio y muestra control con presencia única de sanguaza.

3.1.3.7. Determinación de la turbidez

Se realizó en el espectrofotómetro del laboratorio de química mediante absorbancia, con una longitud de onda de 540 nm para cada muestra de diferente dosis y de diferente concentración de bromelina/cisteína.



Figura 4. Muestra en espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 Nm.

3.1.3.8. Determinación del olor

Se colocaron los sobrenadantes en placas Petri y mediante un hilo desde la base de la placa Petri hasta la entrada de las fosas nasales, se midió la distancia en la que se percibía el olor de cada muestra.

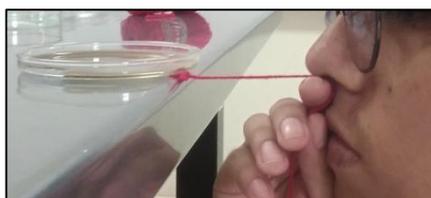


Figura 5. Determinación del olor mediante el cálculo de distancia en centímetros.

3.1.3.9. Determinación de pH

Se usaron bandas de pH de escala de 0.0 a 14.0 de la marca MN, colocándolas dentro de los tubos falcón de cada muestra, incluidas la muestra estándar y la muestra control.



Figura 6. Banda de pH

3.2. Resultados

3.2.1. Determinación de la efectividad de la enzima bromelina como coagulante natural en el tratamiento de las aguas residuales provenientes del frigorífico camal San Pedro del distrito de Lurín.

En primer lugar, debe señalarse que se hizo las comparaciones entre todos los tratamientos evaluados: Sanguaza (Testigo o control); Dosis de Bromelina (Alta, Media y Baja) a diferentes dosis y el sulfato de aluminio como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Descriptivos estadísticos de los valores de los tratamientos evaluados a diferentes dosis

Tratamientos	N	20%	30%	50%	Valor Único
Sanguaza	3	-	-	-	4.097
Bajo (0.05g Bromelina/4.95ml Cisteina)	3	2.097	2.984	1.640	-
Standard (0.1g Bromelina/4.9ml Cisteina)	3	3.214	2.097	0.997	-
Alto (0.5g Bromelina/4.5ml Cisteina)	3	3.214	3.010	2.935	-
Comercial (Sulfato de aluminio)	3	-	-	-	0.0760

Se observó que el mayor valor lo tuvo Sanguaza (Abs = 4.097) por lo que significa que es el grado de turbidez de la muestra control, seguida por el tratamiento de Bromelina a concentración estándar en dosis del 50% v/v (Abs=0.997), aquí podemos darnos cuenta que la bromelina sí tuvo efecto como coagulante natural o alternativo, ya que disminuyó significativamente el grado de turbidez de la sanguaza; finalmente el valor más bajo fue el tratamiento Comercial (Abs = 0.07600), que como coagulante comercial, tuvo más efectividad en la disminución de la turbidez de la muestra control, sanguaza.

3.2.2. pH

Como se muestra en la Tabla 7, los tratamientos con bromelina mantienen el pH de la muestra control a concentraciones básicas cercanas a la neutralidad. El valor mínimo obtenido fue de un pH=4.5, y el valor máximo obtenido fue de un pH= 6.5 que se repite dos veces, en baja concentración en dosis del 20 y 50%. Si observamos la Tabla 8 nos daremos cuenta que el pH de la sanguaza es de 7.5, una concentración casi neutra; y la concentración de la muestra estándar (sulfato de aluminio en

sanguaza) tiene un pH de 2.5, una concentración ácida desfavorable para las aguas tratadas, lo que comprueba que la obtención de un pH adecuado fue aplicando la bromelina como coagulante natural alternativo.

Tabla 7. pH de muestras a diferentes dosis y concentraciones

Dosis de Coagulante	pH		
	Concentración estándar	Baja concentración	Alta concentración
20%	6.0	6.5	5.0
30%	6.0	6.0	5.0
50%	5.5	6.5	4.5

Tabla 8. pH de muestra control y estándar

pH	
Sulfato de aluminio 20%	Sanguaza (muestra control)
2.5	7.5

3.2.3. Olor

En la Tabla 9 se puede observar que el olor que emana las muestras tratadas con bromelina es casi imperceptible, obteniendo un valor mínimo de 3.7 cm (bromelina a alta concentración en dosis del 50%), esto quiere decir que necesitamos estar a 3.7 cm cerca del agua tratada para poder percibir el olor resultante; también obtuvimos un valor máximo de 7.5 cm (bromelina a baja concentración a dosis del 20%), esto quiere decir que necesitamos estar a 7.5 cm de la muestra tratada para poder percibir el olor resultante. En la Tabla 10 observamos que el olor de la muestra estándar (sulfato de aluminio en sanguaza) puede ser percibida a 15.4 cm de distancia y que el olor de la muestra control (sanguaza) puede ser percibida a 44.1 cm de distancia; lo que comprueba que

el mayor efecto en reducción del olor fue aplicando la bromelina como coagulante natural.

Tabla 9. Distancia de percepción de olor de muestras a diferentes dosis y concentraciones

Dosis de Coagulante	Distancia de percepción de olor (cm)		
	Concentración estándar	Baja concentración	Alta concentración
20%	5.2	7.5	5.2
30%	5.0	6.5	5.0
50%	3.7	4.6	3.7

Tabla 10. Distancia de percepción de olor de muestra control y muestra estándar

Distancia de percepción de olor (cm)	
Sulfato de aluminio 20%	Sanguaza (muestra control)
15.4	44.1

CONCLUSIONES

- El uso de la bromelina como coagulante natural, sí tiene resultados significantes con respecto a su efectividad coaguladora en comparación con la muestra control, sanguaza o agua residual de camal, pero como coagulante natural, no superó en niveles de absorbancia y turbidez al sulfato de aluminio. Además, se observó que también tiene propiedad floculante.
- La dosis más efectiva de bromelina como coagulante es al 50% (v/v) a concentración estándar (0.1g Bromelina/4.9ml Cisteína).
- La bromelina, después aplicada como coagulante, mantuvo el pH de la muestra más cerca a la neutralidad en comparación con el sulfato de aluminio, que originó una muestra mucho más ácida (pH=2.5). Siendo las dosis al 20 y 50% en baja concentración de bromelina, que originaron muestras con un pH más óptimo (pH=6.5). El pH de la sanguaza fue de 7.5, esto quiere decir que la bromelina la volvió más alcalina, pero aun así no fue una variación significativa. Respecto a la percepción del olor, la bromelina originó muestras más cercano a lo inodoro, siendo la dosis al 50% (v/v) de bromelina a concentración estándar, la que tuvo mayor poder reductor de olor (3.5 cm). Por otra parte, el sulfato de aluminio no tuvo el mismo poder reductor de olor, ya que el olor se percibía a los 15.4 cm de distancia desde la placa Petri hasta la entrada de las fosas nasales., mientras que el olor de la sanguaza se percibía a los 44.1 cm.

RECOMENDACIONES

- Hacer pruebas con bromelina variando su concentración en cisteína, teniendo como referente la concentración estándar (0.1g bromelina/4.9ml cisteína).
- Hacer pruebas con bromelina variando la dosis en volumen de sustrato, teniendo como referente la dosis al 50% (v/v).
- Hacer pruebas con bromelina variando su concentración y dosis al mismo tiempo, teniendo como referente la concentración estándar (0.1g bromelina/4.9ml cisteína) y la dosis al 50% (v/v).
- Analizar otros parámetros como DBO y DQO para determinar resultados significantes de la enzima bromelina como coagulante natural alternativo.

BIBLIOGRAFIA

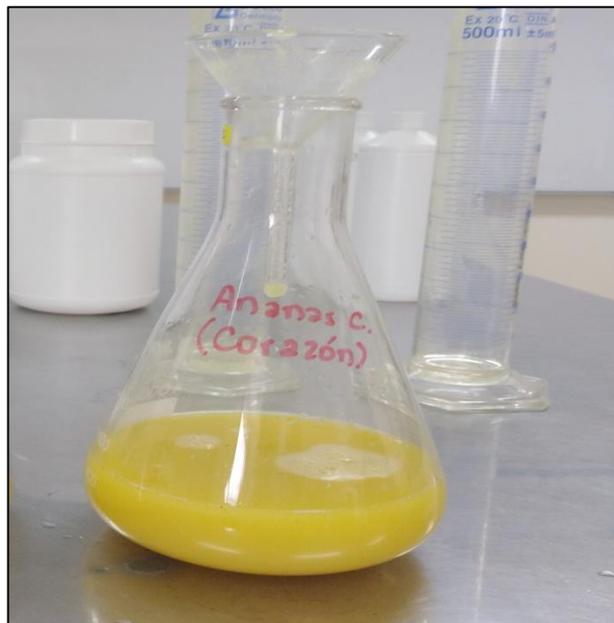
- Gallardo, L., Sanchez, A., Montalvo, C. & Alonso, Alejandro. (2008). *Extracción de bromelina a partir de residuos de piña*. Universidad Politécnica de Puebla. Ciencia y Tecnología de Alimentos. Vol. 18.
- López, I., Diaz, J., & Merino. F. (1996) La bromelina: una proteasa de interés comercial. *CYTA - Journal of Food*, 1:2, 17-22.
- Sedapal. (2000). *Tratamiento de agua: Coagulación y Floculación*. Recuperado de <http://www.sedapal.com.pe/>
- Aguilar, M. Saez., Llorens J., Soler, A, M., & Ortuño J. (2002). *Tratamiento físico químico de aguas residuales, Coagulación y Floculación*. Universidad de Murcia: Servicio de Publicaciones.
- Vergara, W., Arteaga, M., & Hernandez, E. (2018). *Sensory acceptance and shelf life of fresh cheese made with dry bromelain extract as a coagulating agent*. Universidad Nacional de Colombia.
- Trujillo, D., Duque, L., Arcila, J., Rincón, A., Pacheco, S. y Herrera, O. (2014). *Remoción de turbiedad de agua de una fuente natural mediante coagulación/floculación usando almidón de plátano*. Universidad Católica de Manizales.
- Vargas, M. *Efecto Cicatrizante de una crema de extracto hidroalcohólico de tallos de Huairuro Ormosia coccinea (Aubl.) Jacks, y de pulpa de piña Ananas comosus (L.) Merr. en ratones albinos* (tesis de pregrado). Universidad Inca Garcilazo de la Vega. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica. 2018.
- Abanto, A. & Rebaza, J. *Obtención de la enzima bromelina de los desechos industriales del procesamiento de Ananas comosus, producido en el distrito de Poroto* (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de ingeniería Química. 2011.
- Lopez, J. *Determinación de la eficiencia de la laguna de oxidación de las aguas residuales del camal municipal del Canton Lago Agrio provincia Sucumbios mediante el rediseño de la infraestructura física* (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Loja. 2015.

ANEXOS

Anexo 1. Extracción del corazón de la piña



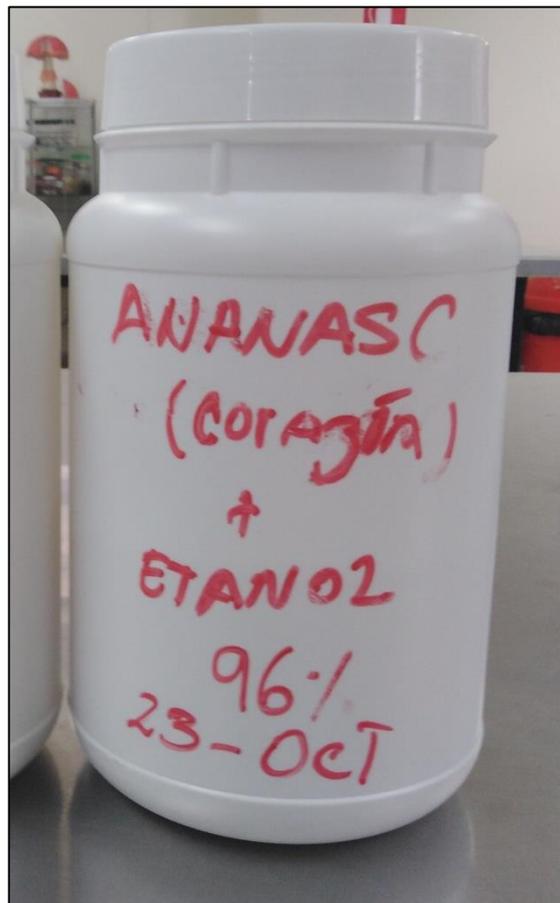
Anexo 2. Obtención del jugo del corazón de la piña



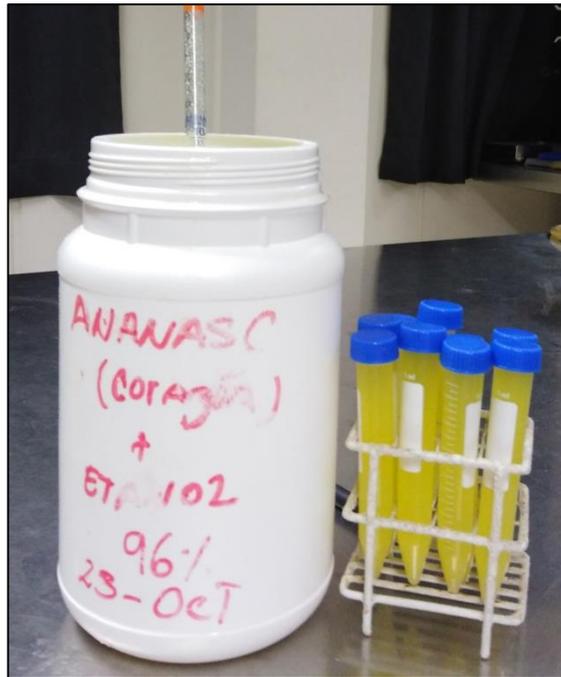
Anexo 3. Mezcla con etanol



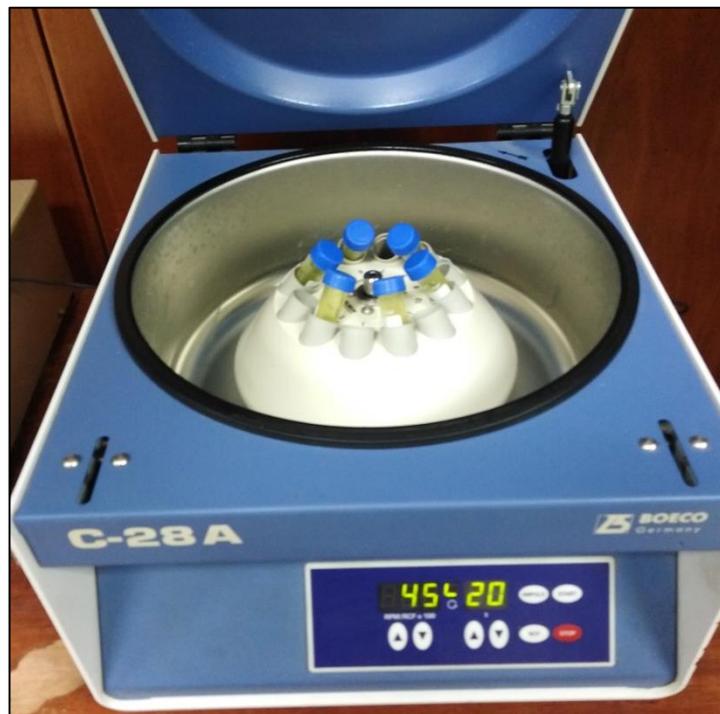
Anexo 4. Envase con mezcla del jugo de piña con etanol



Anexo 5. Mezcla del jugo de corazón de piña con etanol en tubos falcon



Anexo 6. Centrifugado de mezcla



Anexo 7. Mezcla centrifugada



Anexo 8. Precipitado de bromelina



Anexo 9. Bromelina en estufa



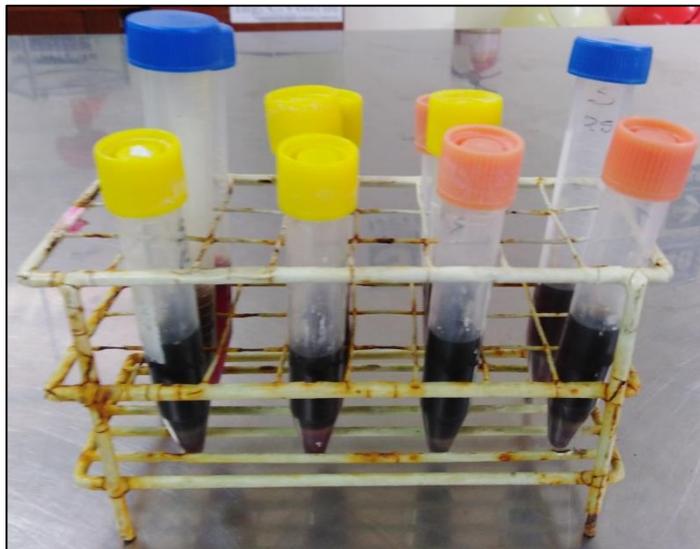
Anexo 10. Bromelina seca



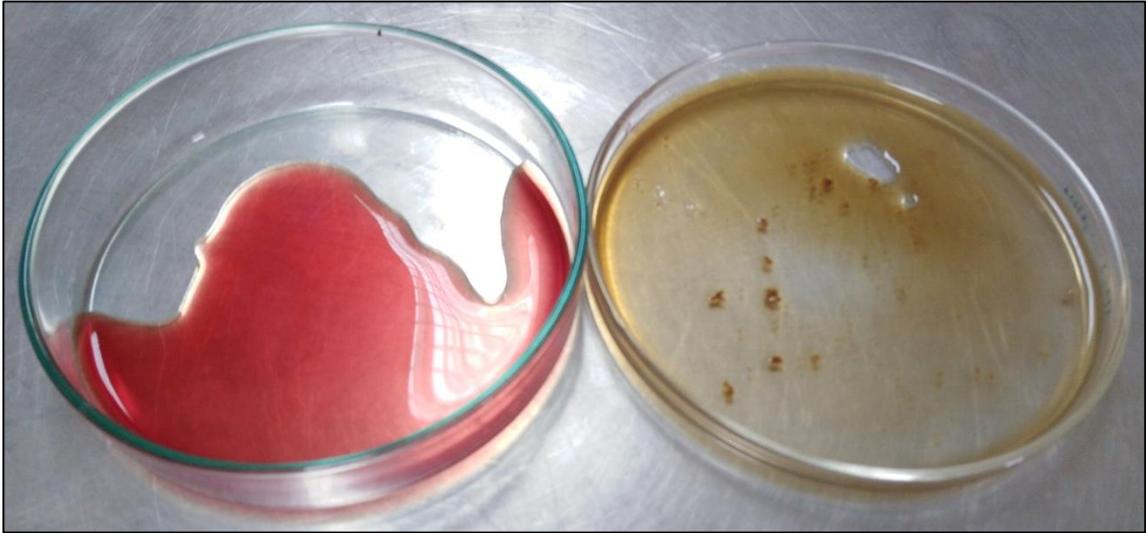
Anexo 11. Enzima bromelina seca en polvo



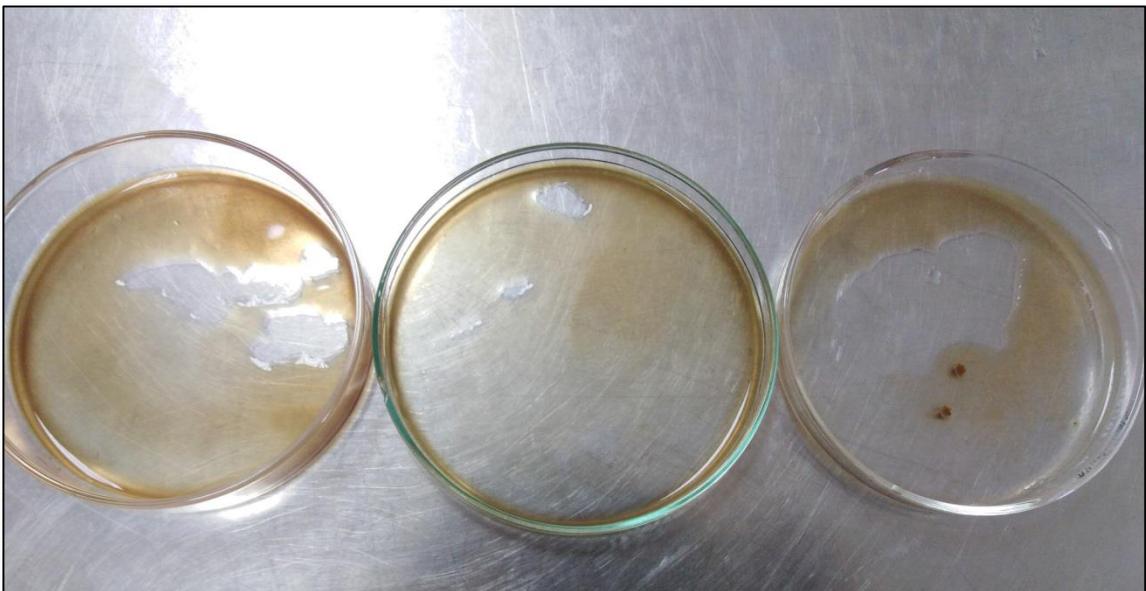
Anexo 12. Coagulante de bromelina en sanguaza



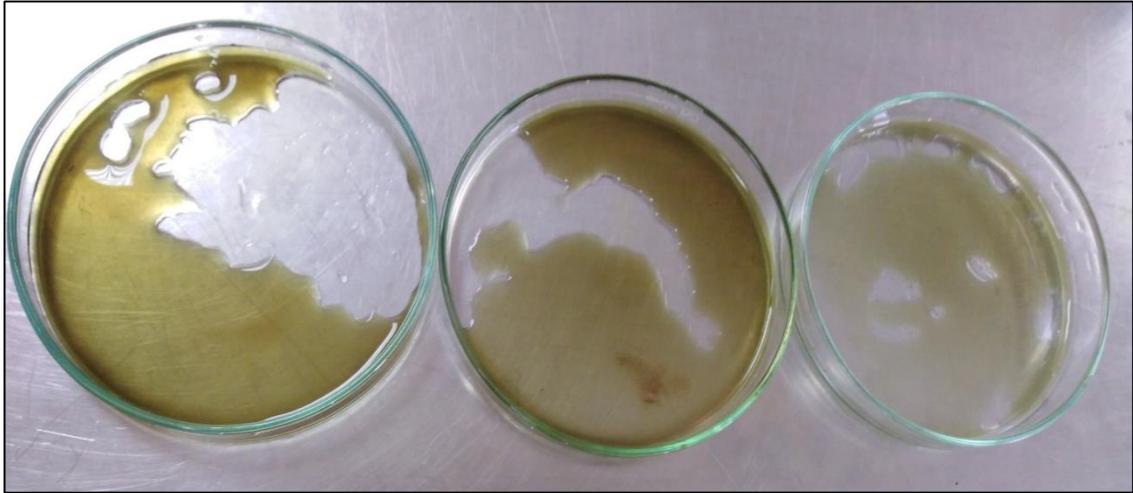
Anexo 13. Sobrenadantes de sanguaza y muestra estándar con sulfato de aluminio



Anexo 14. Sobrenadantes de muestras con dosis al 20, 30 y 50% a baja concentración



Anexo 15. Sobrenadantes de muestras con dosis al 20, 30 y 50% en concentración estándar



Anexo 16. Sobrenadantes de muestras con dosis al 20, 30 y 50% en alta concentración

