



Revista MINERVA

Plataforma digital de la revista: <https://minerva.sic.ues.edu.sv>

Nota Técnica | Technical Note

Uso de ablandador de carne comercial como sustituto de proteínasa K en la extracción de ADN en tejido animal

Use of commercial meat tenderizer as a substitute for proteinase K in
DNA extraction from animal tissue

Marcela Guadalupe Benítez Martínez^{1,3}, Andrés Enrique Pérez Sánchez^{1,4}, Christian Mauricio Merino Hernández^{1,5}, Carlos Eliseo Guevara Pimentel^{1,6}, Roberto Antonio Navarro Linares^{1,2,7}

¹Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Universidad de El Salvador

²Grupo de Investigación en Bioinformática Estructural, Biomodelos y Biomarcadores

³  <https://orcid.org/0009-0009-9209-1280>

⁴  <https://orcid.org/0009-0007-9495-5148>

⁵  <https://orcid.org/0009-0007-0977-3383>

⁶  <https://orcid.org/0009-0001-4982-0419>

⁷  <https://orcid.org/0009-0003-7196-3365>

RESUMEN

La calidad y pureza del ADN son factores críticos para los estudios de biología molecular y genética, ya que afectan la fiabilidad de aplicaciones como la PCR y la secuenciación. La proteinasa K es una proteasa ampliamente utilizada para la digestión de proteínas durante la extracción de ADN, pero su costo y limitada disponibilidad han motivado la búsqueda de alternativas más accesibles. En este estudio se evaluó el uso de un ablandador de carne comercial con bromelina como sustituto de la proteinasa K en la extracción de ADN de tejido de cola de ratón. Se probaron distintas

DOI: <https://doi.org/10.66778/RM.v09ed01.15>

Enviado: 8 de abril de 2025

Aceptado: 2 de febrero de 2026

Palabras clave: Bromelina, proteasas, extracción de ADN, Proteinasa K, enzimas proteolíticas, tejido animal.

Keywords: Bromelain, proteases, DNA extraction, proteinase K, proteolytic enzymes, animal tissue.



Este contenido está protegido bajo la licencia CC BY
(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

concentraciones del ablandador (0.5 g, 1 g y 2 g por 10 ml de agua) y se compararon con un control positivo con proteínasa K y un control negativo con agua ultrapura. La calidad del ADN se determinó mediante espectrofotometría, evaluando los cocientes A260/A280 y A260/A230, mientras que la concentración se estimó a partir de la absorbancia a 260 nm. Los resultados mostraron que la concentración y pureza del ADN fueron óptimas en el tratamiento de 1 g de bromelina, logrando un equilibrio adecuado entre rendimiento y reproducibilidad. Aunque la proteínasa K produjo mayores cantidades de ADN, presentó contaminación proteica. Estos hallazgos sugieren que la bromelina es una alternativa económica y viable para laboratorios con recursos limitados, garantizando ADN de calidad suficiente para aplicaciones moleculares.

ABSTRACT

The quality and purity of DNA are critical factors in molecular biology and genetics studies, as they affect the reliability of applications such as PCR and sequencing. Proteinase K is a widely used protease for protein digestion during DNA extraction, but its cost and limited availability have motivated the search for more accessible alternatives. In this study, a commercial meat tenderizer containing bromelain was evaluated as a substitute for proteinase K in the extraction of genomic DNA from mouse tail tissue. Different concentrations of the tenderizer (0.5 g, 1 g, and 2 g per 10 ml of water) were tested and compared with a positive control using proteinase K and a negative control with ultrapure water. DNA quality was assessed by spectrophotometry, evaluating the A260/A280 and A260/A230 ratios, while concentration was estimated from absorbance at 260 nm. Results showed that the 1 g bromelain treatment provided the best balance between DNA concentration and purity, achieving adequate performance and reproducibility. Although proteinase K yielded higher DNA amounts, it presented

protein contamination. These findings suggest that bromelain is an economical and viable alternative for laboratories with limited resources, providing DNA of sufficient quality for molecular applications.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los estudios sobre la biología molecular y genética de las especies han adquirido una relevancia sin precedentes, para el caso de El Salvador, podemos mencionar estudios sobre el efecto del tipo de hábitat en la diversidad genética de *Artibeus jamaicensis* (Rodríguez et al., 2020), el efecto de la fragmentación del hábitat en la salud genética de *Ateles geoffroyi* (Zaldaña-Orantes et al., 2021) o la diversidad genética en cinco cultivares de *Indigofera suffruticosa* (Moreno-Mendoza y Reyes-Romero, 2025). La obtención de ADN de alta calidad y pureza es indispensable para el éxito en la realización de este tipo de investigaciones, por lo que el estudio de métodos que faciliten y garanticen esta pureza es de vital importancia.

Las proteasas son un tipo de enzimas que catalizan la degradación de proteínas mediante la hidrólisis de sus enlaces peptídicos, estas son esenciales en la etapa de lisis celular en la extracción de ADN ya que destruyen las estructuras formadas por proteínas permitiendo la liberación de los ácidos nucleicos del núcleo celular y destruyendo a aquellas proteínas que puedan degradar el ADN, siendo especialmente utilizada la Proteínasa K (Varma et al., 2007). Diversos estudios proponen la sustitución de la proteínasa K por otras proteasas como la bromelina, papaína y la pepsina, de las cuales, la primera es el principio activo de la mayoría de ablandadores de carne comerciales, que resultan accesibles y económicos. La finalidad del presente estudio es comparar la eficiencia de dos concentraciones de bromelina como sustituto de la proteínasa K, para su uso en la extracción de ADN genómico de tejido animal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de muestras

Las muestras de tejido de cola de ratón fueron proporcionadas por el Laboratorio de Experimentación Animal del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud de la Universidad de El Salvador, con la finalidad de reducir el sufrimiento y número de especímenes necesarios para el estudio, se sacrificaron dos ratones de la cepa Balb/C inmediatamente antes de su utilización, de estos, se tomó su cola completa y se utilizó una variación del protocolo incluido en el kit que permitiera usar fragmentos gruesos de la cola, y no solamente la punta de estas.

Preparación de soluciones

Las soluciones sustitutas de proteinasa K consistieron en la preparación de: (Control negativo, código SPK) agua ultrapura, (Control positivo, código CPK) proteinasa K (proporcionada por el kit), (Tratamiento 1, código 1g) solución preparada adicionando 1 g de ablandador de carne Hermel® disuelto en 10 ml de agua destilada (100mg/ml), (Tratamiento 2, código 2g) solución preparada adicionando 2 g de ablandador de carne Hermel® disuelto en 10 ml de agua destilada (200mg/ml) y (Tratamiento 3, código 0.5g) solución preparada adicionando 0.5 g de ablandador de carne Hermel® disuelto en 10 ml de agua destilada (50mg/ml).

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó en el laboratorio de Biología Molecular de la Escuela de Biología de la Universidad de El Salvador, utilizando el kit comercial PureLink® Genomic DNA Mini Kit, siguiendo el protocolo estándar para la preparación del lisado de cola de rata sugerido por el kit. Se utilizaron fragmentos de 0.5cm de la parte central de la cola de ratón para cada una de las extracciones. Las modificaciones al protocolo estándar incluyeron el reemplazo de la proteinasa K por los tratamientos de 200mg/ml, 100mg/ml y 50mg/ml de ablandador de

carne con bromelina, así como con agua ultrapura como control negativo, realizando tres repeticiones por tratamiento, obteniendo un total de 15 muestras, los detalles del protocolo de extracción pueden consultarse en el anexo 1.

Evaluación de la integridad del ADN

La calidad del ADN se determinó mediante espectrofotometría en el Nano Espectrofotómetro UV/Vis NABI NBI- H, registrando las absorbancias a 260, 280 y 230 nm. A partir de estas mediciones se calcularon los cocientes A_{260}/A_{280} y A_{260}/A_{230} , utilizados como indicadores de pureza frente a contaminación proteica y a compuestos orgánicos o sales, respectivamente, valores de A_{260}/A_{280} cercanos a 1.8 y de A_{260}/A_{230} entre 2.0 y 2.2 se consideran indicativos de ADN de buena calidad. De manera complementaria, la concentración de ADN se estimó a partir de la absorbancia a 260 nm, considerando que un valor de 1.0 corresponde a 50 µg/ml de ADN bicatenario (Promega, 2025).

RESULTADOS

Los parámetros más importantes que se deben considerar en la extracción de ADN son su concentración y pureza. En los resultados obtenidos mediante espectrofotometría, se observan diferencias marcadas entre los tratamientos evaluados. Las muestras tratadas con proteinasa K (CPK) presentaron las concentraciones más elevadas de ADN, con valores cercanos a 90 ng/µl; sin embargo, los cocientes A_{260}/A_{280} fueron ligeramente menores a los valores óptimos, lo que indica la posible presencia de proteínas residuales, y los cocientes A_{260}/A_{230} mostraron variabilidad, sugiriendo contaminación por sales u otros compuestos en algunas réplicas. En contraste, las muestras del tratamiento sin proteinasa K (SPK) mostraron las concentraciones más bajas de ADN (3–7 ng/µl), con cocientes A_{260}/A_{230} bajos, lo que señala una alta proporción

de contaminantes. Las muestras obtenidas con el tratamiento de 2g de ablandador de carne presentaron concentraciones intermedias, pero con una notable variabilidad en la pureza, ya que solo una réplica alcanzó los valores recomendados de A260/A230, mientras que las demás evidenciaron contaminaciones. El tratamiento de 1g se destacó por presentar un equilibrio entre concentración y pureza, con

valores consistentes en todos sus replicados, lo que sugiere una mayor reproducibilidad y confiabilidad del protocolo. Finalmente, las muestras obtenidas con 0.5g mostraron bajas concentraciones de ADN, aunque dos de sus réplicas presentaron cocientes de pureza muy adecuados, mientras que una de ellas resultó con un valor muy bajo en la proporción A260/A230 (tabla 1).

Tabla 1

Lecturas de espectrofotometría de tratamientos evaluados

Muestras	Cc. (ng/μl)	A 260/280	A 260/230	Muestras	Cc. (ng/μl)	A 260/280	A 260/230
CPK	88.30	1.65	0.00*	1g	15.27	1.77	1.71
CPK'	81.00	1.75	2.50	1g'	12.61	2.09	1.11
CPK''	96.85	1.74	1.28	1g''	4.93	1.76	2.15
SPK	7.15	1.83	0.81	0.5g	6.00	1.75	2.75
SPK'	3.92	2.19	0.00*	0.5g'	7.22	1.74	3.06
SPK''	2.92	1.98	0.00*	0.5g''	4.29	2.34	0.00*
2g	6.83	1.68	2.52				
2g'	4.03	2.09	0.60				
2g''	6.43	2.23	0.79				

Leyenda. CPK= Tratamiento proteínasa K, SPK=Sin proteínasa K, 2g= Tratamiento con ablandador de carne 2g, 1g=Tratamiento con ablandador de carne 1g, 0.5g=Tratamiento con ablandador de carne 0.5g. El valor 0.00 indica que no se detectó valor de absorbancia en longitudes de onda 230nm (10mn path), anexo 2.*

En conjunto, los resultados permiten concluir que el tratamiento con 1g ofrece el mejor balance entre rendimiento y pureza de ADN, este balance puede ser atribuido a la composición del ablandador de carne, que incluye además de la bromelina, sacarosa, cloruro de sodio y glutamato monosódico, por lo que podríamos suponer que el tratamiento 2g contenía demasiados contaminantes, mientras que el tratamiento 0.5g no tiene la suficiente actividad proteica para diferenciarse del control negativo, mientras el tratamiento 1g se sitúa entre ambos. El tratamiento con proteínasa K, aunque altamente eficiente en cantidad,

requiere optimización para reducir la presencia de contaminantes proteicos.

DISCUSIÓN

Las proteasas son enzimas que catalizan la hidrólisis de proteínas hacia los aminoácidos que las componen. Esta función es de interés en diferentes procesos comerciales, industriales y científicos, incluyendo su uso en las extracciones de ADN, en las que se ha estandarizado el uso de proteínasa K como la principal proteasa para digestión (Rawlings et al., 2018). Sin

embargo, el elevado costo y baja accesibilidad del compuesto lo hace poco accesible, por lo que puede resultar conveniente considerar otros compuestos capaces de realizar la misma función que la proteinasa K y sean de fácil acceso. En el caso del presente estudio se utilizó un ablandador de carne con la enzima bromelina, la cual se encuentra naturalmente en diferentes partes de planta de piña (Fissore et al., 2023). Eychner y colaboradores (2015) compararon la efectividad de digestión de la bromelina, papaína y proteinasa K, sobre distintas muestras para extracción de ADN. Se concluyó que, para muestras de sangre, saliva, cera de oído, semen y leche materna, se puede implementar el uso de bromelina de manera satisfactoria como sustitutos de la proteinasa K. Resultados similares se encontraron al utilizar bromelina en muestras de oreja roedores, aislando ADN de calidad suficiente para ser amplificado por PCR (González et al., 2015). Cabe destacar que en ambos estudios se usaron presentaciones de bromelina calidad reactivo y calidad fármaco, respectivamente.

Sí bien los resultados de este estudio presentaron una concentración de ADN considerablemente baja al compararlo con el efecto de la proteinasa K, cabe resaltar que la pureza y concentración obtenidas con el tratamiento 1g es lo suficientemente alta para su uso en aplicaciones posteriores a la extracción, ya que estas requieren entre 0.25 y 25 ng de ADN genómico para una reacción de 25 µl (Thermo Fisher Scientific, 2025).

CONCLUSIONES

Este estudio demuestra que la bromelina, presente en ablandadores de carne comerciales, puede actuar como una alternativa accesible y económica a la proteinasa K para la extracción de ADN genómico de tejido animal. Entre las concentraciones evaluadas, el tratamiento de 1g mostró el mejor equilibrio entre concentración y pureza, asegurando resultados reproducibles

y adecuados para aplicaciones moleculares posteriores, como la PCR. Aunque la proteinasa K sigue siendo más eficiente en términos de rendimiento absoluto de ADN, su uso implica mayores costos y riesgo de contaminación proteica. Por lo tanto, la bromelina representa una opción viable para laboratorios con recursos limitados, destacando la importancia de optimizar tanto la concentración de la enzima como las condiciones de extracción para maximizar la calidad del ADN obtenido. Se sugiere fuertemente la continuación de esta línea de investigación, ya que medidas como la purificación de la bromelina y su resuspensión en soluciones con pH, salinidad y concentraciones de cofactores adecuados podría mejorar la acción de esta, pudiéndola así convertir en un sustituto de bajo costo y alta disponibilidad con acción proteolítica indistinguible de la proteinasa K, reduciendo así los costos de un gran número de investigaciones y proyectos.

AGRADECIMIENTOS

Al Grupo de Investigación en Bioinformática Estructural, Biomodelos y Biomarcadores de la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Universidad de El Salvador por aportar parte de los insumos en la fase experimental. Al Laboratorio de Experimentación Animal del Centro en Desarrollo y Salud de la Universidad de El Salvador por facilitar el tejido animal utilizado en esta investigación.

ANEXO 1

Extracción de ADN

Se tomaron fracciones de la punta de la cola (0.5 cm de longitud y 0.8 mg de peso) de 3 ratones de la cepa Balb/C. Las muestras fueron colocadas en tubos Eppendorf estériles con 180 µl de buffer de digestión genómica PureLink® y 20 µl de proteinasa K y ablandador comercial a las concentraciones previamente descritas. Las muestras de tejido fueron incubadas a 55°C con agitación intermitente durante 4 horas y luego dejadas reposar durante toda la noche. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a máxima velocidad (13,000 rpm)

durante 3 minutos a temperatura ambiente para eliminar las partículas no disueltas. El sobrenadante se transfirió a un tubo de microcentrifuga, y se le añadió 20 µl de ARNasa A con agitación breve en vórtex, incubándose durante 2 minutos. Transcurrido el tiempo, se agregó 200 µl de buffer de unión/lisis genómica PureLink® con agitación en vórtex. Seguidamente, se adicionaron 200 µl de etanol (96-100%) y se mezcló bien durante 5 segundos. Finalmente, se procedió con la fijación del ADN conforme al protocolo específico del kit PureLink®, utilizando las columnas de centrifugado y tubos de recogida proporcionados.

ANEXO 2

Tabla 2

Valores de espectrofotometría por muestra

Muestras	CPK	CPK	CPK	SPK	SPK'	SPK''	2g	2g'	2g''	1g	1g'	1g''	0.5g	0.5g'	0.5g''
Concentración	88.30	81.00	96.85	7.15	3.92	2.92	6.83	4.03	6.43	15.27	12.61	4.93	6.00	7.22	4.29
260nm (10mm path)	1.77	1.62	1.94	0.14	0.08	0.06	0.14	0.08	0.13	0.31	0.25	0.10	0.12	0.14	0.09
280nm (10mm path)	1.07	0.93	1.11	0.08	0.04	0.03	0.08	0.04	0.06	0.17	0.12	0.06	0.07	0.08	0.04
230nm (10mm path)	0.00	0.65	1.50	1.84	0.00	0.00	0.05	0.13	0.16	0.18	0.23	0.05	0.04	0.05	0.03
260/280 ratio	1.65	1.75	1.74	1.83	2.19	1.98	1.68	2.09	2.23	1.77	2.09	1.76	1.75	1.74	2.34
260/230 ratio	0.00	2.50	1.28	0.81	0.00	0.00	2.52	0.60	0.79	1.71	1.11	2.15	2.75	3.06	2.97

REFERENCIAS

- Eychner, A. M., Lebo, R. J., & Elkins, K. M. (2015). Comparison of proteases in DNA extraction via quantitative polymerase chain reaction. *Analytical Biochemistry*, 478, 128–130. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2014.08.030>
- Fissore, A., Marengo, M., Santoro, V., Grillo, G., Oliaro-Bosso, S., Cravotto, G., Dal Piaz, F., & Adinolfi, S. (2023). Extraction and characterization of bromelain from pineapple core: A strategy for pineapple waste valorization. *Processes*, 11(7), 2064. <https://doi.org/10.3390/pr11072064>
- Moreno-Mendoza, M. Á., y Reyes-Romero, M. D. (2025). Estudio de la diversidad genética en cultivos de *Indigofera suffruticosa* en El Salvador. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 15(8), e3557. <https://doi.org/10.29312/remexca.v15i8.3557>
- Promega. (2025). *How do I determine the concentration, yield and purity of a DNA sample?* <https://www.promega.com/resources/pubhub/enotes/how-do-i-determine-the-concentration-yield-and-purity-of-a-dna-sample/>
- Rawlings, N. D., Barrett, A. J., Thomas, P. D., Huang, X., Bateman, A., & Finn, R. D. (2018). The MEROPS database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors in 2017 and a comparison with peptidases in the PANTHER database. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D624–D632. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1134>
- Rodríguez, M. E., Ortega, J., Gutiérrez-Espeleta, G., Arévalo, J. E., & Rodríguez-Herrera, B. (2020). Genetic diversity and structure of *Artibeus jamaicensis* in the fragmented landscape of El Salvador. In *Conservation genetics in mammals: Integrative research using novel approaches* (pp. 249–268). https://doi.org/10.1007/978-3-030-33334-8_12
- Thermo Fisher Scientific. (2025). *PCR setup—Six critical components to consider*. <https://www.thermofisher.com/in/en/home/life-science/cloning/cloning-learning-center/invitrogen-school-of-molecular-biology/pcr-education/pcr-reagents-enzymes/pcr-component-considerations.html>
- Varma, A., Padh, H., & Shrivastava, N. (2007). Plant genomic DNA isolation: An art or a science. *Biotechnology Journal*, 2(3), 386–392. <https://doi.org/10.1002/biot.200600195>
- Zaldaña-Orantes, K., Sánchez-Trejo, L., Girón-Galván, L., Rodríguez, M. E., Núñez, G., & Gutiérrez-Espeleta, G. (2021). Genetic diversity of the endangered black-handed spider monkey *Ateles geoffroyi* (Primates: Atelidae) in a fragmented landscape of El Salvador. *Neotropical Primates*, 27(1), 1–9. <https://doi.org/10.62015/NP.2021.V27.60>