

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



**Optimización de la actividad enzimática de un producto comercial de
papaína mediante molienda mecánica para el ablandamiento del
redondo de res**

POR

ALONDRA PATRICIA GARCIA CRUZ

T E S I S

Presentada como requisito parcial para obtener el título profesional de

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre de 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos

Optimización de la actividad enzimática de un producto comercial de papaina
mediante molienda mecánica para el ablandamiento del redondo de res

TESIS


Presentada por

ALONDRA PATRICIA GARCÍA CRUZ


y que somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para
obtener el título profesional de

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

La cual fue revisada y aprobada por el Comité de asesoría:



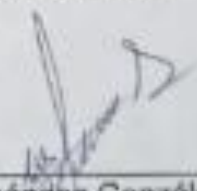
Dra. Haydee Yajaira López De la Peña
Asesor principal



Dra. Claudia M. López Badillo
Co-asesor externo

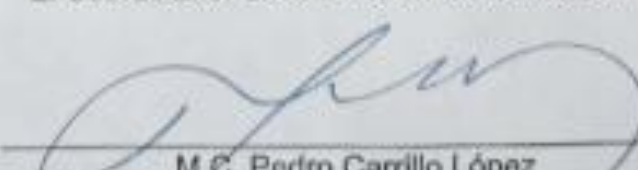


Dr. Francisco Hernández Centeno
Co-asesor



Dra. María Hernández González
Co-asesor

El Coordinador de la División de Ciencia Animal



M.C. Pedro Carrillo López

Buenvista, Saltillo, Coahuila, México
Diciembre de 2025



DEDICATORIAS

A mis padres **José Juan García García** y **Ma. Dolores Cruz Becerra** porque todo lo que soy y todo lo que logré siempre tendrá un pedacito de ustedes.

A mí madre **Ma. Dolores Cruz Becerra** por su amor incondicional, por qué aun cuando a mí se me olvidaba siempre estoy presente en sus oraciones, por enseñarme tu lema de vida "Las mujeres siempre ganan" y por qué a través de tus enseñanzas has sido inspiración para mí. Por tus palabras de aliento y sustento que me mantuvieron de pie.

A mí padre **José Juan García García** por su amor, paciencia y consejos que han dado pie para ser mejor persona, por cada sacrificio que realizaste para que mi éxito académico rindiera frutos que, aunque tú siempre me has dicho que este título no es para ti, quiero que te sientas honrado y orgulloso de lo que he logrado.

A mis hermanos **Juan Daniel, Eduardo Alonso** y **Andrea Guadalupe (Neyas)** por todo el amor que me dan y que a su manera me han apoyado para llegar hasta aquí. Quiero ser el mejor ejemplo para ustedes mis niños y gracias por enseñarme que la vida es más divertida cuando hay compañía.

A mí familia foránea **María Guadalupe y Yuritzi Alvarado Alvarado** por siempre estar en todo momento y darme ánimos para seguir adelante. Su cariño me hizo más ligero este camino.

A **Nadia Ivonne Bocanegra Otero** por permanecer conmigo a pesar del tiempo y la distancia. Por escucharme, animarme y celebrar cada uno de mis logros como si fueran tuyos.

A mí abuelita **Catalina Becerra** que, aunque ya no esté aquí, sus palabras de aliento y oraciones me las llevo para siempre en mi corazón.

A mí tía **Otilia García** y mi prima **Paulina García** porque siempre estuvieron presentes en mi vida y aplaudieron mis logros.

A **Comino** que, aunque no eres mío tu presencia hace más llevadero mis días más pesados, por cada ratito de calma y de tú compañía.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por guiarme y darme la fuerza para perseverar. Gracias por ser mi fuente de fortaleza y entendimiento.

Agradezco a la **Universidad Autónoma Antonio Narro** por ser mi segunda casa, por brindarme la educación y las oportunidades que han moldeado mi futuro. Mi tiempo aquí ha sido un viaje de crecimiento y aprendizaje que siempre recordaré.

Agradezco sinceramente al **Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos** por abrirme sus puertas desde el inicio y acompañarme hasta el final de este proceso.

A la **Dra. Haydee Yajaira López de la Peña**, por su guía, paciencia y dedicación durante todo el desarrollo de mi trabajo. Gracias por compartir su conocimiento, por orientarme con claridad y por impulsarme a mejorar en cada etapa del proyecto.

A la **Dra. María Hernández Gonzales** y al **Dr. Francisco Centeno** por su apoyo académico y humano para lograr este proyecto, valoro profundamente todo lo que aprendí de ustedes.

A la **Universidad Autónoma de Coahuila** y a la **Facultad de Ciencias Químicas**, por brindarme la oportunidad y los espacios necesarios para desarrollar mi trabajo. Agradezco a la **Dra. Claudia Magdalena López Badillo**, por su disposición, orientación y confianza.

A **Hannaely Islas Hernández, Rosa Isela Chávez Sánchez, Camila Garcia Torres, Ana Karen Vara Ramales, Edwin Ismael Hernández Sánchez y Fernando Parra Vargas** gracias por acompañarme en este camino lleno de retos, aprendizajes y momentos inolvidables. Gracias por las risas, el apoyo en las horas difíciles, las tareas compartidas y por hacer más ligera esta etapa de mi vida. Cada uno de ustedes dejó huella en mí y quiero recordarlos siempre.

A todas las personas que, de manera directa o indirecta influyeron de manera positiva y que formaron parte de este camino. Gracias por cada consejo, cada palabra de aliento y cada acción que, incluso sin saberlo, me ayudó a crecer.

CONTENIDO

DEDICATORIAS	IV
AGRADECIMIENTOS	V
CONTENIDO	VI
INDICE DE FIGURAS	VII
INDICE DE TABLAS	IX
RESÚMEN	X
1 INTRODUCCIÓN	12
2 JUSTIFICACIÓN	13
3 HIPÓTESIS	15
4 OBJETIVOS	15
5.1 Generalidades de la carne	16
5.2 Las enzimas	20
5.2.1 Clasificación de enzimas	20
5.2.1.1 Serin proteasas	20
5.2.1.2 Metaloproteasas	21
5.2.1.3 Cisteína Proteasas	21
5.2.2 Enzimas proteolíticas de origen vegetal en el ablandamiento de la carne	22
5.2.2.1 PAPAÍNA	22
5.2.2.2 OPTIMIZACIÓN DE ENZIMAS MEDIANTE PROCESOS MECÁNICOS	24
5.3 Técnicas de evaluación de la calidad y textura de la carne	25
5.3.1 Método de cocción	25
5.3.2 Perfil de textura	26
5.3.3 Índice De Fragmentacion Miofibrilar (IFM)	26
5.3.4 pH	26
6 MATERIALES Y MÉTODOS	28
6.1 Molienda ultrafina de papaína	28
6.2 FLUORESCENCIA DE RAYOS X (FRX)	28
6.3 DIFRACCIÓN DE RAYO X (DRX)	29
6.4 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	29
6.5 Cinética enzimática de la papaína	29
6.6 Cuantificación de proteínas por el método de Lowry	30
6.7 Índice de Fragmentación Miofibrilar (MFI) (Culler et al., s/f)	31
6.8 Medición del pH	32
6.9 Marinado con Enzima Papaína	33
6.11 Análisis de Perfil de Textura (TPA)	34
6.12 Pérdida por Cocción (Cooking Loss)	35
6.14 Rendimiento de Cocción (Cooking Yield)	35
7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
8 CONCLUSIONES	55
9 LITERATURA CITADA	57
10 ANEXOS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Eye of Round Steak: Its Location, Names, Flavor Profile, and Size. Fuente: https://share.google/images/pnyqlEceYWOHcfTBz	18
Figura 2: Estructura del dominio maduro. Representación estructural de la cisteína proteasa con el dominio maduro (naranja) que muestra los residuos del sitio activo; Cys, His y Asn (en forma de varilla); PBD. Fuente: https://www.researchgate.net/figure/Stru	21
Figura 3: Bandas de transmitancia de los tratamientos T1-T5 (Elaboración propia)	39
Figura 4: Concentración de proteínas (mg/ml) (Elaboración propia)	40
Figura 5: Cuantificación de proteínas (mg/ml) por el método Lowry (Elaboración propia)	41
Figura 6: índice de Fragmentación Miofibrilar (IMF) concentración 0.001%(C1) (Elaboración propia)	42
Figura 7: índice de Fragmentación Miofibrilar (IMF) concentración 0.004%(C4) (Elaboración propia)	43
Figura 8: Variación de pH de la concentración 0.001% (C1) con respecto al tiempo de marinado (Elaboración propia)	44
Figura 9: Variación de pH de la concentración 0.004% (C4) con respecto al tiempo de marinado (Elaboración propia)	45
Figura 10: Perdida por cocción (%) de carne marinada a C1 por 4h a medio ambiente 25°C (Elaboración propia)	49
Figura 11: Perdida por cocción (%) de carne marinada a C1 por 4h en refrigeración 5°C (Elaboración propia)	49
Figura 12: Perdida por cocción de carne marinada a C4 por 4h en medio ambiente 25°C (Elaboración propia)	51
Figura 13: Perdida por cocción (%) de carne marinada a C4 por 4h en refrigeración 5°C (Elaboración propia)	51
Figura 14: Rendimiento por cocción (%) de carne marinada a C1 por 4h en refrigeración 5°C (Elaboración propia)	52

Figura 15: Rendimiento por cocción (%) de carne marinada a C1 por 4h en refrigeración 5°C (Elaboración propia)	52
Figura 16: Rendimiento por cocción (%) de carne marinada a C4 por 4h en medio ambiente 25°C (Elaboración propia)	53
Figura 17: Rendimiento por cocción (%) de carne marinada a C4 por 4h en refrigeración 5°C (Elaboración propia)	54

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Volúmenes utilizados para la preparación de la curva estándar con BSA.....	31
Tabla 2: Datos de DRX de muestras a diferentes tiempos de molienda	37
Tabla 3: Valores de fluorescencia de rayos X en papaína comercial.	38
Tabla 4: TPA con 12 h de marinacion en concentración 0.001% (C1)	46
Tabla 5: TPA con 12 h de marinacion en concentración 0.004% (C4)	46
Tabla 6: TPA con 24 h de marinacion en concentración 0.001% (C1)	47
Tabla 7: TPA con 24 h de marinacion en concentración 0.004% (C4)	47
Tabla 8:TPA con 48 h de marinacion en concentración 0.001% (C1)	47
Tabla 9: TPA con 48 h de marinacion en concentración 0.004% (C4)	47

RESÚMEN

El redondo de res se caracteriza por su dureza y su bajo contenido de grasa. Por lo que requiere técnicas de ablandamiento mas efectivas para mejorar su calidad. La papaína es una enzima proteolítica usada comúnmente en la industria cárnica. Con el propósito de mejorar la actividad enzimática de una papaína comercial mediante molienda mecánica, la enzima se sometió a una molienda ultrafina en un molino de bolas durante distintos tiempos, evaluando los cambios estructurales y químicos que se generaron, así como su actividad proteolítica. Después, las muestras de papaína nano molida se aplicaron a diferentes concentraciones en el redondo de res para estudiar la degradación de proteínas, propiedades fisicoquímicas y modificación del musculo tratado mediante pruebas de TPA.

La presente investigación evalúa el efecto de distintos tiempos de molienda mecánica sobre un producto comercial de papaína, así como su repercusión en la estructura de la papaína al ideal que la actividad proteolítica y en su capacidad para ablandar carne de res, utilizando el corte redondo como modelo. En cuanto a los tratamientos nano molidos, de igual manera es promover la mayor ruptura proteica y una disminución marcada en la dureza comparada con el control. El estudio incluye análisis cinéticos, así como la evaluación del ablandamiento en carne tratada con diferentes concentraciones y tiempos de marinado, seguido de cocción estandarizada y análisis de textura mediante TPA.

1 INTRODUCCIÓN

La ternera es un atributo valorado en la aceptación de la carne de res por parte del consumidor, ya que determina su sabor y valor comercial (Jeremiah, 1996).. Sin embargo, algunos cortes como el redondo de res (eye of round), se caracteriza por su textura firme debido a su bajo contenido de grasa intramuscular y la presencia de mayor contenido de tejido conectivo.

La papaína presenta baja especificidad lo que puede conducir a una hidrólisis excesiva de proteínas, generando texturas indeseablemente blandas o “mushy” si se exceden las condiciones de tratamiento. Asimismo, su actividad puede variar según el pH, la temperatura, el modo de incorporación y la forma física de la enzima (*Alim24358 Vol. 24 No. 1 (2025), n.d.*).

Una alternativa tecnológica es la molienda mecánica, un proceso que induce cambios estructurales en moléculas y partículas mediante impacto, fricción y deformación. La molienda en molino de bolas puede modificar el tamaño de partícula, área superficial, distribución granulométrica y, en el caso de biomoléculas, alterar configuraciones secundarias u oxidar grupos funcionales, modificando así su actividad (Suryanarayana, 2001).

2 JUSTIFICACIÓN

La carne de res es un alimento fundamental en la dieta humana debido a su alto valor nutricional y sus características sensoriales, siendo la ternura uno de los atributos más valorados por los consumidores a nivel mundial. Sin embargo, ciertos cortes, como el redondo de res (eye of round), presentan una textura naturalmente dura debido a su alto contenido de tejido conectivo y fibras musculares resistentes, lo que limita su aceptabilidad y valor comercial. Este problema representa un desafío para la industria cárnica, que busca métodos efectivos y sostenibles para mejorar la calidad de estos cortes y satisfacer las demandas del mercado.

Entre las estrategias para el ablandamiento de la carne, el uso de enzimas proteolíticas como la papaína, una cisteína proteasa de origen vegetal extraída de la papaya, ha demostrado ser una alternativa eficaz. La papaína actúa degradando proteínas miofibrilares y colágeno, reduciendo la dureza de la carne y mejorando su ternura. No obstante, su aplicación comercial enfrenta limitaciones relacionadas con la falta de estandarización en los métodos de uso, la variabilidad en su actividad enzimática y los riesgos de sobreablandamiento, que afectan negativamente la calidad sensorial del producto. Por ello, surge la necesidad de optimizar su desempeño para garantizar resultados consistentes y controlados.

En este contexto, la molienda mecánica se presenta como una técnica innovadora con alto potencial para mejorar la actividad enzimática de productos comerciales de papaína. Este proceso permite reducir el tamaño de partícula y modificar la morfología del polvo enzimático, lo que podría favorecer una mayor dispersión y un mejor contacto enzima-sustrato, incrementando la eficiencia y rapidez del ablandamiento. Además, los procesos mecánicos han mostrado en otros campos la capacidad de estabilizar biomoléculas y aumentar su reactividad, lo que sugiere que su aplicación en la papaína podría abrir nuevas posibilidades para su uso industrial. Sin embargo, los efectos de la molienda mecánica sobre la actividad y estabilidad de la papaína aún no han sido suficientemente explorados en el contexto del ablandamiento de carne, lo que justifica la realización de estudios experimentales que validen su viabilidad y optimicen sus parámetros operativos.

La presente investigación se justifica desde una perspectiva científica, ya que contribuye al conocimiento sobre la interacción entre procesos mecánicos y la actividad de enzimas proteolíticas, específicamente la papaína, en aplicaciones alimentarias. Desde el punto de vista tecnológico, busca desarrollar un método innovador y eficiente para mejorar la calidad de cortes de carne duros, como el redondo de res, lo que podría traducirse en protocolos estandarizados para la industria cárnica. Económicamente, el ablandamiento de cortes de menor valor comercial mediante un proceso optimizado de papaína podría incrementar su aceptación en el mercado, beneficiando tanto a productores como a consumidores al ofrecer productos de mayor calidad a precios competitivos. Finalmente, desde una perspectiva social, este trabajo responde a la demanda de los consumidores por carne más tierna y palatable, promoviendo una mejor experiencia sensorial y contribuyendo a la seguridad alimentaria al aprovechar al máximo los recursos cárnicos disponibles.

Por lo tanto, la optimización de la actividad enzimática de un producto comercial de papaína mediante molienda mecánica para el ablandamiento del redondo de res no solo aborda un problema técnico y comercial relevante, sino que también tiene el potencial de generar un impacto positivo en la industria alimentaria, abriendo nuevas oportunidades para la valorización de cortes cárnicos y el desarrollo de tecnologías sostenibles.

3 HIPÓTESIS

H₀: La molienda mecánica no tiene un efecto significativo en la actividad enzimática de un producto comercial de papaína ni en el ablandamiento del redondo de res.

H_a: La molienda mecánica mejora significativamente la actividad enzimática de un producto comercial de papaína, resultando en un mayor ablandamiento del redondo de res.

4 OBJETIVOS

4.1. General.

Optimizar la actividad enzimática de un producto comercial de papaína mediante el proceso de molienda mecánica para mejorar el ablandamiento del redondo de res, un corte caracterizado por su dureza y bajo contenido de grasa

4.2. Específicos.

4.2.1. Caracterizar los cambios estructurales y químicos del producto comercial de papaína tras molienda ultrafina.

4.2.2. Evaluar el efecto de la molienda ultrafina en la actividad enzimática de la papaína.

4.2.3. Determinar el impacto de la papaína molida ultrafinamente en la degradación de proteínas del redondo de res.

4.2.4. Evaluar las características texturales del redondo de res tratado con papaína molida ultrafinamente.

4.2.5. Analizar propiedades fisicoquímicas y calidad del redondo de res tratado con papaína molida ultrafinamente.

5. REVISIÓN DE LITERATURA

5.1 Generalidades de la carne

La carne fresca se define como todo tejido animal apto para el consumo que, además de haber sido refrigerado, no ha recibido otro tratamiento de conservación más allá del envasado protector, conservando así sus características naturales (De et al., n.d.). La carne de vacuno es un alimento fundamental en la dieta humana por ser fuente rica en proteínas, ácidos grasos esenciales, vitaminas y minerales. Además, contiene características sensoriales excepcionales, que la convierten en uno de los alimentos de origen animal mejor valorado por el consumidor (Alejandro et al., n.d.).

Entre los múltiples factores que influyen en la calidad de la canal, además del sistema de alimentación, se observan las diferencias atribuidas a la raza, edad, sexo y estado reproductivo, madurez fisiológica, sistema de manejo y de producción, faenado, entre otras (Alejandro et al., n.d.). Desde el punto de vista del consumidor, el grado de satisfacción y, por tanto, la mayor o menor aceptabilidad de un corte de carne o producto cárnico es evaluado a través de factores como: tipo de corte, apariencia, precio de compra, aroma y sabor, facilidad de preparación, ternura, jugosidad y valor nutritivo percibido (Teira, 2004).

5.1.1 Calidad de la carne

La calidad de la carne fresca está directamente relacionada con las características de las fibras musculares, dado que los músculos esqueléticos se componen principalmente de ellas. Las fibras musculares se caracterizan por sus rasgos morfológicos y sus propiedades contráctiles y metabólicas (Joo et al., 2013b). Las características de las fibras musculares influyen en la calidad de la carne, incluyendo el color, la capacidad de retención de agua (CRA), la textura y el marmoleo.

El contenido de mioglobina (Mb) y su tasa de oxidación son específicos de cada músculo, y se sabe que el aumento de la proporción de fibras musculares rojas incrementa el enrojecimiento y el contenido de Mb en la carne (Kim et al., 2010).

5.1.2 Composición de la carne

La carne es una mezcla de varios compuestos, pero sus componentes básicos incluyen agua (70-76%), proteínas (18-23%), compuestos nitrogenados (1-3%), carbohidratos (0,5-2%), grasa muscular (0,7-10%) y minerales (0,5-2%). La composición química y por lo tanto de su calidad nutricional, está influenciado por factores tanto genéticos como ambientales (Sakowski et al., 2022).

Además, la carne también se compone de aminoácidos, ácidos grasos, vitaminas, minerales y otros componentes importantes. Los factores de calidad percibidos por los consumidores se relacionan con atributos sensoriales (color, terneza y sabor), propiedades nutricionales (calorías, contenido de vitaminas y perfil de ácidos grasos) y características de apariencia como la exudación, marmoleo y cantidad visible de grasa (Geletu et al., 2021).

5.1.3 Cortes de la carne

Las características de las fibras musculares varían según el tipo, la ubicación y la función del músculo en un animal. En los músculos bovinos, por ejemplo, el longísimo y el semimembranoso presentan una alta proporción de fibras IIB (Hwang et al., 2010).

Los cortes de carne están compuestos por uno o varios músculos, y algunos cortes de ciertos músculos son más tiernos que otros. En general, los cortes más tiernos, y por lo tanto más caros, provienen del lomo y la costilla en cambio los cortes más duros provienen de la parte delantera y trasera del animal, como la paleta y la pierna, ya que estos músculos se utilizan para el movimiento. El eye of round es un corte alargado y naturalmente deshuesado que proviene del músculo semitendinoso, se considera muy duro debido a su alto contenido de tejido conectivo (Jefferies, 2011, Jeremiah et al., 1999).

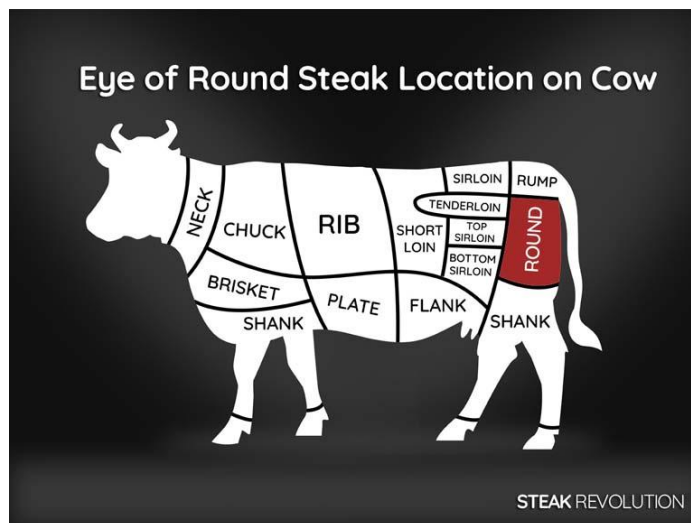


Figura 1: Eye of Round Steak: Its Location, Names, Flavor Profile, and Size. Fuente: <https://share.google/images/pnyqIEceYWOHcTBz>

5.1.4 Terneza en carne

La terneza de la carne es una de las cualidades más apreciadas dentro de las características que promueven la calidad de la carne bovina y uno de los atributos más demandados por los consumidores de carne en todo el mundo (Helmut Bethancourt y Ramón Martínez, 2017).

La ISO 5492:2008, n.d. define la textura de un producto alimenticio como todas las cualidades reológicas y estructurales (geométricas y de superficie) del producto perceptible por medio de receptores mecánicos, táctiles y en su caso visual y auditivo. La dureza es la fuerza máxima obtenida durante el primer ciclo de compresión, se refiere a la fuerza requerida para comprimir un producto entre los molares o entre la lengua y el paladar. Es la resistencia a la penetración, donde varios procedimientos son utilizados para medir la dureza, y estos dependen del material con el que está hecho el alimento, su espesor y la carga aplicada (Welzsacker et al., 2013).

La textura de la carne está directamente relacionada con el tamaño de la fibra muscular y la cantidad de tejido conectivo, además de verse influenciada por el estado y la cantidad de grasa subcutánea e intramuscular (GIM). Esta última se deposita principalmente en el perimio entre los haces musculares, por lo que la firmeza de la carne depende en parte de la firmeza de dicha grasa, la cual varía según su composición de ácidos grasos y la

temperatura. La GIM influye de manera significativa en el sabor, la jugosidad, la ternera y las características visuales de la carne, incrementando el marmoleo, aunque existe debate sobre la magnitud real de su contribución directa a la ternera.(Joo et al., 2013b)

La ternera depende de la cantidad y solubilidad del tejido conectivo, del estado contráctil y la composición de las fibras musculares y del grado de proteólisis que ocurre durante el rigor mortis. Este atributo es especialmente relevante en carnes rojas como res y cordero debido a su mayor proporción de fibras rojas y tejido conectivo (Joo et al., 2013b).

Un método para el mejoramiento es la maduración, en la que intervienen enzimas proteolíticas presentes naturalmente en la carne, las cuales mejoran los rasgos de calidad. Las características organolépticas de la carne no dependen solamente de factores inherentes al animal, en su mayoría dependen de los cambios postmortem. Cambios como el rigor mortis y maduración son necesarios para la conversión del musculo en carne y tienen una influencia crucial en la suavidad de la carne (Carolina Jaramillo Recalde Zamorano, 2016).

Las enzimas calpaína y calpastatina actúan en forma coordinada para degradar las proteínas de las fibras musculares a partir del momento de la faena, lo que genera el proceso de ternerización “post mortem” de la carne. Se ha identificado, en los genes de las enzimas calpaína y calpastatina, mutaciones o variantes genéticas (SNPs) asociadas a mayor y a menor ternera. Dichas mutaciones se denominan marcadores moleculares de ternera. Los marcadores más utilizados son: calpastatina 2959, calpastatina UoG, calpaína 316 y calpaína 4751 (Guitou H.1 et al., 2008)

Las técnicas de evaluación de la textura propuestas deben ser capaces de discriminar adecuadamente las muestras de carne, así como cuantificar la ternera resultante. La determinación de textura puede ser llevada a cabo por métodos instrumentales, como pueden ser los mecánicos (corte, compresión, penetración, etc.), así como por métodos sensoriales. (Diego Braña Varela et al., 2011)

5.1.5 Métodos tradicionales y modernos de ablandamiento

La ternera de la carne puede mejorarse mediante diversos métodos físicos, químicos y enzimáticos, cada uno con mecanismos y niveles de efectividad distintos. Entre los métodos físicos más utilizados se encuentran la maduración en frío, el golpeo mecánico

y la cocción lenta. La maduración consiste en almacenar la carne a temperaturas controladas durante varios días, permitiendo que las enzimas endógenas degraden gradualmente proteínas miofibrilares, lo que incrementa la suavidad del músculo. Por su parte, la tenderización mecánica rompe estructuras de tejido conectivo mediante agujas o golpes, aunque puede generar pérdidas de jugosidad y riesgos microbiológicos (De Lourdes Pérez-Chabela & Totosaus, 2022).

5.2 Las enzimas

Las enzimas son biocatalizadores de origen biológico la cual su principal función es acelerar la velocidad de las reacciones bioquímicas. Para hacer esto disminuyen la energía de activación, que debe superarse para que el proceso químico se inicie.

Las enzimas proteolíticas, también conocidas como proteasas o peptidasas, catalizan la hidrólisis de los enlaces peptídicos de otras proteínas, dando como resultado la producción de péptidos o aminoácidos libres (Sulim & del Rocío MERCADO-FLORES, n.d.). Las exopeptidasas que actúan en el extremo carboxilo se denominan carboxipeptidasas, las cuales liberan un único aminoácido o un dipéptido (peptidil dipeptidasas E.C 3.4.13) en los extremos C-terminales de la cadena polipeptídica. Estas enzimas también se clasifican en tres grupos:

- serin-carboxipeptidasas
- metalo-carboxipeptidasas
- cisteín-carboxipeptidasas

dependiendo de la naturaleza de los residuos de aminoácidos en su sitio activo (Theron & Divol, 2014).

5.2.1 Clasificación de enzimas

5.2.1.1 Serin proteasas

Las serinas proteasas contiene un grupo serina en su sitio activo, se caracterizan por catalizar la hidrolisis de los enlaces amida o éster de un nucleófilo de serina como base. Las serina proteasas existen entre los grupos de exoproteasas, endoproteasas, oligoproteasas y omega proteasas. Los grupos enzimáticos representativos importantes incluyen las quimotripsinas (SA), subtilisinas (SB), carboxiproteasa C (SC) y Escherichia -Ala proteasa A (SE), y estas tienen estructuras primarias que no están relacionadas en absoluto. La serina proteasas se caracterizan por tener un péptido conservado que

contiene glicina, Gly-Xaa-Ser-Yaa-Gly, asociado con la serina catalítica (Scarry & Rimoldi, 2013; Ward et al., 2009)

5.2.1.2 Metaloproteasas

Las metaloproteinasas son endopeptidasas en las que el ataque nucleofílico a un enlace peptídico está mediado por una molécula de agua. Un catión metálico divalente, generalmente zinc, activa la molécula de agua. Entre las metaloproteinasas, las MMP (metaloproteinasas de matriz), también denominadas matrixinas (una subfamilia de la superfamilia de la metzincina), son endopeptidasas clave que degradan la matriz extracelular (ECM) y que dependen del zinc (Okada, 2013)

5.2.1.3 Cisteína Proteasas

Las cisteín proteasas están presentes tanto en procariotas como en eucariotas. Su actividad depende de un par cisteína e histidina. Estas enzimas contienen una tríada de Cys-His-Asn en el sitio activo, se sintetizan como zimógenos y contienen un prodominio (regulador) y un dominio maduro (catalítico). El primero actúa como un inhibidor endógeno que debe ser eliminado para que la enzima madura pueda ser activada. En la mayoría de los casos, son activas sólo en presencia de agentes reductores tales como el cianuro de hidrógeno o la cisteína. Estas enzimas tienen pH óptimo neutro, aunque algunas de ellas, son más activas a pH ácido. (S. Verma et al., 2016). La papaína es la proteasa de cisteína más conocida y utilizada en la industria alimentaria.

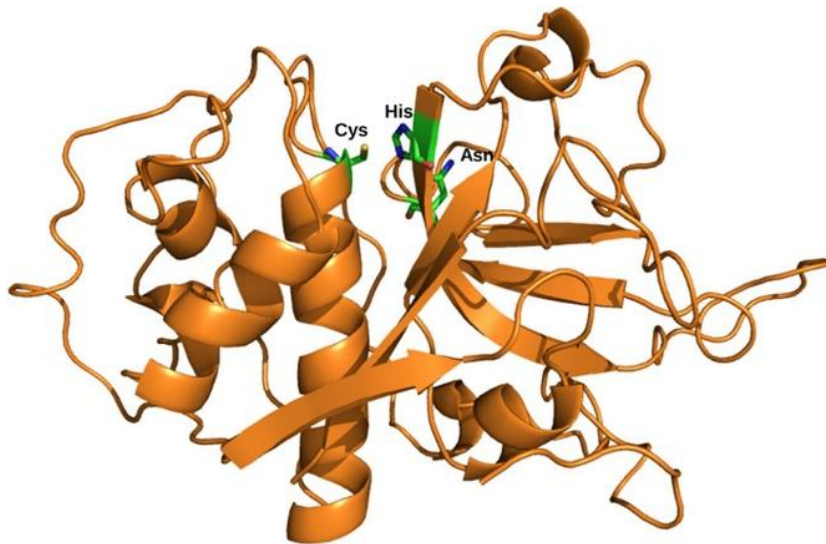


Figura 2: Estructura del dominio maduro. Representación estructural de la cisteína proteasa con el dominio maduro (naranja) que muestra los residuos del sitio activo; Cys, His y Asn (en forma de varilla); PBD. Fuente: <https://www.researchgate.net/figure/Stru>

5.2.2 Enzimas proteolíticas de origen vegetal en el ablandamiento de la carne

Las enzimas exógenas de origen vegetal desempeñan un papel fundamental en la ablandación de la carne, es importante analizar las diferentes enzimas proteolíticas; entre ellas, se encuentran la papaína, la bromelina, la zingibaína, la cucumina, la ficina, la actinidina, etc., así como otros agentes infrautilizados y desapercibidos, pero eficaces, que tienen un efecto ablandador de la carne. Estos ablandadores naturales se extraen de diversas plantas, como frutas, verduras, tallos y hojas. Por lo tanto, es valioso analizar la química y las aplicaciones de estas enzimas con los nuevos hallazgos de la investigación, así como fomentar la investigación sobre el efecto de las plantas infrautilizadas que pueden utilizarse como reservorios de enzimas proteolíticas (Madhusankha & Thilakarathna, 2021).

5.2.2.1 Papaína

La papaína (EC 3.4.22.2) es una enzima cisteína proteasa vegetal que se deriva del látex de la especie inmadura de la *Carica papaya L.* (Amri & Mamboya, 2012). Esta se considera un agente proteolítico natural capaz de romper enlaces peptídicos adyacentes a lisina, fenilalanina y arginina en las proteínas musculares durante su mecanismo de ablandamiento (Ménard et al., 1990). La papaína, una cisteína proteasa de 212 aminoácidos, tiene una fuerte capacidad proteolítica, hidrolizando un tablero de proteínas en pequeños péptidos y aminoácidos (dos Anjos et al., 2016)

La papaína se destaca por su alta termo estabilidad, esta propiedad ayuda a que el “efecto ablandador soporte mayor temperatura durante las etapas de cocción. El rango de pH es de 5 a 8 por lo que la actividad enzimática es de amplio espectro. Su actividad enzimática comienza a disminuir a 65°C y su desnaturalización ocurre a temperaturas superiores a 85°C (Francisco Yáñez & Jaime A. Hernández, 2015; Rodríguez & Zambrano Y. M., 2021)

En su forma comercial, la papaína se caracteriza por ser un polvo amorfo, granuloso de color blanco o parduzco, con carácter ligeramente higroscópico e insoluble en agua y la mayoría de los solventes orgánicos. Es soluble en alcohol etílico y metílico (Alimenticia et al., n.d.).

El uso de proteasas como agentes ablandadores en carne favorece la ruptura de la integridad de los filamentos musculares contraídos tras la rigidez cadavérica, así como la degradación de las triples hélices de colágeno. La suavidad del tejido conectivo depende del contenido de colágeno, del diámetro de las fibras perimisiales y del grado de entrecruzamiento de sus fibras. El colágeno comienza a acortarse entre 60 °C y 70 °C, y se transforma en gelatina alrededor de los 80 °C, lo que contribuye significativamente al ablandamiento de cortes con alto contenido de colágeno, dependiendo del método y temperatura final de cocción (Alimenticia et al., n.d.)

(Rodríguez & Zambrano Y. M., 2021) evaluaron el efecto de dos extractos enzimáticos naturales, bromelina y papaína, sobre el ablandamiento del músculo vacuno, analizando diferentes tiempos de exposición y porcentajes de aplicación. En su estudio emplearon cortes de res tratados con distintas concentraciones de cada enzima y midieron cambios en pérdida por cocción, pH, fuerza de corte y aceptabilidad sensorial.

Los resultados demostraron que ambas enzimas mejoraron la ternura, pero la papaína mostró un efecto más marcado, reduciendo significativamente la fuerza de corte en comparación con la bromelina. Asimismo, tiempos de acción más prolongados y porcentajes más altos incrementaron el grado de ablandamiento, aunque en exceso generaron texturas demasiado blandas o pastosas. Se concluye que las enzimas proteolíticas naturales representan una alternativa eficaz para mejorar la textura de la carne, pero deben controlarse cuidadosamente las concentraciones y tiempos de aplicación para obtener una ternura óptima sin afectar la calidad sensorial.

Cortez A. C. et al., 2025 evaluaron el efecto de esta enzima sobre la calidad sensorial de la carne de res y reportaron que la aplicación de papaína mejora de manera evidente la ternura, reduciendo la resistencia mecánica de los cortes evaluados gracias a la degradación de enlaces peptídicos en estructuras musculares rígidas. Los autores señalan que este ablandamiento se refleja en un menor esfuerzo requerido para la masticación y en una textura más homogénea tras la cocción, lo que confirma la eficacia de la papaína como agente proteolítico. Sin embargo, advierten que concentraciones

elevadas o tiempos de exposición prolongados pueden producir sobre ablandamiento, generando texturas pastosas que afectan negativamente la percepción sensorial del consumidor. Estos hallazgos resaltan la importancia de optimizar la dosificación enzimática para obtener una mejora controlada y deseable en la textura de la carne.

Gokoglu et al., 2017 evaluó el efecto textural de la adición de papaína y bromelina en músculo de calamar (*Loligo vulgaris*) y demostró la clara capacidad de ambas enzimas para modificar las propiedades fisicoquímicas y mecánicas del tejido. Los autores sumergieron piezas de calamar en soluciones enzimáticas a concentraciones de 0.001% y 0.004%, activándolas posteriormente a 60 °C por 20 min. Los resultados mostraron que la papaína produjo una disminución significativa ($p < 0.05$) en la dureza, la fuerza de corte y los valores de gomosidad y masticabilidad, indicando un marcado ablandamiento del músculo. Estas reducciones se asociaron con una mayor hidrólisis proteica, evidenciada por el incremento de aminoácidos libres y la disminución de la integridad estructural del tejido. Aunque ambos extractos fueron efectivos, la papaína generó los mayores cambios texturales, consolidándose como un agente proteolítico altamente eficiente para disminuir la dureza y mejorar la textura de matrices animales. Este comportamiento es consistente con estudios previos en diferentes especies, en los que la papaína ha mostrado capacidad para reducir la fuerza de corte por solubilización de proteínas miofibrilares y colágeno, favoreciendo la ternura del producto final.

5.2.2.2 Optimización de enzimas mediante procesos mecánicos

La molienda mecánica, y en particular la molienda de bolas es un proceso de pulverización mecánica para reducir el tamaño. La molienda mecánica es efectiva para transformar partículas gruesas en partículas finas, su principal función en la optimización de procesos se basa en el efecto mecano químico que induce en los materiales biológicos.

Esta pulverización mecánica actúa como un proceso para cambiar la estructura molecular interna del material. Específicamente, puede causar la despolimerización de la macromolécula en la pared celular durante la molienda. Además, la energía de colisión generada puede cambiar las fibrillas ordenadas (cristalinas) a una estructura desordenada (amorfa), lo que resulta fundamental para intensificar la reactividad

posterior del material, haciéndolo mucho más susceptible a tratamientos enzimáticos o químicos (Arce & Krátký, 2025; Gao et al., 2017; Ji et al., 2017)

En el artículo de Wang et al., 2020 demuestra que los procesos mecano químicos facilitan la síntesis de materiales tipo MOF (estructuras metal-orgánicas) mientras protegen y estabilizan las enzimas incorporadas, manteniendo o incluso aumentando su actividad catalítica. La molienda facilita que la enzima quede atrapada dentro de la estructura del material, lo que previene su desnaturalización y le confiere mayor tolerancia térmica, estabilidad frente a solventes y resistencia a proteasas.

Estos procesos mecánicos no inhiben la formación cristalina del material, y la actividad enzimática puede regularse al controlar el patrón de encapsulación y la química del microentorno generado durante la molienda. Este tipo de enfoques evidencia que el procesamiento mecánico es una estrategia altamente eficaz para modificar, estabilizar y potenciar biomoléculas, abriendo la puerta a su aplicación optimizada en los campos de alimentos, biocatálisis y en sistemas donde se requiere mejorar la eficiencia de las enzimas (Wang et al., 2020).

Teniendo en cuenta lo anterior, la molienda de papaína presenta un alto potencial para optimizar su desempeño como ablandador en carne: al disminuir el tamaño de partícula y modificar la morfología del polvo enzimático se favorece la dispersión y el contacto enzima–sustrato, lo que podría aumentar la rapidez y eficacia del corte proteolítico en miofibrillas y colágeno; sin embargo, estas ventajas deben validarse experimentalmente ajustando parámetros de molienda para evitar la inactivación mecano-térmica de la papaína.

5.3 Técnicas de evaluación de la calidad y textura de la carne

La evaluación de la calidad de la carne, en especial textura y ternura combina métodos instrumentales y sensoriales estandarizados que permiten cuantificar los cambios producidos por uno o más tratamientos como lo pueden ser ablandadores enzimáticos.

5.3.1 Método de cocción

El broiling es un método de cocción por calor radiante directo que requiere voltear la carne debido a que el calor proviene de una sola dirección. Se considera aceptable en la investigación por su similitud con el uso del consumidor. El procedimiento clave implica: precalentar a alta temperatura (170–232°C),

monitorear la temperatura interna (mediante termopares), voltear la carne una vez con pinzas, y retirarla precisamente cuando alcanza la temperatura interna estándar de (71°C), registrando inmediatamente las pérdidas de peso por cocción (Beik et al., 2016)

5.3.2 Perfil de textura

El análisis del perfil de textura se basa en una prueba de doble compresión mecánica para comprender el comportamiento de las muestras al masticarse. La principal ventaja del ATP es que se pueden obtener numerosos parámetros con un ciclo de doble compresión (Paredes et al., 2022a) En contraste con la prueba de doble compresión (TPA) simula mejor el efecto de corte que la masticación (Paredes et al., 2022b)

5.3.3 Índice De Fragmentación Miofibrilar (IFM)

El Índice de Fragmentación Miofibrilar (MFI) es una medida bioquímica que cuantifica la ruptura de las miofibrillas y se ha correlacionado con medidas instrumentales de ternura y con la percepción sensorial. El MFI es especialmente útil para detectar cambios proteolíticos tempranos postmortem o inducidos por tratamientos enzimáticos (Olson, et al., 1976)

5.3.4 pH

La aplicación de enzimas proteolíticas influye directamente en la textura de la carne y, de manera indirecta, regula el comportamiento del pH. Un pH estable y ligeramente elevado, generado por una hidrólisis controlada, está asociado con una mejoría significativa en la ternura, mientras que valores excesivamente altos en ausencia de enzimas se relacionan con deterioro y pérdida de calidad (Kozhakhlyeva et al., 2025).

En el artículo de (Ashie et al., 2002) la papaína mostró una actividad proteolítica notablemente más alta que una proteasa microbiana comparativa, evidenciando una hidrólisis intensa del colágeno y aproximadamente siete veces más degradación de proteínas miofibrilares. Esta ruptura extensiva incrementó de manera significativa la solubilización de grupos amino libres y de hidroxiprolina, mecanismos directamente asociados con la pérdida de integridad estructural y reducción de la fuerza de corte, lo

cual se traduce en una mayor terniza en la carne de res. Los autores reportan que el aumento de la dosis de papaína produjo un incremento progresivo en terniza, hasta llegar a niveles en los que la carne se tornó excesivamente blanda, lo que coincide con reportes previos sobre la acción poco selectiva de esta enzima. Además, la papaína mantuvo su capacidad de tenderización durante el almacenamiento refrigerado, generando un ablandamiento continuo previo a la cocción, lo que sugiere que su actividad no es completamente autolimitante. Este comportamiento contrasta con otras proteasas más específicas y confirma que, aunque altamente efectiva, la papaína requiere un control estricto de su dosis y condiciones de aplicación para evitar sobre ablandamiento. En conjunto, el estudio refuerza que la papaína es una herramienta potente, pero que su uso óptimo debe considerar la cinética proteolítica y la sensibilidad del músculo tratado.

En el artículo Madhusankha & Thilakarathna, 2021 se aborda de manera amplia el mecanismo de ablandamiento de la carne y el papel que desempeñan diversas proteasas vegetales exógenas en este proceso. En esta revisión se destaca particularmente el uso de papaína, una enzima cisteína proteasa capaz de hidrolizar proteínas miofibrilares y componentes del tejido conectivo, lo que contribuye de forma significativa a la reducción de la dureza y a la mejora de la terniza de la carne. El artículo señala que la eficacia de la papaína depende de factores como la concentración aplicada, el tipo de músculo, el tiempo de exposición, el pH y la temperatura, los cuales determinan la magnitud del ablandamiento obtenido. Asimismo, los autores enfatizan que, pese al potencial tecnológico de la papaína, su uso comercial continúa siendo limitado por la falta de estandarización en los métodos de aplicación y por la escasez de estudios sistemáticos que definan condiciones óptimas para su empleo en carne. Este análisis evidencia la necesidad de desarrollar investigaciones que optimicen la actividad de la papaína y establezcan protocolos confiables para su utilización en la industria cárnica.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Molienda ultrafina de papaína

La molienda ultrafina de la papaína se llevó a cabo utilizando un molino planetario Retsch con mortero y bolas de zirconia en la Facultad de Ciencias Químicas en la Universidad Autónoma de Coahuila. Para este proceso, se emplearon 6 bolas fabricadas de zirconia con un peso total de 126.9931 g. En cada ensayo, se colocaron 50 g de papaína comercial en la jarra del molino. Se realizaron cuatro tratamientos de molienda a una velocidad de 300 rpm, con duraciones de 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos y 120 minutos, respectivamente. Cada uno de estos tiempos de molienda se consideró como un tratamiento independiente para su posterior evaluación.

Durante el proceso, se monitoreó la temperatura de la jarra debido a la observación de un ligero incremento de la temperatura que podría influir en la estabilidad de la enzima. No obstante, la temperatura se mantuvo dentro de un rango controlado entre 33 °C y 39.5 °C, lo que se consideró adecuado para evitar la desnaturalización de la papaína. Este control permitió garantizar la integridad de las propiedades enzimáticas durante la molienda.

6.2 Fluorescencia de Rayos X (FRX)

Esta técnica se utilizó para conocer el análisis químico elemental de la muestra de papaína así como cuantificar el grado de contaminación debida al proceso de molienda, ya que posiblemente se podría presentar una contaminación debida al desgaste tanto del mortero como de las bolas con los cuales se llevó a cabo la molienda.

Las muestras se prepararon colocándolas en el portamuestras, en el cual se agregaron 7 g de muestra, una vez preparada la muestra se colocó en el equipo de FRX y se analizó por 15 min, este procedimiento se repitió para los diferentes tiempos de molienda. Dicho trabajo se hizo en la Facultad de Ciencias Químicas en la Universidad Autónoma de Coahuila en un equipo PANalytical Epsilon 1.

6.3 Difracción de Rayo X (DRX)

Se utilizó la técnica de Difracción de rayos X (DRX) para determinar el análisis cualitativo y semicuantitativo de las fases en todas las muestras. Para esto se empleó un equipo PANalytical modelo Empyrean. Los patrones de DRX fueron obtenidos empleando radiación CuK α ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$) en el rango 2θ de $10 - 80^\circ$, usando una velocidad de barrido de $0.02^\circ/\text{s}$, un voltaje de 40 kV y una corriente de 30 mA.

Este análisis se realizó en la Facultad de Ciencias Químicas en el Laboratorio de Cerámicos de la Universidad Autónoma de Coahuila.

6.4 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia por transformada de Fourier en el infrarrojo (FTIR, por sus siglas en inglés) es una técnica ampliamente utilizada para el análisis químico y la caracterización de materiales, especialmente orgánicos y poliméricos. Este método permite identificar grupos funcionales y analizar la estructura molecular de las muestras mediante la absorción de radiación infrarroja.

Las muestras de papaína sometidas a diferentes tiempos de molienda fueron evaluadas mediante FTIR utilizando un espectrofotómetro modelo IR Spectrum 2 de la marca PerkinElmer, equipado con una fuente MIR y un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) con cristal de diamante. Este equipo permitió obtener espectros en el rango de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , abarcando la región del infrarrojo medio. El análisis se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, específicamente en el Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

6.5 Cinética enzimática de la papaína

Para el estudio de la cinética enzimática, se prepararon soluciones al 1% (p/v) de papaína ultrafina correspondientes a los siguientes tratamientos: T1 (papaína sin molienda), T2 (30 minutos de molienda), T3 (60 minutos de molienda), T4 (90 minutos de molienda) y T5 (120 minutos de molienda). Cada tratamiento se disolvió en agua destilada. Por separado, se preparó una solución de albúmina sérica bovina (BSA) al 22% como

sustrato, en una proporción de 2 mg/mL con agua destilada. La mezcla se homogenizó y se mantuvo refrigerada a 5 °C hasta su uso.

El montaje experimental se realizó de la siguiente manera, preparando los siguientes sistemas por cada tratamiento:

- **Blanco sustrato (BS):** 1 mL de agua destilada y 50 µL de sustrato preparado (BSA al 22%).
- **Blanco enzima (BE):** 1 mL de agua destilada y 50 µL de la solución de papaína al 1% (correspondiente a cada tratamiento: T1, T2, T3, T4 y T5).
- **Blanco general (BG):** 1.5 mL de agua destilada.
- **Muestra reactiva:** 90 µL de agua destilada, 100 µL de sustrato preparado (BSA al 22%) y 50 µL de papaína al 1% de cada tratamiento de molienda ultrafina (T1, T2, T3, T4 y T5), por separado y por duplicado.

Las muestras se incubaron en un baño maría a 40 °C durante diferentes intervalos de tiempo: 0, 2, 4, 8, 12 y 24 horas. Al finalizar cada intervalo, la reacción enzimática se detuvo sumergiendo los tubos en un baño de agua a 60 °C durante 3 minutos. Posteriormente, se aplicó un choque térmico a 5 °C para enfriar las muestras. Finalmente, las muestras se mantuvieron refrigeradas a 5 °C hasta la cuantificación de proteínas mediante el método de Lowry.

6.6 Cuantificación de proteínas por el método de Lowry

Para la cuantificación de proteínas mediante el método de Lowry, se preparó una curva estándar utilizando diluciones de una solución patrón de albúmina sérica bovina (BSA) al 22%, ajustada a una concentración de 2 mg/mL. Se prepararon los siguientes reactivos:

- **Reactivo A:** Carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 2% y hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N.
- **Reactivo B1:** Sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).
- **Reactivo B2:** Tartrato de sodio-potasio al 2%.
- **Reactivo C:** Mezcla de los reactivos A, B1 y B2 en una proporción de 50:0.5:0.5 (volumen).
- **Reactivo Folin-Ciocalteu:** Diluido a 1/4 y mantenido en la oscuridad hasta su uso.

Se pipetearon diferentes volúmenes de agua destilada y solución patrón de BSA en tubos de ensayo, siguiendo la distribución indicada en la Tabla 1. A cada tubo se añadieron 5 mL de reactivo C y se dejaron reposar en la oscuridad durante 15 minutos. Posteriormente, se agregaron 0.5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu diluido (1/4), se mezclaron bien mediante agitación y se incubaron en la oscuridad por 30 minutos para permitir el desarrollo de la reacción de color.

Tabla 1 Volúmenes utilizados para la preparación de la curva estándar con BSA.

Tubo	Agua (ml)	Solución patrón(ml)	Reactivo C (ml)	Folin diluido ¼ (ml)
1	1.0	0.0	5	0.5
2	0.9	0.1	5	0.5
3	0.8	0.2	5	0.5
4	0.7	0.3	5	0.5
5	0.6	0.4	5	0.5
6	0.5	0.5	5	0.5
7	0.4	0.6	5	0.5

(Elaboración propia) 1

Las absorbancias de las soluciones se midieron en un espectrofotómetro (modelo por especificar) a una longitud de onda de 580 nm, utilizando el tubo No. 1 como blanco para ajustar el equipo. Los valores obtenidos se emplearon para construir la curva estándar, con la cual se determinó la concentración de proteínas en las muestras provenientes del estudio de cinética enzimática.

Las muestras obtenidas del experimento de cinética enzimática se analizaron siguiendo el mismo procedimiento descrito para la curva estándar. A cada muestra se le añadieron 5 mL de reactivo C y se dejaron reposar en la oscuridad durante 15 minutos. Posteriormente, se agregaron 0.5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu diluido (1/4), se mezclaron bien mediante un vórtice y se incubaron en la oscuridad por 30 minutos. Finalmente, la absorbancia se midió a 580 nm, utilizando agua destilada como blanco.

6.7 Índice de Fragmentación Miofibrilar (MFI) (Culler et al., s/f)

Para la evaluación del Índice de Fragmentación Miofibrilar (MFI), se realizó un marinado de carne bovina seleccionando la parte más magra del cuete ("Eye of Round"). Se utilizaron entre 4 y 6 g de carne por muestra, las cuales se colocaron en bolsas herméticas individuales. El marinado se llevó a cabo por duplicado, empleando 5 g de carne por réplica.

Se prepararon soluciones enzimáticas con concentraciones de 0.001% y 0.004% a partir de los cinco tratamientos de molienda ultrafina, diluidos en agua destilada. Para el marinado, se añadió a cada bolsa la solución enzimática correspondiente, ajustada según el peso específico de la muestra (volumen/peso, v/w). Las muestras se dejaron marinando bajo refrigeración a 5 °C durante intervalos de 48, 24 y 12 horas. Por su parte, las muestras control se marinaron durante 4 horas, tanto en refrigeración (5 °C) como a temperatura ambiente (25 °C).

Posteriormente, las muestras marinadas se homogenizaron en una licuadora (marca Oster) durante 45 segundos, utilizando 10 mL de un buffer de MFI con un pH final de 7, mantenido a 4 °C. La composición del buffer fue la siguiente:

- 100 mM de KCl (cloruro de potasio, anhidro).
- 20 mM de KH_2PO_4 (fosfato monopotásico).
- 20 mM de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (cloruro de magnesio hexahidratado).
- 1 mM de $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (EDTA disódico dihidratado).

La homogenización se realizó en el equipo HERMLE Benchmark Z327 K. Luego, las muestras homogenizadas se centrifugaron en el mismo equipo a 1000 x g durante 15 minutos a 4 °C.

Tras la centrifugación, se recuperó el sobrenadante y se midió la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro (modelo por especificar), utilizando el buffer de MFI como blanco. Finalmente, los valores de absorbancia obtenidos se estandarizaron mediante la siguiente fórmula para calcular el Índice de Fragmentación Miofibrilar:

$$\text{MFI} = \text{Abs}_{540} \times 200$$

6.8 Medición del pH

Para la determinación del pH, se pesaron 5 g de cuete de res ("Eye of Round") y se mezclaron con 50 mL de agua destilada. La mezcla se agitó manualmente con una varilla de vidrio durante 30 minutos para facilitar la extracción de los componentes solubles.

Posteriormente, la mezcla se filtró utilizando una gasa estéril para obtener un filtrado limpio. La medición del pH se realizó en el filtrado obtenido empleando un potenciómetro digital (HANNA), asegurando lecturas precisas del valor de pH de la muestra.

6.9 Marinado con Enzima Papaína

Se cortaron cubos de 2 x 2 x 2 cm de cuete de res ("Eye of Round"), los cuales fueron pesados y almacenados individualmente en bolsas herméticas para su uso posterior, garantizando la integridad de las muestras hasta el momento del tratamiento.

Se prepararon soluciones enzimáticas con concentraciones de 0.001% y 0.004% para cada uno de los siguientes tratamientos:

- **T1:** Papaína normal (sin molienda adicional).
- **T2:** Papaína sometida a molienda durante 30 minutos.
- **T3:** Papaína sometida a molienda durante 60 minutos
- **T4:** Papaína sometida a molienda durante 9 minutos.
- **T5:** Papaína sometida a molienda durante 120 minutos.

Las soluciones se diluyeron en agua destilada. A cada muestra de carne se añadió la solución enzimática correspondiente, ajustada según el peso de la muestra (volumen/peso, v/w), para garantizar una distribución uniforme del tratamiento.

Las muestras se marinaron bajo refrigeración a 5 °C durante intervalos de 48, 24 y 12 horas. Como control, se incluyeron muestras marinadas únicamente con agua destilada y tampón fosfato bajo las mismas condiciones de tiempo y temperatura. Adicionalmente, se realizó un control con un tiempo de marinado de 4 horas, tanto en refrigeración (5 °C) como a temperatura ambiente (25 °C).

6.10 Tratamiento Térmico

Las muestras marinadas de cuete de res ("Eye of Round") con las soluciones enzimáticas fueron cocinadas en una freidora de aire (modelo por especificar) a una temperatura de 170 °C durante 10 minutos o hasta alcanzar una temperatura interna de 71 °C, asegurando una cocción uniforme y adecuada.

Posteriormente, las muestras se dejaron enfriar durante 15 minutos a temperatura ambiente. Una vez enfriadas, se colocaron en bolsas herméticas debidamente etiquetadas y se refrigeraron a 5 °C para su conservación hasta el momento de realizar los análisis correspondientes.

6.11 Análisis de Perfil de Textura (TPA)

El análisis de perfil de textura (TPA, por sus siglas en inglés: Texture Profile Analysis) se realizó utilizando un texturómetro Brookfield CT3 (capacidad de 4500 g), equipado con una sonda cilíndrica modelo TA25/1000 de 50.8 mm de diámetro. Las muestras de cuete de res ("Eye of Round"), previamente cocidas, se colocaron en el centro de la plataforma del equipo para garantizar una medición uniforme. Se aplicó una carga de activación de 0.044 N y se realizó una doble compresión equivalente al 30% de la altura original de cada muestra.

Las condiciones establecidas para el análisis fueron las siguientes:

- Velocidad pre-test: 120 mm/min.
- Velocidad durante el test: 0.05 mm/s.
- Velocidad post-test: 300 puntos/s.

Los parámetros registrados durante la prueba incluyeron:

- Fuerza (N).
- Distancia (mm).
- Tiempo (s).
- Temperatura (°C).
- Trabajo (g*cm).
- Presión (N/m²).
- Velocidad (mm/min).

A partir de los datos generados por el software del equipo, se determinaron los siguientes valores correspondientes al perfil de textura de cada muestra:

- **Dureza:** Fuerza máxima necesaria para comprimir la muestra.
- **Fractura:** Punto en el que la muestra presenta una ruptura estructural.

- **Elasticidad:** Capacidad de la muestra para recuperar su forma original tras la compresión.
- **Gomosidad:** Energía requerida para desintegrar una muestra semisólida hasta un estado listo para ser ingerido.
- **Cohesividad:** Grado en que la muestra mantiene su integridad interna durante la compresión.
- **Masticabilidad:** Energía necesaria para masticar una muestra sólida hasta un estado apto para la deglución.

6.12 Pérdida por Cocción (Cooking Loss)

El análisis de pérdida por cocción se realizó determinando el peso de las muestras de cuete de res ("Eye of Round") en estado crudo y después de ser cocidas. Para calcular el porcentaje de pérdida por cocción, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%Pérdida\ por\ cocción = \frac{P_i - P_f}{P_f} \times 100$$

Donde:

- P_i : Peso de la carne cruda (en gramos).
- P_f : Peso de la carne cocida (en gramos).

Este cálculo permitió cuantificar la pérdida de peso debida a la liberación de agua y otros componentes durante el proceso de cocción

6.14 Rendimiento de Cocción (Cooking Yield)

El análisis de rendimiento por cocción se llevó a cabo utilizando el peso de las muestras de cuete de res ("Eye of Round") en estado crudo y después de ser cocidas. Para determinar el porcentaje de rendimiento por cocción, se empleó la siguiente fórmula:

%Rendimiento por cocción:

$$\%Rendimiento\ por\ cocción = \frac{P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

- Pi: Peso de la carne cruda (en gramos).
- Pf: Peso de la carne cocida (en gramos).

Este cálculo reflejó la proporción de peso retenido por las muestras tras el proceso de cocción.

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Molienda ultrafina

7.1.1 Difracción de rayos X

Se utilizó la técnica de Difracción de rayos X (DRX) para determinar el tamaño de cristalito de las partículas en las muestras. Para esto se empleó un equipo PANalytical modelo Empyrean. Los patrones de DRX fueron obtenidos empleando radiación $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$) en el rango 2θ de $10\text{-}80^\circ$, usando una velocidad de barrido de $0.02^\circ/\text{s}$, un voltaje de 40 kV y una corriente de 30 mA. El tamaño de cristalito de las partículas fue posible determinarlo a partir de la anchura del pico a media altura en los patrones de difracción de rayos X, este dato se consideró como un tamaño medio de partícula primario.

Tabla 2: Datos de DRX de muestras a diferentes tiempos de molienda

Muestra	2θ ($^\circ$)	Intensidad del pico (conteos)	Tamaño del cristalito (nm)
T1	20.70	179719	20.9
T2	21.15	189735	16
T3	21.01	152929	13
T4	20.57	153318	16
T5	20.86	139402	18

(Elaboración propia) 2

La tabla 2 muestra cómo el tiempo de molienda afecta las propiedades cristalinas de la papaína, analizadas mediante DRX. La muestra sin tratar (T1) presenta el mayor tamaño de cristalito (20.9 nm) y una alta cristalinidad. A medida que aumenta el tiempo de molienda (T2-T4), el tamaño de cristalito disminuye significativamente debido a la fragmentación y desorden estructural, alcanzando su valor más bajo en T3 (60 min, 13 nm). Sin embargo, en T5 (240 min), se observa un ligero aumento en el tamaño de cristalito (18 nm), posiblemente por relajación o recristalización parcial tras largos tiempos de molienda. Además, el desplazamiento del ángulo 2θ y la disminución de la intensidad del pico reflejan tensiones internas y pérdida de cristalinidad con el tratamiento mecánico. Esto evidencia que la molienda altera significativamente la estructura cristalina de la papaína (Fatimah et al., 2021; Prabhasankar & Haridas Rao, 2001; Tema A2a. Materiales: Síntesis Mecanoquímica, 2022).

7.2 Fluorescencia de rayos X

El análisis de Fluorescencia de Rayos X (FRX) se empleó para determinar, de manera cualitativa y cuantitativa, la composición mineralógica de las muestras obtenidas a diferentes tiempos de molienda. Además, se evaluó el contenido del elemento zirconia presente en las muestras, ya que el proceso de molienda se llevó a cabo utilizando un mortero y bolas de zirconia.

Se tenía conocimiento previo de que este procedimiento podría generar una contaminación por zirconia en las muestras, por lo que se buscó garantizar que dicha contaminación no excediera el 1% en peso. Los resultados del análisis confirmaron que la contaminación por zirconia derivada de las bolas de molienda fue menor al 1%, cumpliendo con los límites establecidos para el proceso. Este análisis permitió evaluar tanto la composición elemental como los posibles efectos del material del equipo de molienda en las muestras procesadas.

Tabla 3: Valores de fluorescencia de rayos X en papaína comercial.

Muestr a	Minerales (%)								Contaminación Zr (%)	Otros constituyentes (%)
	M g	P	K	Ca	Mn	Fe	Zn	Cu		
0 min	0	19. 5	13. 9	17. 2	0.3 5	1. 4	0.07 4	0.2 4	0	47.336
60 min	0	22. 5	12. 4	18. 9	0.4	1. 6	0.07 1	0.2 6	0.088	43.781

(Elaboración propia) 3

7.3 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

El análisis FTIR de la papaína comercial revela la presencia de diversos grupos funcionales que destacan su composición química. En la región de 3260 cm^{-1} , se identificaron vibraciones de estiramiento correspondientes a los grupos funcionales O-H (alcoholes y fenoles) y N-H (aminas y amidas), lo que indica la presencia de humedad y compuestos relacionados con proteínas, característicos de esta enzima. Las bandas en 2945 cm^{-1} están asociadas con las vibraciones de estiramiento C-H de alcanos, tanto simétricas como asimétricas, además de estar relacionadas con las vibraciones O-H de

ácidos carboxílicos. Asimismo, las bandas en 1025 y 985 cm^{-1} corresponden a los estiramientos de C-O y C-O-H, lo que sugiere la presencia de aminoácidos y fracciones de polisacáridos. Finalmente, la banda en 607 cm^{-1} está vinculada al grupo funcional -CH, reforzando la presencia de enlaces hidrocarbonados en su estructura. Estos resultados confirman que la papaína comercial contiene una composición rica en proteínas, aminoácidos y compuestos orgánicos esenciales para su actividad enzimática.

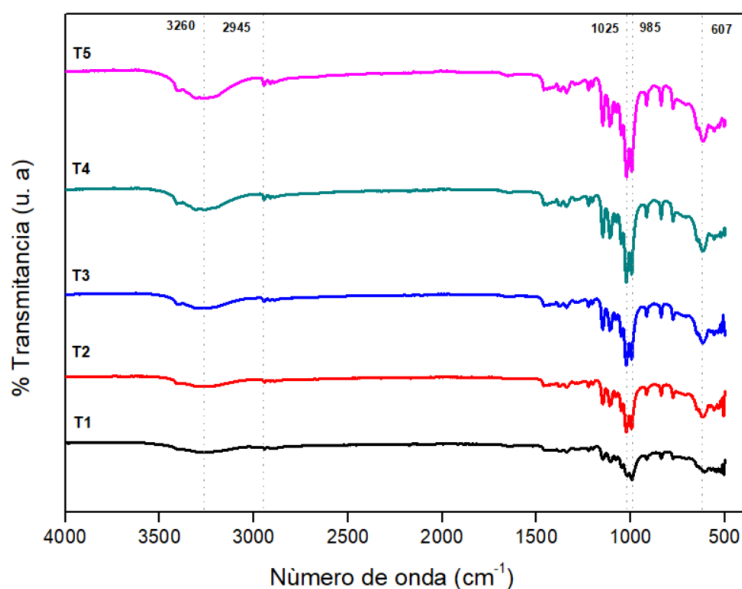


Figura 3: Bandas de transmitancia de los tratamientos T1-T5 (Elaboración propia)

El aumento en la intensidad de la banda en 1025 – 985 cm^{-1} indica una mayor absorción asociada a los enlaces C–O o C–N. Esto puede deberse a la exposición de grupos funcionales previamente protegidos, interacciones intermoleculares o cambios estructurales en la proteína debido a procesos como la molienda (Alonso et al., 2025; KLINMALAI et al., 2025; Moreira Filho et al., 2020; Prasetya et al., 2018).

7.4 Cinética enzimática de la papaína

En la figura (4) se muestra la concentración de proteína soluble liberada de la mezcla de agua y papaína mostro cambios en los 5 tratamientos evaluados (T1-T5) a lo largo de la cinética. En el tiempo 0 se observa una concentración similar entre los tratamientos(T1-T5)

(P. K. Verma et al., 2011) indica un proceso inicial de hidratación y activación de la enzima, quien explica que las proteasas en polvo liberan fragmentos proteicos

inmediatamente después de su hidratación debido a una reorganización estructural inicial.

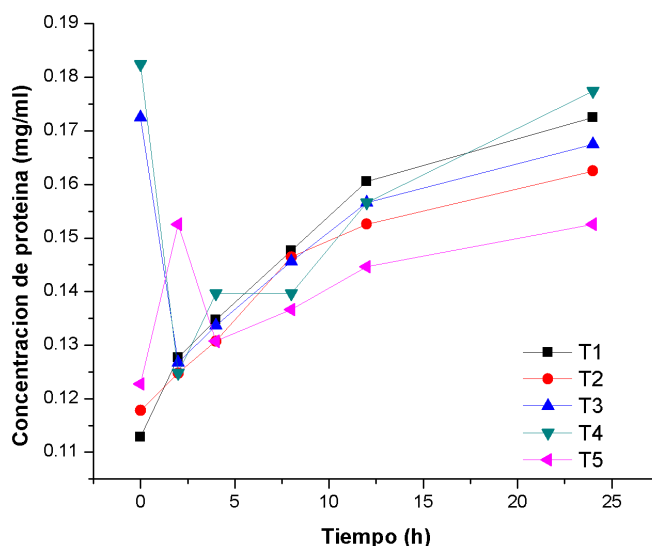


Figura 4: Concentración de proteínas (mg/ml) (Elaboración propia)

Entre las 2 y 12 horas, la concentración tiende a disminuir. Esta reducción se asocia al fenómeno de autólisis enzimática, donde la papaína degrada fragmentos propios hasta tamaños demasiado pequeños para ser detectados mediante métodos colorimétricos. Este proceso ha sido descrito en diversas proteasas del tipo cisteína, incluida la papaína, las cuales pueden hidrolizarse a sí mismas en ausencia de un sustrato externo (Otto & Schirmeister, 1997)

A las 24 h se observa un aumento moderado en todos los tratamientos. Esto se debe a que la autólisis continúa. Además, estudios sobre estabilidad de papaína reportan que su estructura empieza a desestabilizarse después de 18–24 h en medios diluidos, generando fragmentos detectables como proteína soluble (Homaei et al., 2009).

Finalmente, se observó que los tratamientos sometidos a mayor tiempo de molienda mecánica (T4 y T5) tendieron a presentar valores ligeramente menores de proteína soluble en comparación con T1.

7.5 Cuantificación de proteínas por el método de Lowry

La cuantificación de proteínas mediante el método Lowry (Figura 5) utilizando una curva estándar preparada a partir de una solución de BSA mostro variaciones entre los cinco

tratamientos (T1-T5) durante la cinética de 0 a 24 h. El comportamiento de los cinco tratamientos (T1-T5) indica incrementos en la concentración proteica con fluctuaciones moderadas a lo largo del tiempo.

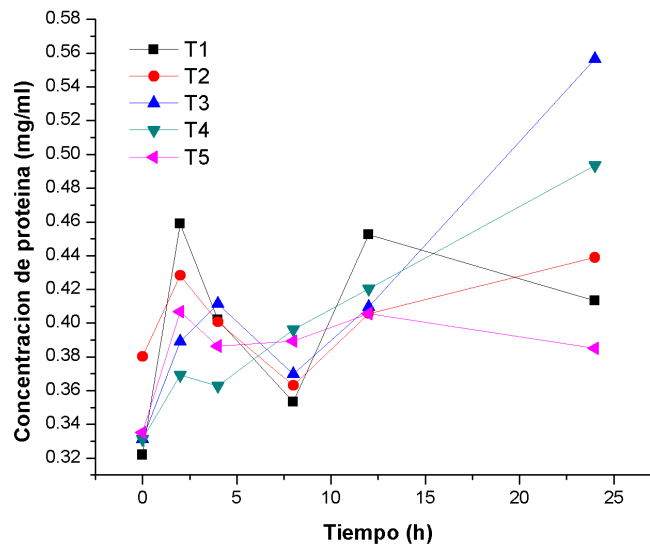


Figura 5: Cuantificación de proteínas (mg/ml) por el método Lowry (Elaboración propia)

El tratamiento T3 presentó de manera consistente las mayores concentraciones en casi todos los tiempos, alcanzando su máximo a las 24 h (0.556 mg/mL). En contraste, T5 mostró los valores más bajos en la mayoría de los puntos, disminuyendo hacia las 24 h (0.385 mg/mL). La tendencia final a las 24 h fue: T3 > T4 > T2 > T1 > T5, lo cual refleja diferencias en la disponibilidad de proteína detectada por el reactivo de Folin–Ciocalteu.

En el caso de T5 (molienda 120 minutos), la disminución observada hacia las 24 h podría explicarse por fenómenos físicos derivados de la reducción extrema del tamaño de partícula. Está documentado que, conforme las partículas se vuelven más finas, aumenta su tendencia a agregarse o apelmazarse, lo cual reduce su dispersión y la accesibilidad de grupos funcionales reactivos (Gleiter, 2000).

7.6 Índice de Fragmentación Miofibrilar

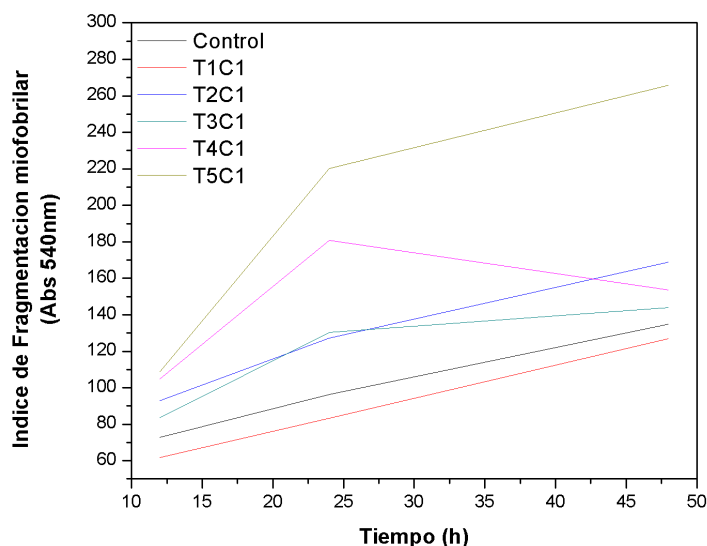


Figura 6: índice de Fragmentación Miofibrilar (IMF) concentración 0.001% (C1) (Elaboración propia)

Los valores obtenidos para el Índice de Fragmentación Miofibrilar (MFI) en la concentración C1 (0.001%) (Figura 6) muestran un aumento progresivo de la proteólisis miofibrilar conforme el tiempo va incrementando, lo cual refleja la actividad enzimática de la papaína. A las 12 horas, los valores de MFI aumentan de manera considerable respecto al control en todos los tratamientos excepto T1C1. El control presenta un MFI de 72.7, mientras que la papaína tratada con papaína muestra incrementos notables, especialmente T2C1 (92.8), T4C1 (104.9) y T5C1 (108.7).

A las 24 horas, el incremento es aún más evidente. El control sube a 96.2, pero los tratamientos modificados superan ampliamente este valor, alcanzando 180.8 en T4C1 y 220.2 en T5C1, lo que demuestra un efecto dependiente tanto del tiempo como del tipo de tratamiento aplicado a la papaína. Esta tendencia es consistente con estudios donde la papaína mostró un aumento sustancial del MFI conforme avanza el tiempo de exposición, incluso en concentraciones bajas, debido a su capacidad para hidrolizar proteínas como actina, miosina y troponina (Shin et al., 2008).

A las 48 horas, la tendencia se mantiene. El control presenta 134.8, mientras que los tratamientos llegan a valores muy superiores: 168.8 en T2C1, 153.6 en T4C1, y

especialmente 265.9 en T5C1, el valor más alto de todos. Al aumentar el tiempo de marinado, el índice de fragmentación de miofibrillas (MFI) aumenta gradualmente. Esto indica que la integridad miofibrilar empeoró con el tiempo de marinado, mientras que la ternura de la carne mejoró (Cheng et al., 2020).

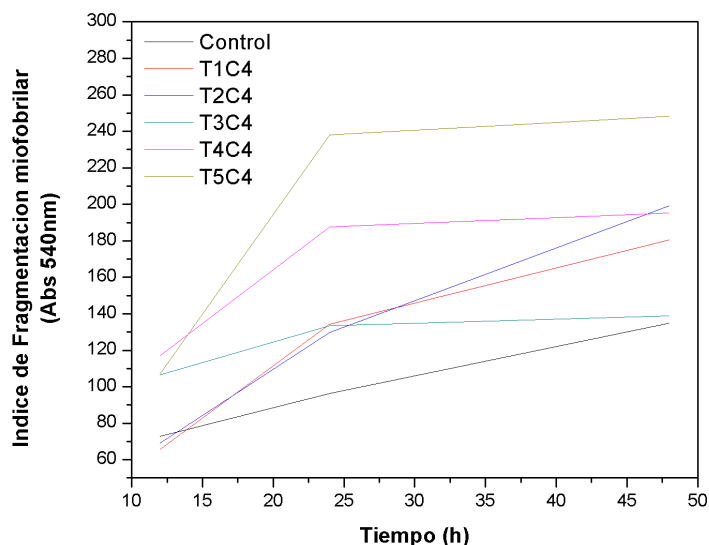


Figura 7: Índice de Fragmentación Miofibrilar (IMF) concentración 0.004%(C4) (Elaboración propia)

Los resultados obtenidos para la concentración 0.004% (C4) (Figura 7) muestran un incremento en el Índice de Fragmentación Miofibrilar (MFI) en todos los tratamientos con papaína, lo cual muestra que esta concentración tiene un efecto más intenso sobre la degradación estructural del músculo en comparación con C1 (0.001%). Desde las 12 horas ya se observan aumentos relevantes: el control presenta un MFI de 72.7, mientras que los tratamientos muestran valores superiores, destacando T3C4 (106.5), T4C4 (116.9) y T5C4 (107).

A las 24 horas el comportamiento se vuelve más alto. Mientras el control alcanza un MFI de 96.2, los tratamientos superan ampliamente este valor: T1C4 (134.3), T2C4 (129.7), T3C4 (133.5), T4C4 (187.7) y T5C4 (237.9). Lo más notable es que los tratamientos con molienda más prolongada (como T4 y T5) presentan incrementos mucho más elevados, lo cual concuerda con estudios que reportan que la papaína puede incrementar la fragmentación miofibrilar de forma dependiente del tiempo y de la intensidad de activación previa de la enzima (Shin et al., 2008).

A las 48 horas, los efectos se acentúan aún más. El control alcanza 134.8, pero todos los tratamientos superan este valor de forma considerable. Los tratamientos T2C4 (199.2), T4C4 (195.1) y especialmente T1C4 (180.4) y T5C4 (248.4) muestran una marcada proteólisis miofibrilar.

La conducta de T5C4 es especialmente relevante: con un MFI de 248.4 a las 48 h, demuestra que la papaína sometida a tiempos prolongados de molienda tiene una actividad enzimática altamente mejorada. Esto coincide con observaciones de que la modificación física de proteasas puede aumentar su área superficial, inducir cambios conformacionales y facilitar el acceso a los sitios catalíticos, elevando su actividad sin necesidad de aumentar la concentración (Athari et al., 2021).

7.7 pH

En la concentración 0.001% (C1) (Figura 8), los valores de pH mostraron un incremento gradual conforme avanzó el tiempo de marinado en todos los tratamientos con papaína, mientras que el control permaneció constante en 5.8 durante las 12, 24 y 48 horas.

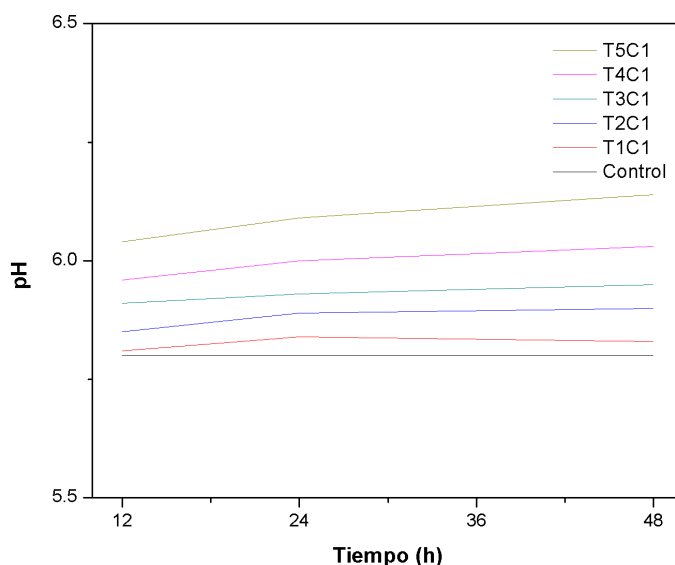


Figura 8: Variación de pH de la concentración 0.001% (C1) con respecto al tiempo de marinado (Elaboración propia)

A las 12 horas, los tratamientos variaron entre 5.82 (T2C1) y 5.90 (T5C1). A las 24 horas, el rango se elevó ligeramente entre 5.86 (T1C1 y T2C1) y 5.95 (T5C1). Finalmente, a las

48 horas, los valores aumentaron entre 5.85 (T1C1) y 6.00 (T5C1), mostrando que el mayor incremento ocurrió en el tratamiento T5C1, correspondiente a la papaína molida por mayor tiempo (molienda de 120 minutos)

El incremento de pH fue más visible en los tratamientos T4C1 y T5C1, lo cual sugiere que la reducción del tamaño de partícula por molienda influyó en la intensidad del cambio de pH observado.

En el artículo (*Oxidative Stability of Fermented Meat Products | Request PDF*, n.d.) la elevación gradual del pH puede atribuirse a la hidrólisis de proteínas miofibrilares generada por la papaína, que libera péptidos y compuestos nitrogenados básicos que incrementan ligeramente la alcalinidad del músculo. Este fenómeno es bien documentado por quienes explican que la actividad enzimática durante procesos de ablandamiento o maduración modifica el microentorno químico del tejido, elevando el pH superficial.

En la concentración 0.004% (C4) (Figura 9), los valores de pH mostraron incrementos más marcados que en la concentración C1. Mientras que el control permaneció constante en 5.8 durante las 12, 24 y 48 horas, los tratamientos con papaína evidenciaron mayores aumentos de pH conforme avanzó el tiempo.

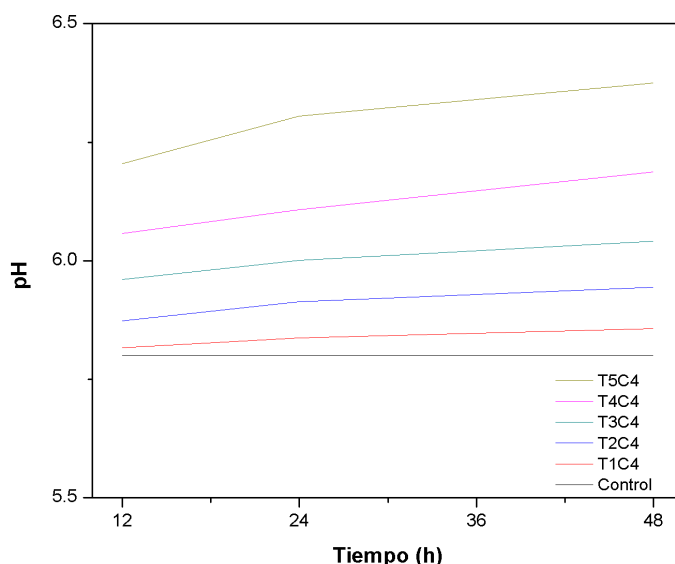


Figura 9: Variación de pH de la concentración 0.004% (C4) con respecto al tiempo de marinado (Elaboración propia)

A las 12 horas, los valores variaron entre 5.86 (T1C4) y 5.98 (T5C4), siendo ya superiores a sus equivalentes en C1 (que variaron de 5.82 a 5.90). Esto sugiere que desde etapas tempranas la mayor concentración de papaína favorece una mayor liberación de compuestos básicos.

A las 24 horas, los incrementos fueron más notorios, con valores entre 5.88 (T1C4) y 6.08 (T5C4). Nuevamente, todos los tratamientos superaron a los de C1 en la misma hora, indicando un efecto claro de la concentración sobre la modificación química del músculo.

Finalmente, a las 48 horas, los tratamientos alcanzaron los valores más altos: entre 5.90 (T1C4) y 6.15 (T5C4). En esta etapa, T4C4 y T5C4 mostraron los mayores incrementos, con diferencias de hasta 0.20 de pH respecto a C1, lo que coincide con la mayor eficiencia catalítica esperada en las enzimas sometidas a más tiempo de molienda.

Este comportamiento coincide con lo señalado por (Naveena et al., 2004), quienes describen que concentraciones más altas de proteasas generan mayor hidrólisis y, en consecuencia, mayor liberación de compuestos nitrogenados básicos capaces de elevar el pH del músculo.

7.8 Análisis de Perfil de Textura (TPA)

Tabla 4: TPA con 12 h de marinación en concentración 0.001% (C1)

Muestra	Ciclo de dureza (N)	Elasticidad (mm)	Gomosidad (N)	Cohesividad	Masticabilidad (g·cm)
Control	29.74	3.77	16.22	0.55	623.4
T1	14.66	3.35	4.51	0.31	154
T2	18.49	4.64	12.49	0.68	590.9
T3	15.86	4	9.15	0.58	373.3
T4	33.49	3.26	16.64	0.5	553
T5	14.9	3.26	7.28	0.49	242.1

Tabla 5: TPA con 12 h de marinación en concentración 0.004% (C4)

Muestra	Ciclo de dureza (N)	Elasticidad (mm)	Gomosidad (N)	Cohesividad	Masticabilidad (g·cm)
Control	24.16	3.71	12.06	0.5	456
T1	29.93	3.54	16.49	0.55	595.4
T2	26.22	4.4	18.35	0.7	823.5
T3	23.93	3.56	16.13	0.67	585.4
T4	15.67	3.58	10.18	0.65	371.6
T5	15.67	3.58	10.18	0.65	371.6

Tabla 6: TPA con 24 h de marinacion en concentración 0.001% (C1)

Muestra	Ciclo de dureza (N)	Elasticidad (mm)	Gomosidad (N)	Cohesividad	Masticabilidad (g-cm)
Control	29.1	2.28	2.28	0.23	52.9
T1	13.75	3.65	7.76	0.56	286
T2	1.52	2.28	0.28	0.18	6.5
T3	10.72	3.13	6.08	0.57	194.1
T4	19.72	3.78	11.35	0.58	437.5
T5	12.86	3.61	6.02	0.47	221.6

Tabla 7: TPA con 24 h de marinacion en concentración 0.004% (C4)

Muestra	Ciclo de dureza (N)	Elasticidad (mm)	Gomosidad (N)	Cohesividad	Masticabilidad (g-cm)
Control	29.1	2.28	2.28	0.23	52.9
T1	7.6	2.89	3.35	0.44	98.8
T2	19.58	4.32	10.81	0.55	476.3
T3	8.61	4.27	5.47	0.64	238.3
T4	16.19	3.59	9.21	0.57	334.3
T5	12.15	3.68	7.88	0.65	295.7

Tabla 8: TPA con 48 h de marinacion en concentración 0.001% (C1)

Muestra	Ciclo de dureza (N)	Elasticidad (mm)	Gomosidad (N)	Cohesividad	Masticabilidad (g-cm)
Control	30.25	3.58	17.86	0.59	652.1
T1	27.23	4.09	16.14	0.59	673
T2	10.45	4.21	6.19	0.59	265.9
T3	35.89	3.5	21.09	0.59	752.9
T4	32.89	3.49	19.15	0.58	681.5
T5	21.55	3.7	13.57	0.63	512.1

Tabla 9: TPA con 48 h de marinacion en concentración 0.004% (C4)

Muestra	Ciclo de dureza (N)	Elasticidad (mm)	Gomosidad (N)	Cohesividad	Masticabilidad (g-cm)
Control	30.25	3.58	17.86	0.59	652.1
T1	10.06	3.58	5.66	0.56	206.5
T2	24.73	3.43	11.9	0.48	416.1
T3	5.87	2.17	1.89	0.32	141.7
T4	21.56	3.02	9.94	0.46	306
T5	20.16	3.24	5.19	0.26	171.4

Del análisis de Perfil de Textura (TPA) realizado, se desprende que, al utilizar las concentraciones de papaína C1 y C4 como agentes ablandadores, los mejores resultados se obtuvieron en las muestras T2 (30 minutos de molienda) y T5 (240 minutos de molienda). Esto indica que estas combinaciones de tiempo de molienda y concentración de papaína fueron las más efectivas para mejorar las propiedades texturales de la carne.

En este contexto, C1 y C4 se refieren a diferentes concentraciones de papaína utilizadas para ablandar la carne. Los resultados sugieren que, en estas concentraciones específicas, las muestras T2 y T5 lograron un mayor grado de ablandamiento, probablemente debido a una mejor interacción entre la enzima y las proteínas musculares de la carne. El tratamiento mecánico previo (molienda) parece haber favorecido la acción de la papaína al alterar la estructura de las fibras musculares, facilitando la penetración y acción enzimática.

En conclusión, las muestras T2 y T5, tratadas con las concentraciones de papaína C1 y C4, presentaron las mejores características texturales en términos de ablandamiento, lo que las hace ideales para aplicaciones donde se busca carne más tierna y agradable al paladar. Esto resalta la importancia de optimizar tanto la concentración de enzima como el tiempo de molienda para obtener resultados óptimos en la mejora de la textura cárnica (Mabrouki et al., 2023; Rashid et al., 2021; Z. Y. Wang et al., 2025)

7.9 Pérdida por cocción

La pérdida por cocción (PPC) en muestras marinadas con papaína a concentración 0.001% (C1) mostró diferencias claras entre condiciones de marinado por 4h a medio ambiente a 25°C y refrigeración a 5°C (Figura 10 y 11).

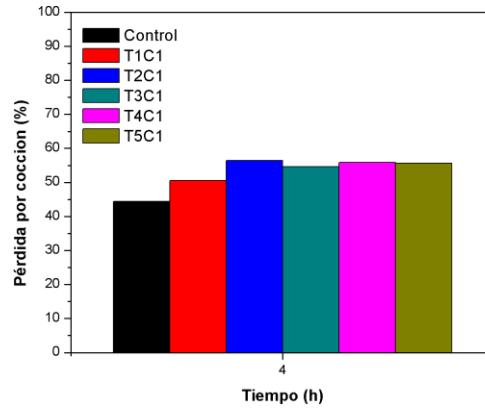


Figura 10: Pérdida por cocción (%) de carne marinada a C1 por 4h a medio ambiente 25°C (Elaboración propia)

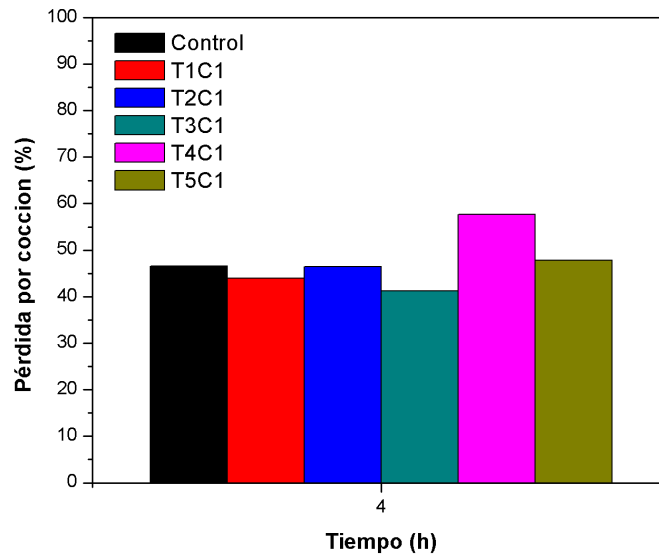


Figura 11: Pérdida por cocción (%) de carne marinada a C1 por 4h en refrigeración 5°C (Elaboración propia)

A 5 °C, los valores oscilaron entre 41.20 % y 57.65 %, mientras que a 25 °C se registraron pérdidas entre 44.44 % y 56.37 %. En general, los tratamientos a temperatura ambiente tendieron a presentar PPC ligeramente mayores que los observados en refrigeración.

En el caso de T3C1, que fue uno de los tratamientos con menor pérdida en refrigeración (41.20 %), incrementó notablemente a 54.61 % a 25 °C. De igual manera, T1C1 pasó de 43.96 % a 50.56 %, lo que sugiere que el aumento de temperatura favoreció una mayor desnaturalización proteica y, por tanto, una mayor pérdida de agua durante el cocinado.

El tratamiento que presentó la mayor pérdida en refrigeración fue T4C1 (57.65 %), superando incluso al control (46.62 %). A temperatura ambiente, la mayoría de los tratamientos superaron al control (44.44 %) en PPC, destacando T2C1, T3C1, T4C1 y T5C1, con valores cercanos o superiores al 55 %.

Estos resultados coinciden con lo establecido en la literatura, donde se describe que el incremento de temperatura previo a la cocción acelera la actividad enzimática, lo que provoca mayor proteólisis, pérdida de integridad miofibrilar y un consecuente incremento de la pérdida de agua durante la cocción. Asimismo, la papaína es especialmente activa a temperaturas cercanas a 25–37 °C, lo que explicaría la mayor pérdida por cocción observada en ambiente en comparación con refrigeración (Naveena et al., 2004).

En la concentración 0.004% (C4), la pérdida por cocción mostró diferencias notables entre los marinado a refrigeración (5 °C) y temperatura ambiente (25 °C) (Figura 12 y 13).

A 5 °C, los valores de PPC fluctuaron entre 36.87 % y 51.58 %, destacando T4C4 como el tratamiento con menor pérdida (36.87 %), mientras T3C4 presentó la mayor (51.58 %).

Los tratamientos T1C4, T2C4 y T5C4 mostraron valores relativamente cercanos al control (46.62 %), lo que indica que a esta temperatura la acción de la papaína fue más moderada.

En contraste, a 25 °C los valores aumentaron de manera consistente, ubicándose entre 50.71 % y 55.92 %, con todos los tratamientos superando al control (44.44 %) y también a los valores registrados en refrigeración. Por ejemplo, T1C4 se incrementó de 46.52 % (5 °C) a 55.92 % (25 °C), mientras T4C4 subió de 36.87 % a 55.88 %, lo que representa uno de los aumentos más marcados.

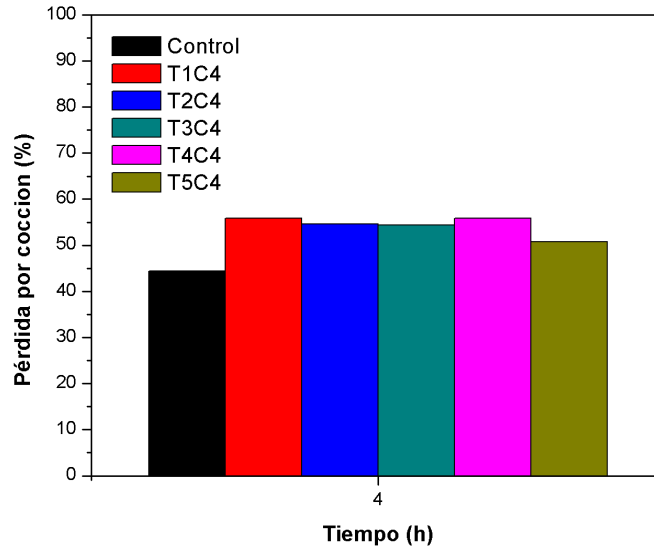


Figura 12: Pérdida por cocción de carne marinada a C4 por 4h en medio ambiente 25°C (Elaboración propia)

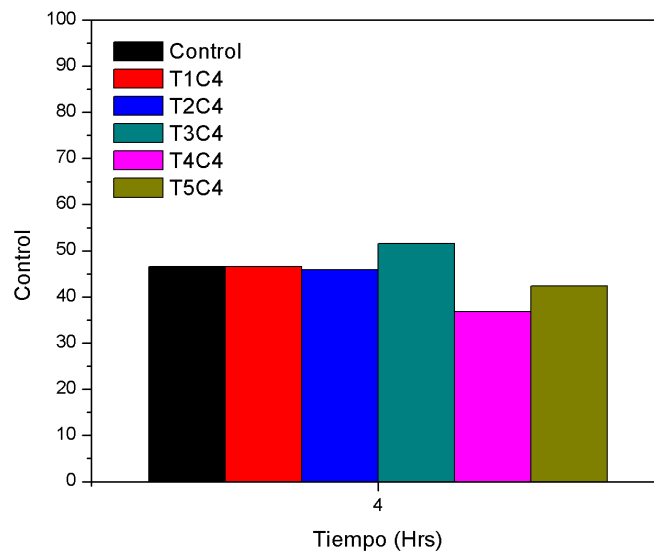


Figura 13: Pérdida por cocción (%) de carne marinada a C4 por 4h en refrigeración 5°C (Elaboración propia)

En el artículo (Monti et al., 2000) en la cual señala que las enzimas proteolíticas como la papaína presentan mayor actividad alrededor de 25–37 °C, promoviendo una degradación más acelerada de las proteínas miofibrilares. Esta proteólisis incrementada

reduce la cohesión de la estructura muscular, facilitando la expulsión de agua durante la cocción, lo que se traduce en una mayor merma térmica.

7.10 Rendimiento por cocción

En la concentración 0.001% (C1), el rendimiento por cocción en refrigeración mostro valores que varían entre 42.35 % y 58.80 %, con el rendimiento más alto en T3C1 (58.80 %) y el más bajo en T4C1 (42.35 %). La mayoría de los tratamientos superaron al control (53.38 %), indicando que a esta temperatura la papaína no incrementó las mermas y, en algunos casos, favoreció una mejor retención de agua durante la cocción.

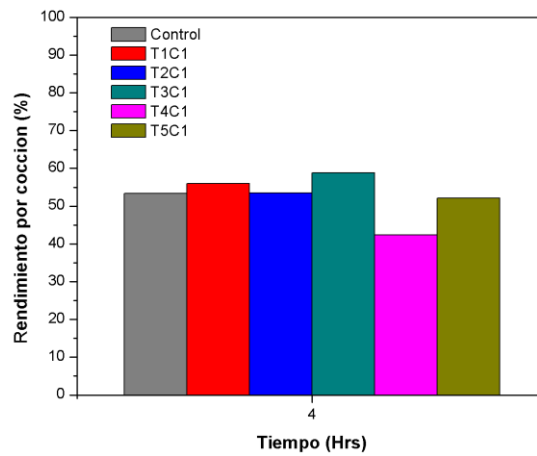


Figura 14: Rendimiento por cocción (%) de carne marinada a C1 por 4h en refrigeración 5°C (Elaboración propia)

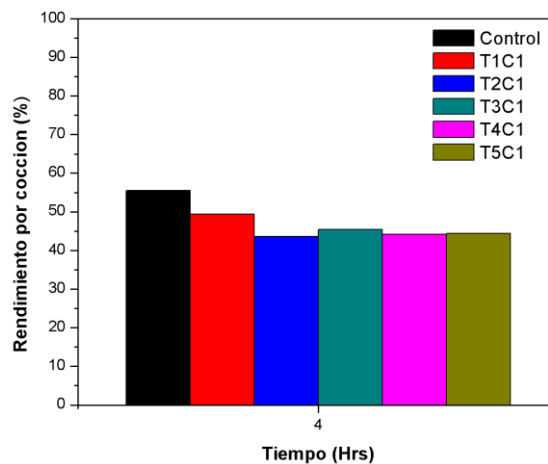


Figura 15: Rendimiento por cocción (%) de carne marinada a C1 por 4h en refrigeración 5°C (Elaboración propia)

En contraste, a 25 °C el rendimiento disminuyó de manera significativa en casi todos los tratamientos, con valores entre 43.63 % y 49.44 %, todos por debajo del control (55.56 %). Los tratamientos T2C1, T3C1, T4C1 y T5C1 registraron rendimientos cercanos al 44–45 %, mostrando una caída considerable frente a sus valores en refrigeración.

Estudios aplicados a otras enzimas proteolíticas también señalan que un marinado en condiciones templadas incrementa las pérdidas por cocción y reduce el rendimiento, debido al debilitamiento de la matriz muscular (Naveena et al., 2004).

En la concentración 0.004% (C4), el rendimiento por cocción presentó diferencias marcadas entre los tratamientos marinados en refrigeración y aquellos a temperatura ambiente.

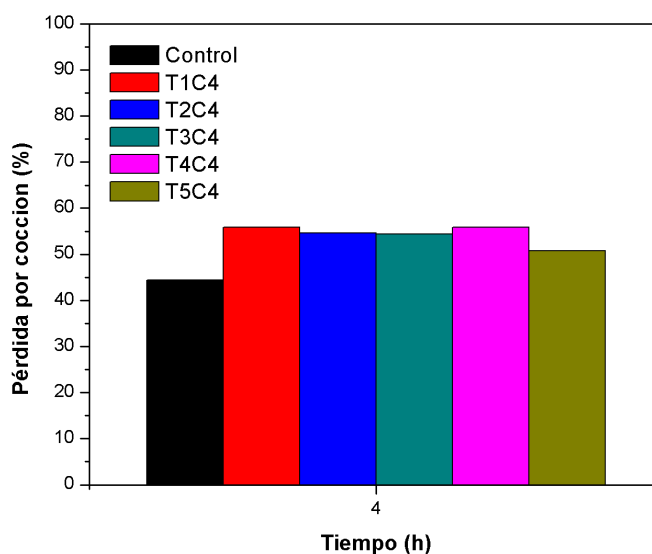


Figura 16: Rendimiento por cocción (%) de carne marinada a C4 por 4h en medio ambiente 25°C (Elaboración propia)

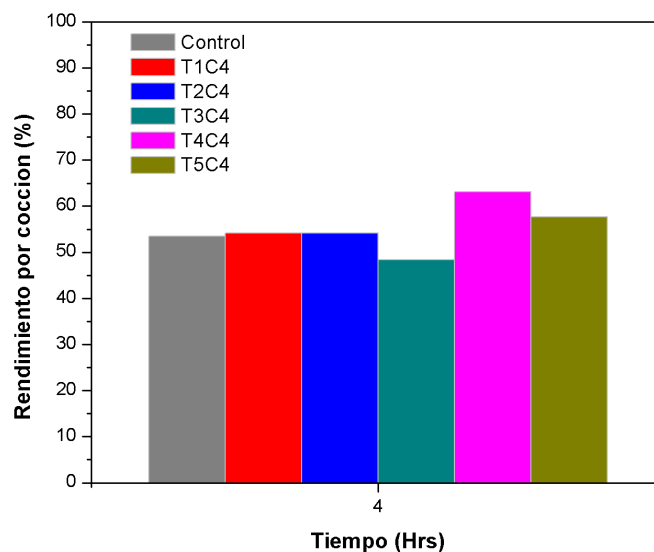


Figura 17: Rendimiento por cocción (%) de carne marinada a C4 por 4h en refrigeración 5°C (Elaboración propia)

En 5 °C, los valores oscilaron entre 48.42 % y 63.13 %, siendo T4C4 el tratamiento con mayor rendimiento (63.13 %) y T3C4 el menor (48.42 %). La mayoría de los tratamientos superaron al control (53.48 %), destacando que T1C4, T2C4 y T5C4 mostraron rendimientos elevados y cercanos entre sí (54.13–57.66 %).

Por el contrario, en 25 °C los valores disminuyeron significativamente, ubicándose entre 44.08 % y 49.28 %. Todos los tratamientos quedaron por debajo del control (55.56 %), y particularmente T1C4, T2C4, T3C4 y T4C4 se agruparon alrededor de 44–45 %, lo cual representa una reducción notable respecto a sus valores obtenidos en refrigeración.

8 CONCLUSIONES

Los análisis realizados confirman que la molienda ultrafina altera significativamente las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la papaína, lo que repercute directamente en su eficacia como agente ablandador de carne. Mediante Difracción de Rayos X (DRX), se demostró una reducción en el tamaño de cristalito de la papaína a medida que se incrementó el tiempo de molienda, alcanzando un mínimo en la muestra T3 (13 nm). Este fenómeno es indicativo de la fragmentación y desorden estructural inducidos por el tratamiento mecánico. Aunque en la muestra T5 se observó un ligero aumento en el tamaño de cristalito (18 nm), sugiriendo una posible recristalización parcial, el análisis FTIR ratificó la presencia de los grupos funcionales característicos de la enzima, mientras que el análisis por Fluorescencia de Rayos X (FRX) confirmó que la contaminación por zirconia del proceso de molienda se mantuvo por debajo del límite establecido del 1%.

En cuanto a la actividad enzimática, la cuantificación proteica por el método Lowry reveló que el tratamiento T3 (60 minutos de molienda) presentó consistentemente las mayores concentraciones de proteína cuantificable. Por el contrario, el tratamiento T5 (240 minutos) mostró los valores más bajos, posiblemente debido a la agregación o apelmazamiento de partículas ultrafinas, lo que limitaría la accesibilidad de los grupos funcionales reactivos. A pesar de esto, la evaluación de la capacidad ablandadora a través del Índice de Fragmentación Miofibrilar (MFI) demostró que los tratamientos con mayor tiempo de molienda (T4 y T5) fueron los más efectivos, alcanzando el valor más alto con T5C4 (248.4 de MFI a 48 h). Este resultado sugiere que la modificación física de la enzima, al aumentar su área superficial y facilitar el acceso a los sitios catalíticos, potencia su eficiencia catalítica en el músculo.

Finalmente, el análisis de Perfil de Textura (TPA) identificó a las muestras T2 y T5 (en ambas concentraciones, C1 y C4) como las combinaciones óptimas para el ablandamiento de la carne. Las propiedades tecnológicas estuvieron fuertemente influenciadas por la temperatura de marinado: la Pérdida por Cocción (PPC) y la consecuente reducción del rendimiento fueron significativamente mayores a 25 °C, ya que esta temperatura es óptima para acelerar la actividad proteolítica de la papaína, lo que incrementa la degradación miofibrilar y la merma de agua. Por el contrario, el marinado en refrigeración (5 °C) mostró una acción más controlada, lo que en algunos

tratamientos (como T3C1 y T4C4) se tradujo en un rendimiento por cocción superior al del control.

En resumen, la optimización del tiempo de molienda es crítica, ya que la fragmentación estructural generada por la molienda (especialmente en T5) se asocia con una actividad enzimática superior en la matriz muscular (MFI), a pesar de las posibles limitaciones de solubilidad detectadas por Lowry. Esto subraya la importancia de controlar tanto la concentración de la enzima como el tiempo de molienda para alcanzar las mejores características texturales deseadas en la carne

9 LITERATURA CITADA

Alejandro, J., Barrios Escuela, G., & Panamericana, A. (n.d.). *Maduración de carne vacuna: beneficios, prácticas y retos en la industria cárnica: Revisión de Literatura.*

Alim24358 Vol. 24 No. 1 (2025). (n.d.). Retrieved December 8, 2025, from <https://rmiq.org/iqfvp/Numbers/V24/No1/Alim24358.html>

Alimenticia"e, I., Aguirre, A., & Castillo, P. (n.d.). "Extracción y Estudio Comparativo de las Enzimas Proteolíticas del Fruto Toronche (*Carica-Stipulata*) y de la Papaya (*Carica-Papaya*) y su Aplicación en la.

Alonso, N. C., Sala, G. R., Sanahuja, A. B., & García, A. V. (2025). Comprehensive study of lignocellulosic fraction, structural and chemical composition, mineral profile, in vitro antioxidant activity, and phenolic profile of papaya crop byproducts. *Industrial Crops and Products*, 224. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.120395>

Amri, E., & Mamboya, F. (2012). Papain, a plant enzyme of biological importance: A review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 8(2), 99–104. <https://doi.org/10.3844/AJBBSP.2012.99.104>

Arce, C., & Krátký, L. (2025). Comparing the Impact of Knife and Ball Milling of Beech Chips on the Particle Size Characteristics. *Waste and Biomass Valorization 2025*, 1–14. <https://doi.org/10.1007/S12649-025-03119-0>

Ashie, I. N. A., Sorensen, T. L., & Nielsen, P. M. (2002). Effects of Papain and a Microbial Enzyme on Meat Proteins and Beef Tenderness. In *2138 JOURNAL OF FOOD SCIENCE* (Vol. 67).

Athari, B., Nasirpour, A., Saeidy, S., & Esehaghbeygi, A. (2021). Physicochemical properties of whipped cream stabilized with electrohydrodynamic modified cellulose. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(9), e15688. <https://doi.org/10.1111/JFPP.15688>;SUBPAGE:STRING:ABSTRACT;WEBSITE:WEBSITE:PERICLES;JOURNAL:JOURNAL:17454549;ISSUE:ISSUE:DOI

Beik, E., Bass, P., Dikeman, M., & Calkins C. R. (2016). *RESEARCH GUIDELINES FOR COOKERY, SENSORY EVALUATION, AND INSTRUMENTAL TENDERNESS MEASUREMENTS OF MEAT Second Edition.* <http://www.meatscience.org/sensory>

Carolina Jaramillo Recalde Zamorano, A. (2016). *Efecto de dos métodos de maduración en las características físicas, microbiológicas y sensoriales del músculo Longissimus dorsi de res.*

Cheng, Y., Jiang, X., Xue, Y., Qi, F., Dai, Z., Guan, D., & Kong, L. (2020). Effect of three different proteases on horsemeat tenderness during postmortem aging.

Journal of Food Science and Technology, 58(7), 2528.
<https://doi.org/10.1007/S13197-020-04759-X>

Cortez A. C., Jaramillo A., & Robalino J. M. (2025). *EVALUACIÓN DEL IMPACTO DE LA PAPAÑA EN LA CALIDAD SENSORIAL DE CARNE DE RES*.
<https://doi.org/https://doi.org/10.56519/yn4snn98>

De, C., De, P., Para, H., & Carne, L. A. (n.d.). *CXC 58-2005 Pagina 1 of 54*.

De Lourdes Pérez-Chabela, M., & Totosaús, A. (2022). *Métodos de ablandamiento de la carne y su efecto sobre la textura Methods for meat tenderization and their on texture* * (Vol. 16, Issue 2).

Diego Braña Varela, Ericka Ramírez Rodríguez, María de la Salud Rubio, Lozano Armida Sánchez, Escalante Gastón Torrescano Urrutia, María Lilia Arenas de Moreno, José Armando, Partida de la Peña Edith, Ponce Alquicira Francisco, & Gerardo Ríos Rincón. (2011). *análisis de calidad en muestras de carne*.

dos Anjos, M. M., da Silva, A. A., de Pascoli, I. C., Mikcha, J. M. G., Machinski, M., Peralta, R. M., & de Abreu Filho, B. A. (2016). Antibacterial activity of papain and bromelain on *Alicyclobacillus* spp. *International Journal of Food Microbiology*, 216, 121–126.
<https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2015.10.007>

Fatimah, S., Ragadhita, R., Fitria, D., Husaeni, A., Bayu, A., & Nandiyanto, D. (2021). *How to Calculate Crystallite Size from X-Ray Diffraction (XRD) using Scherrer Method*. <https://doi.org/10.17509/ijost.v6ix>

Francisco Yáñez, & Jaime A. Hernández. (2015). “*CARICA PAPAYA L.*”

Gao, C., Xiao, W., Ji, G., Zhang, Y., Cao, Y., & Han, L. (2017). Regularity and mechanism of wheat straw properties change in ball milling process at cellular scale. *Bioresource Technology*, 241, 214–219.
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2017.04.115>

Geletu, U. S., Usmael, M. A., Mummed, Y. Y., & Ibrahim, A. M. (2021). Quality of Cattle Meat and Its Compositional Constituents. *Veterinary Medicine International*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/7340495>

Gleiter, H. (2000). Nanostructured materials: basic concepts and microstructure. *Acta Materialia*, 48(1), 1–29. [https://doi.org/10.1016/S1359-6454\(99\)00285-2](https://doi.org/10.1016/S1359-6454(99)00285-2)

Gokoglu, N., Yerlikaya, P., Ucak, I., & Yatmaz, H. A. (2017). Effect of bromelain and papain enzymes addition on physicochemical and textural properties of squid (*Loligo vulgaris*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(1), 347–353. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9403-3>

Guitou H.1, Monti A.M.1, S. G. 1, Baluk M.I.1, Ellinger A.M.1, Bustillo A.2, Fernández Alt Matilla S.3, Saez G.3, Pérez Lloret J.3, & Herrmann P.3 y Schijman A.4. (2008). *TERNEZA, SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES*

MOLECULARES (SAM). *Angus, Bs. As*, 242, 33–40. www.produccion-animal.com.ar

Helmut Bethancourt y Ramón Martínez. (2017). *Vista de Uso de la prueba molecular Igenity para seleccionar bovinos mestizos con genes que favorecen la ternera de la carne*. *Revista APF*.
<https://www.sodiaf.org.do/apf/index.php/apf/article/view/72/67>

Homaei, A. A., Sajedi, R. H., Sariri, R., Seyfzadeh, S., & Stevanato, R. (2009). Cysteine enhances activity and stability of immobilized papain. *Amino Acids* 2009 38:3, 38(3), 937–942. <https://doi.org/10.1007/S00726-009-0302-3>

Hwang, Y. H., Kim, G. D., Jeong, J. Y., Hur, S. J., & Joo, S. T. (2010). The relationship between muscle fiber characteristics and meat quality traits of highly marbled Hanwoo (Korean native cattle) steers. *Meat Science*, 86(2), 456–461. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2010.05.034>

ISO 5492:2008. (n.d.). Retrieved November 15, 2025, from <https://www.iso.org/obp/ui/es/#iso:std:iso:5492:ed-2:v1:en>

Jefferies, L. K. (2011). *MICROBIOLOGICAL, THERMAL INACTIVATION, AND SENSORY CHARACTERISTICS OF BEEF EYE-OF-ROUND SUBPRIMALS AND STEAKS PROCESSED WITH HIGH-PRESSURE NEEDLELESS INJECTION*.

Jeremiah, L. E. (1996). The influence of subcutaneous fat thickness and marbling on beef: Palatability and consumer acceptability. *Food Research International*, 29(5–6), 513–520. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(96\)00049-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(96)00049-X)

Ji, G., Han, L., Gao, C., Xiao, W., Zhang, Y., & Cao, Y. (2017). Quantitative approaches for illustrating correlations among the mechanical fragmentation scales, crystallinity and enzymatic hydrolysis glucose yield of rice straw. *Bioresource Technology*, 241, 262–268.
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2017.05.062>

Joo, S. T., Kim, G. D., Hwang, Y. H., & Ryu, Y. C. (2013a). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 95(4), 828–836. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2013.04.044>

Joo, S. T., Kim, G. D., Hwang, Y. H., & Ryu, Y. C. (2013b). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 95(4), 828–836. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2013.04.044>

Kim, G.-D., Jeong, J.-Y., Hur, S.-J., Yang, H.-S., Jeon, J.-T., & Joo, S.-T. (2010). The Relationship between Meat Color (CIE L * a n d a *), Myoglobin Content, and Their Influence on Muscle Fiber Characteristics and Pork Quality. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour*, 30(4), 626–633.

KLINMALAI, P., LEELAPATARAPUN, J., WONGPHAN, P., & HARNKARNSUJARIT, N. (2025). Enzyme-Loaded Thermoplastic Starch Films Incorporating Papain

- and Bromelain for Active Meat Tenderization. *Future Foods*, 100855. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2025.100855>
- Kozhakhievaya, M., Kaldarbekova, M., & Kurmanbekova, A. (2025). Proteolytic enzymes for improving the properties of meat products from non-traditional raw materials. *The Journal of Almaty Technological University*, 147(1), 63–70. <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2025-1-63-70>
- Mabrouki, S., Brugiapaglia, A., Glorio Patrucco, S., Tassone, S., & Barbera, S. (2023). Texture profile analysis of homogenized meat and plant-based patties. *International Journal of Food Properties*, 26(2), 2757–2771. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2255758>
- Madhusankha, G. D. M. P., & Thilakarathna, R. C. N. (2021). Meat tenderization mechanism and the impact of plant exogenous proteases: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(2), 102967. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2020.102967>
- Ménard, R., Khouri, H. E., Plouffe, C., Dupras, R., Ripoll, D., Vernet, T., Tessier, D. C., Laliberté, F., Thomas, D. Y., & Storer, A. C. (1990). A protein engineering study of the role of aspartate 158 in the catalytic mechanism of papain. *Biochemistry*, 29(28), 6706–6713. <https://doi.org/10.1021/BI00480A021>
- Monti, R., Basilio, C. A., Trevisan, H. C., & Contiero, J. (2000). Purification of Papain from Fresh Latex of *Carica papaya*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 5, 501–507.
- Moreira Filho, R. N. F., Vasconcelos, N. F., Andrade, F. K., Rosa, M. de F., & Vieira, R. S. (2020). Papain immobilized on alginate membrane for wound dressing application. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 194. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111222>
- Naveena, B. M., Mendiratta, S. K., & Anjaneyulu, A. S. R. (2004). Tenderization of buffalo meat using plant proteases from *Cucumis trigonus* Roxb (Kachri) and *Zingiber officinale* roscoe (Ginger rhizome). *Meat Science*, 68(3), 363–369. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2004.04.004>
- Okada, Y. (2013). Proteinases and Matrix Degradation. *Kelley's Textbook of Rheumatology: Volume 1-2, Ninth Edition*, 1, 97–115. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-1738-9.00008-6>
- Olson,¹ D. G., Parrish, F. C., & Stromer, M. H. (1976). *MYOFIBRIL FRAGMENTATION AND SHEAR RESISTANCE OF THREE BOVINE MUSCLES DURING POSTMORTEM STORAGE*.
- Otto, H. H., & Schirmeister, T. (1997). Cysteine Proteases and Their Inhibitors. *Chemical Reviews*, 97(1), 133–171. <https://doi.org/10.1021/CR950025U>
- Oxidative stability of fermented meat products | Request PDF*. (n.d.). Retrieved December 9, 2025, from

https://www.researchgate.net/publication/223974520_Oxidative_stability_of_fermented_meat_products

- Paredes, J., Cortizo-Lacalle, D., Imaz, A. M., Aldazabal, J., & Vila, M. (2022a). Application of texture analysis methods for the characterization of cultured meat. *Scientific Reports* 2022 12:1, 12(1), 3898-. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07785-1>
- Paredes, J., Cortizo-Lacalle, D., Imaz, A. M., Aldazabal, J., & Vila, M. (2022b). Application of texture analysis methods for the characterization of cultured meat. *Scientific Reports* 2022 12:1, 12(1), 3898-. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07785-1>
- Prabhasankar, P., & Haridas Rao, P. (2001). Effect of different milling methods on chemical composition of whole wheat flour. *European Food Research and Technology*, 213(6), 465–469. <https://doi.org/10.1007/s002170100407>
- Prasetya, A. T., Mursiti, S., Maryan, S., & Jati, N. K. (2018). Isolation and Identification of Active Compounds from Papaya Plants and Activities as Antimicrobial. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 349(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/349/1/012007>
- Rashid, A. N. A., Kormin, F., & Asman, S. (2021). QUALITY ANALYSIS OF MEATS USING FTIR SPECTROSCOPY, COLOUR SPECTROPHOTOMETER, TEXTURE ANALYSER AND PHYSICAL IMAGE ANALYSIS. *Journal of Sustainability Science and Management*, 16(1), 103–119. <https://doi.org/10.46754/jssm.2021.01.010>
- Rodríguez, L., & Zambrano Y. M. (2021). *ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ AGROINDUSTRIAS INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL MODALIDAD: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN TEMA: EVALUACIÓN DEL TIEMPO Y PORCENT.... ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ.*
- Sakowski, T., Grodkowski, G., Gołbiewski, M., Slószarz, J., Kostusiak, P., Solarczyk, P., & Puppel, K. (2022). Genetic and Environmental Determinants of Beef Quality—A Review. In *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.819605>
- Scarry, S. C., & Rimoldi, J. M. (2013). Discovery and Development of Prolylcarboxypeptidase Inhibitors for Cardiometabolic Disorders. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 48, 91–103. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417150-3.00007-7>
- Shin, H. G., Choi, Y. M., Kim, H. K., Ryu, Y. C., Lee, S. H., & Kim, B. C. (2008). Tenderization and fragmentation of myofibrillar proteins in bovine longissimus dorsi muscle using proteolytic extract from *Sarcodon aspratus*.

- LWT - Food Science and Technology**, 41(8), 1389–1395.
<https://doi.org/10.1016/J.LWT.2007.08.019>
- Sulim, Y., & del Rocío MERCADO-FLORES, M. (n.d.). *Capítulo I Enzimas proteolíticas: Generalidades y la importancia de las aspartil proteasas fúngicas Chapter I Proteolytic enzymes: Generalities and the importance of the fungal aspartyl proteases*. <https://doi.org/10.35429/H.2019.4.1.15>
- Suryanarayana, C. (2001). Mechanical alloying and milling. *Progress in Materials Science*, 46(1–2), 1–184. [https://doi.org/10.1016/S0079-6425\(99\)00010-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6425(99)00010-9)
- Teira, G. A. (2004). Actualidad y perspectivas de un componente principal de la calidad de carnes bovinas: la terneza*. *Tecnología No*, 28.
- Tema A2a. Materiales: Síntesis mecanoquímica*. (2022).
- Theron, L. W., & Divol, B. (2014). Microbial aspartic proteases: current and potential applications in industry. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(21), 8853–8868. <https://doi.org/10.1007/S00253-014-6035-6>
- Verma, P. K., Rakshit, S., Mitra, R. K., & Pal, S. K. (2011). Role of hydration on the functionality of a proteolytic enzyme α -chymotrypsin under crowded environment. *Biochimie*, 93(9), 1424–1433.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOCHI.2011.04.017>
- Verma, S., Dixit, R., & Pandey, K. C. (2016). Cysteine Proteases: Modes of Activation and Future Prospects as Pharmacological Targets. *Frontiers in Pharmacology*, 7(APR). <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2016.00107>
- Wang, X., Lan, P. C., & Ma, S. (2020). Metal–Organic Frameworks for Enzyme Immobilization: Beyond Host Matrix Materials. *ACS Central Science*, 6(9), 1497–1506. <https://doi.org/10.1021/ACSCENTSCI.0C00687>
- Wang, Z. Y., Ma, Y. Z., Jiang, X. Y., Wang, C. Y., Li, Y. Q., Liang, Y., Ren, X. D., Qin, L. C., & Zhao, X. Z. (2025). Proteolytic and structural mechanisms in tuna tenderization by papain, bromelain and ficin. *Food Chemistry: X*, 30.
<https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.103010>
- Ward, O. P., Rao, M. B., & Kulkarni, A. (2009). Proteases, Production. *Encyclopedia of Microbiology, Third Edition*, 495–511. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00172-3>
- Welzsacker, H., Canales Escuela, D., Panamericana, A., & Honduras, Z. (2013). *Medición de textura de jamón de cerdo Zamorano con los texturómetros Brookfield CT3 e Instron 4444*.