



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL

**EXTRACCIÓN DE COLÁGENO A PARTIR DE LA PIEL
DEL PESCADO BONITO SIERRA (*Sarda sarda*) Y
TRUCHA (*Oncorhynchus mykiss*).**

TRABAJO DESCRIPTIVO

Trabajo de titulación presentado como requisito para la
obtención del título de
INGENIERO AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL

AUTOR

PIGUAVE MACIAS DAYANNA TAMARA

TUTOR

ING. MAGNA GUTIÉRREZ RODAS, M.Sc.

GUAYAQUIL – ECUADOR

2021



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERIA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, ING. MAGNA GUTIÉRREZ RODAS, M.SC. docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: EXTRACCIÓN DE COLÁGENO A PARTIR DE LA PIEL DEL PESCADO BONITO SIERRA (*Sarda sarda*) Y TRUCHA (*Oncorhynchus mykiss*), realizado por la estudiante PIGUAVE MACIAS DAYANNA TAMARA; con cédula de identidad N°000000000 de la carrera INGENIERIA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL, Unidad Académica Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto, se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

ING. MAGNA GUTIÉRREZ RODAS, M.SC.

Guayaquil, 18 de Marzo de 2021



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERIA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: EXTRACCIÓN DE COLÁGENO A PARTIR DE LA PIEL DEL PESCADO BONITO SIERRA (*Sarda sarda*) Y TRUCHA (*Oncorhynchus mykiss*), realizado por la estudiante PIGUAVE MACIAS DAYANNA TAMARA, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Dra. Tamara Borodulina, M.Sc.
PRESIDENTE

Ing. Ahmed El Kotb Khairat El Salous, M.Sc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Ana Campuzano Vera, M.Sc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Magna Gutierrez Rodas, M.Sc.
EXAMINADOR SUPLENTE

Guayaquil, 18 de Marzo del 2021

Dedicatoria

A mis padres, por ser la luz en mi vida, ellos han guiado mis pasos con amor y entrega desinteresada, por lo cual, les dedico este logro, debido a que sin ellos no habría podido lograrlo.

Agradecimiento

Agradezco principalmente a DIOS, porque sin su ayuda nada sería posible, a mis hermanos por su ayuda incondicional, junto a las demás personas valiosas con las que siempre pude contar. Además, agradezco a mi tutora, Ing.Magna Gutierrez Rodas, por su ayuda profesional para alcanzar este logro.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo FIGUAVE MACIAS DAYANNA TAMARA, en calidad de autora del proyecto realizado, sobre EXTRACCIÓN DE COLÁGENO A PARTIR DE LA PIEL DEL PESCADO BONITO SIERRA (*Sarda sarda*) Y TRUCHA (*Oncorhynchus mykiss*), para optar el título de INGENIERO AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor(a) me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, 24 de Marzo de 2021

.....
FIGUAVE MACIAS DAYANNA TAMARA,
C.I. 0952527851

Índice general

PORTADA	1
APROBACIÓN DEL TUTOR	2
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	3
Dedicatoria	4
Agradecimiento	5
Autorización de Autoría Intelectual	6
Índice general	7
Índice de tablas	12
Índice de figuras	13
Resumen	16
Abstract	17
1. Introducción	18
1.1 Antecedentes del problema	18
1.2 Planteamiento y formulación del problema	19
1.2.1 Planteamiento del problema	19
1.2.2 Formulación del problema	20
1.3 Justificación de la investigación	21
1.4 Delimitación de la investigación	22
1.5 Objetivo general	22
1.6 Objetivos específicos	23
1.7 Hipótesis	23
2. Marco teórico	24
2.1 Estado del arte	24
2.2 Bases teóricas	26

2.2.1 Industria pesquera.....	26
2.2.2 Descripción de la trucha	27
2.2.2.1. <i>Características nutricionales de la trucha</i>	28
2.2.2.2. <i>Taxonomía trucha (Oncorhynchus mykiss)</i>	28
2.2.3 Descripción del pescado bonito sierra (<i>Sarda sarda</i>).....	29
2.2.3.1. <i>Características nutricionales del pescado bonito sierra (Sarda sarda)</i>	29
2.2.3.2. <i>Taxonomía del pescado bonito sierra (Sarda sarda)</i>	30
2.2.3.3. <i>Composición química del pescado bonito sierra</i>	30
2.2.4 Proteínas	31
2.2.4.1. <i>Niveles de organización de las proteínas</i>	32
2.2.4.2. <i>Propiedades de las proteínas</i>	33
2.2.5 Hidrólisis	35
2.2.5.1. <i>Hidrólisis ácida</i>	35
2.2.5.2. <i>Hidrólisis alcalina</i>	35
2.2.5.3. <i>Hidrólisis enzimática</i>	36
2.2.5.4. <i>Etapas de hidrólisis enzimática</i>	36
2.2.5.5. <i>Calorimetría diferencial de barrido</i>	37
2.2.5.6. <i>Determinación de la temperatura de desnaturalización</i>	38
2.2.6 Colágeno	39
2.2.6.1. <i>Propiedades físico-químicas del colágeno</i>	39
2.2.6.2. <i>Tipos de colágeno</i>	41
2.2.6.3. <i>Fuente de extracción de colágeno</i>	42
2.2.6.4. <i>Uso y aplicaciones del colágeno</i>	44
2.2.4.5. <i>Fuentes de obtención</i>	44

2.2.4.6. Contenido de aminoácidos del colágeno Tipo 1 de piel humana y de pescado.....	45
2.2.6.7. Requisitos para elegir un colágeno de tipo comercial.....	46
2.2.4.7.1. Colágeno hidrolizado de Naara.....	47
2.2.4.7.2. Información Nutricional.....	48
2.2.4.8. Propiedades de colágeno en organismos acuáticos.....	49
2.3 Marco legal.....	49
2.3.1 Cuantificación de humedad: International Standard ISO 1442:1997.	49
2.3.2 Cuantificación de cenizas totales, método gravimétrico: NTE INEN 0467.....	49
2.3.3 Cuantificación de proteínas por el método de Kjeldahl: método oficial de la MLA_22 AOAC 2001. 11 Ed. 20, 2016.....	50
2.3.4 Calorimetría diferencial de barrido (DSC): ISO 11357.....	50
3. Materiales y métodos.....	51
3.1 Enfoque de la investigación.....	51
3.1.1 Tipo de investigación.....	51
3.1.2 Diseño de investigación.....	51
3.2 Metodología.....	52
3.2.1 Variables.....	52
3.2.1.1. Variable independiente.....	52
3.2.1.2. Variable dependiente.....	52
3.2.2 Tratamientos.....	52
3.2.3 Diseño experimental.....	53
3.2.4 Recolección de datos.....	53
3.2.4.1. Recursos.....	53

3.2.4.1.1. <i>Materiales</i>	53
3.2.4.1.2. <i>Insumos</i>	54
3.2.4.1.3. <i>Equipos</i>	54
3.2.4.1.4. <i>Reactivos</i>	54
3.2.4.2. <i>Métodos y técnicas</i>	55
3.2.4.2.1. <i>Diagrama de flujo de la extracción del colágeno a partir de la piel de pescado bonito sierra (<i>Sarda sarda</i>) y trucha (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)</i>	55
3.2.4.2.2. <i>Descripción del proceso</i>	56
3.2.4.2.3. <i>Determinación de proteínas totales</i>	59
3.2.4.3.4. <i>Método de determinación de cenizas</i>	61
3.2.4.4.5. <i>Determinación de humedad</i>	62
3.2.4.3.6 <i>Calorimetría diferencial de barrido</i>	63
3.2.5 <i>Análisis estadístico</i>	64
4. <i>Resultados</i>	65
4.1 <i>Determinación de las propiedades térmicas (Punto de fusión, temperatura de transición vítrea) del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra (<i>Sarda sarda</i>) y trucha (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).</i>	65
4.1.1 <i>Propiedades térmicas del colágeno extraído de la piel del pescado bonito sierra</i>	65
4.1.2 <i>Propiedades térmicas del colágeno extraído de la piel del pez trucha (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)</i>	67
4.1.3 <i>Comparación de las propiedades térmicas en las muestras de colágeno extraídas</i>	68

4.2 Determinación del contenido de proteínas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito y trucha mediante el método de Kjeldahl.	69
4.3 Cuantificación del contenido de humedad y cenizas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito y trucha.....	70
4.4 Comparación de las propiedades físico-químicas del colágeno, obtenido a partir de la piel del pescado bonito y trucha con el colágeno comercial. ..	71
5. Discusión.....	72
6. Conclusiones	76
7. Recomendaciones	78
8. Bibliografía	79
9. Anexos.....	84
9.1 Anexo 1. Resultados de las propiedades térmicas de las muestras de colágeno extraídas	84
9.2 Anexo 2. Cálculos de concentración de humedad y cenizas en las muestras de colágeno obtenido de los peces bonito y trucha.....	86
9.3 Anexo 3. Fotos de la extracción de colágeno	88
9.4 Anexo 4. Control de parámetros físico - químicos y térmicos	98
9.5 Fotos de colágenos de tipo comercial	100

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía de la trucha.....	28
Tabla 2. Taxonomía del pescado bonito sierra (<i>Sarda sarda</i>).....	30
Tabla 3. Composición química de pescado bonito sierra (<i>Sarda sarda</i>).....	30
Tabla 4. Temperatura de transición y entalpía de colágeno extraído del músculo de <i>Dosidicus gigas</i> (calamar gigante).	37
Tabla 5. Etapas de diferentes procesos de extracción utilizadas por algunos autores para la obtención de colágeno de la piel de diferentes peces.	43
Tabla 6. Contenido de aminoácidos del colágeno tipo I de piel humana y de pescado.	45
Tabla 7. Información nutricional, cantidad por porción: 15 g	48
Tabla 8. Propiedades térmicas de las muestras de colágenos extraídas	68
Tabla 9. Contenido de proteínas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito y trucha	69
Tabla 10. Resultados del análisis físico-químico del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito y trucha	70
Tabla 11. Comparación del colágeno extraídas de los peces bonito y trucha en relación a marcas comerciales de colágeno.....	71

Índice de figuras

Figura 1. Mecanismo catalítico de una proteína.....	37
Figura 2. Estructura del colágeno.	41
Figura 3. Colágeno comercial Naara.....	47
Figura 4. Diagrama de flujo para la obtención de colágeno a partir de las pieles de pescado bonito sierra (<i>Sarda sarda</i>) y trucha (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).	55
Figura 5. Resultados de las propiedades térmicas del colágeno extraído de la piel del pescado bonito sierra	66
Figura 6. Resultados de las propiedades térmicas del colágeno extraído de la piel del pez trucha	67
Figura 7. Propiedades térmicas de las muestras de colágenos extraídas	68
Figura 8. Resultados de los análisis físico - químicos	70
Figura 9. Informe del ensayo de la prueba de Calorimetría diferencial de barrido (DSC) en el colágeno extraído del pescado bonito sierra	84
Figura 10. Informe del ensayo de la prueba de Calorimetría diferencial de barrido (DSC) en el colágeno extraído del pescado trucha	85
Figura 11. Humedad en colágeno de pez bonito sierra	86
Figura 12. Humedad de colágeno de pez trucha.....	86
Figura 13. Concentración de cenizas en colágeno de pez bonito sierra.....	87
Figura 14. Concentración de cenizas en colágeno de pez trucha	87
Figura 15. Pez trucha (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) 10 lb	88
Figura 16. Pez bonito sierra (<i>Sarda sarda</i>) 10 lb.....	88
Figura 17. Eviscerado del pez trucha (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	89
Figura 18. Eviscerado de pez bonito sierra	89
Figura 19. Pieles de pescado bonito sierra (<i>Sarda sarda</i>).....	90

Figura 20. Pieles de pescado trucha (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	90
Figura 21. Lavado y limpieza de pieles	91
Figura 22. Filtración de pieles bonito sierra y trucha	91
Figura 23. Peso de pescado bonito sierra 102.58 g, pescado trucha 101.09 g después de la filtración	92
Figura 24. Filtración y limpieza de pieles con agua destilada extrayendo NaClO.	92
Figura 25. Peso de pieles después de la filtración y lavado de bonito sierra 83.13 g y trucha 77.02 g	93
Figura 26. Desengrasado con una solución de D- limoneno al 1% durante 24 horas.....	93
Figura 27. Tratamiento con H ₃ PO ₄ 0.2 mol/ L en un tiempo de 42 horas	94
Figura 28. Filtración y limpieza de pieles con agua destilada durante 10 minutos extrayendo H ₃ PO ₄	94
Figura 29. Peso de NaCl 40.05 g para la precipitación salina	95
Figura 30. Preparación de soluciones de NaCl durante 24 horas	95
Figura 31. Peso de pieles después de la 5ta filtración y lavado bonito sierra 26.62 g y trucha 23.16 g	96
Figura 32. En el secado se colocó las muestras en una estufa a una temperatura de 45 °C hasta la vaporización	96
Figura 33. En el triturado en ambos colágenos se logró alcanzar pulverizarlo para obtener una consistencia homogénea	97
Figura 34. Envasado de colágeno de pez bonito sierra (<i>Sarda sarda</i>) y trucha (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) en frascos de vidrios herméticos	97
Figura 35. Almacenado de colágeno de pez sierra (<i>sarda sarda</i>) 8.1433 g y trucha (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) 5.9778 g	98

Figura 36. Control de humedad y cenizas	98
Figura 37. Representación gráfica de picos altos de calor presentes del colágeno de la piel de bonito sierra y trucha	99
Figura 38. Resultados obtenidos a través del equipo calorimetría diferencial de barrido	99
Figura 39. Análisis de proteínas.....	100
Figura 40. Marca 1 de colágeno comercial	100
Figura 41. Marca 2 de colágeno comercial	101

Resumen

El desarrollo de la investigación se basó en extraer colágeno a partir de la piel del pescado bonito (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*), partiendo de un diseño de investigación con un enfoque descriptivo en donde se determinaron las propiedades térmicas (punto de fusión, temperatura de transición vítrea) del colágeno, obtenido mediante el método de Calorimetría diferencial de barrido (DSC): ISO 11357, además de las propiedades físico - químicas. Los resultados indicaron que el colágeno extraído de la piel de pez bonito sierra ofrece una mayor resistencia térmica con una temperatura de transición vítrea de 150.21 °C y un punto de fusión de 1.141 w/g a los 40 °C a diferencia del colágeno extraído de la piel de pez trucha con una temperatura de transición vítrea de 118.52°C y un punto de fusión de 1.022 w/g a 40°C. El colágeno de la piel de trucha posee una mayor concentración de proteína bruta (30.94 %), siendo superior a la concentración del colágeno extraído de la piel de pez bonito sierra con un valor de 24.70 %; el resultado de ambos polímeros fue comparado con un colágeno comercial con un aporte de proteínas del 22 %. Adicionalmente se determinó que el colágeno del pez bonito sierra contiene 6 % de humedad y 29.40 % de cenizas y el colágeno del pez trucha contiene 23.88 % de humedad y 66.73 % de cenizas, concluyendo en la viabilidad de la obtención de colágeno a partir de la piel de pescados como el bonito sierra y la trucha con un alto valor proteico que serviría de base para posteriores procesos de hidrólisis mejorando su aporte nutricional.

Palabras clave: calor, elasticidad, hidrólisis, peces, polímeros.

Abstract

The development of the research was based on extracting collagen from the skin of the bonito fish (*Sarda sarda*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*) based on a research design with a descriptive approach where the thermal properties (melting point, glass transition temperature) of collagen obtained by the Differential Scanning Calorimetry (DSC) method: ISO 11357, in addition to the physical-chemical properties. The results indicated that the collagen extracted from the skin of bonito fish offers a higher thermal resistance with a glass transition temperature of 150.21 ° C and a melting point of 1,141 w / g at 40 ° C compared to collagen extracted from the skin. of trout fish with a glass transition temperature of 118.52 ° C and a melting point of 1.022 w / g at 40 ° C. The collagen of trout skin has a higher concentration of crude protein (30.94 %), being higher than the concentration of collagen extracted from the skin of bonito fish with a value of 24.70 %; the result of both polymers was compared with a commercial collagen with a protein contribution of 22 %. Additionally, it was determined that the collagen of the bonito fish contains 6 % moisture and 29.40 % of ashes and the collagen of the trout fish contains 23.88 % of moisture and 66.73 % of ashes, concluding in the viability of obtaining collagen from the skin. of fish such as bonito and trout with a high protein value that would serve as the basis for subsequent hydrolysis processes, improving their nutritional contribution.

Keywords: heat, elasticity, hydrolysis, fish, polymers.

1. Introducción

1.1 Antecedentes del problema

Según Quintero y Zapata (2017), mencionan que el colágeno es la proteína más abundante de origen animal, la cual representa el 25 -30 % de todas las proteínas de los organismos animales, es un elemento característico de todos los tejidos del cuerpo se logra obtener esencialmente de origen de bovinos y porcinos. Sin embargo, se buscan nuevas fuentes de extracción de la proteína; debido al rechazo generado por las enfermedades bovinas que pueden ser transmitidas a los humanos y las creencias de carácter religioso. En la actualidad el colágeno extraído de la piel de pescado ha ganado más aplicación a partir del proceso de fileteo donde se logra obtener de las espinas, escamas, que son residuos que generan señales de impactos ambientales importantes.

De acuerdo con Valdez-Ortiz (2015), en su investigación manifiesta que existen diferentes procesos de faneación para la piel que se caracterizan por su estabilidad, tonicidad, durabilidad y consistencia, logrando así convertirse en una riqueza dentro de la industria de pesquera, se ha confirmado que la piel no solo sirve de alimento sirve, también, como materia prima.

Como expresan Falconí-Tarira y Torres-Chóez (2018), en su trabajo de investigación ejecutaron el tratamiento de la piel del pescado tilapia (*Oreochromis niloticus*), adquirida después del fileteado, manejando la piel como materia prima para despegar todo el colágeno que forma parte de la estructura natural de la piel aplicando el método de hidrólisis con ácido fosfórico para despegar la proteína, esta materia prima requiere un pre tratamiento de limpieza y despojo del resto de filetes que deben ser suprimidas de manera física, la piel se debe mostrar libre de

estos residuos ya que originan problemas en el transcurso y pueden alterar los resultados.

Como expresa Serrano-Gaona (2011), el colágeno se identifica mediante una estructura que encierra una triple hélice, de tal manera, su elevada tenacidad y propiedades permiten la conservación de la humedad, la principal función del colágeno es mantener la estructura de los tejidos animales y mejorar la fuerza, resistencia y flexibilidad de los tejidos. Cuando se va perdiendo la calidad y cantidad de esta proteína, la piel va disminuyendo su elasticidad, también se presenta fragilidad en uñas, pérdida de elasticidad del cabello, aparición de manchas tipo lunar en brazos y manos, endurecimiento de los tejidos y las válvulas cardiacas, fragilidad de los discos intervertebrales y desgaste de meniscos. Gracias a estas características, el colágeno es de gran importancia en el campo de materia prima para biomateriales, en la industria farmacéutica y cosmética.

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

El colágeno fue considerado una proteína de bajo valor biológico, prescindible en nuestra dieta, por tal motivo, no se le ha dado la importancia necesaria a la piel de peces que contienen colágeno, en los seres humanos se reduce con la edad, esta pérdida también puede producirse tempranamente en los tejidos articulares y músculo-tendinosos de deportistas o personas que practican ejercicio físico regularmente, y en adultos mayores que se encuentran mayormente afectados con dolores en las articulaciones, enfermedades como la osteoporosis o la natural decadencia de la piel y pérdida de vista (Juher y Pérez, 2015).

Por otra parte, del colágeno marino que se obtiene de la piel, escamas o huesos de estos peces, consiguen crear productos como el maquillaje, donde su efecto ayuda a recobrar la estabilidad, protección, absorción, elasticidad y calidad de la piel, también, productos de fabricación como cremas de antienvjecimiento que logran funcionar como un mecanismo gelificante, por otra parte, el colágeno de forma natural lo podemos adquirir a través de alimentos preparados en casa que son exquisitos con esta proteína.

Lo encontramos en forma de polvo, la diferenciación entre el colágeno marino de otros tipos de calidad de colágeno es que es asimilado con mayor disposición por el cuerpo humano, diversos estudios aseveran que el colágeno marino puede reducir un dolor articular, estos resultados fueron positivos asociados a personas que han sufrido dolencias musculares haciendo ejercicio, el prototipo de colágeno puede engrandecer su potencial al acoplarse con otros elementos biológicamente activos como la vitamina C y el ácido hialurónico hasta la actualidad, la dosificación exacta para su elaboración con colágeno marino, tampoco se obtiene efectos secundarios del mismo aunque sea soportado por el cuerpo no se recomienda en mujeres embarazadas, lactantes o personas que estén bajo un tratamiento médico (Liuzzi, 2010).

1.2.2 Formulación del problema

¿Cuál es beneficio que permitirá obtener el aprovechamiento de residuos sólidos como las pieles del pescado bonito sierra (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*) para la extracción de colágeno por medio de hidrólisis un producto comercial como el gel colágeno hialaurónico?

1.3 Justificación de la investigación

Esta investigación se realizó con el propósito de generar nuevos conocimientos sobre la utilización de nuevas fuentes aun no estudiadas como es la piel de pescado bonito sierra (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*), las cuales pueden ser aprovechadas para la extracción y caracterización de colágeno, cuyos resultados de esta investigación podrán sistematizarse en una propuesta para ser incorporada como nuevos conocimientos a la ciencia y a las industrias que utilizan este producto como principio activo para la elaboración de productos ya sea de usos en el campo biomédicos, biomateriales, farmacéuticos, etc., para esto los resultados serán comparados con la información de colágeno extraído de la piel de estas especies la cual ya existen estudios que confirman su alto aporte de colágeno como fuente más segura en comparación al colágeno comercial (Falconí Tarira y Torres Chóez, 2018).

Existen fuentes que aseguran propiedades antioxidantes en la piel de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) pueden ser una fuente de péptidos biológicamente activos con efectos anticancerígenos sobre células del cáncer al colon in vitro, y puede ser usado como un antioxidante natural en los alimentos, entre sus componentes químicos esta la humedad en mayor cantidad con un promedio de 74,80 % las proteínas son el segundo componente con un rango de 18,35 a 21,75 % en relación al contenido de grasas existe una gran variedad de categorías de especies no solo por razones estacionales, su edad, sexo y tamaño por cada 100 g de carne contiene 75,80 g a 3,10 g de grasa, 19,50 g de proteína y 1,20 g de ceniza (Zapata, Moya y Figueroa, 2019).

La piel de pescado bonito (*Sarda sarda*) su peso es muy característico por que sobrepasa los 4 kg carne es más oscura y contiene gran cantidad de Omega 3

que ayuda a varias bioactividades positivas, es decir, efectos sobre los tejidos vivos.

Dada su alta cantidad de proteínas, el bonito sierra es un alimento recomendado especialmente para el desarrollo muscular. Los alimentos ricos en proteínas como este pescado, están recomendados durante la infancia, la adolescencia y el embarazo ya que, en estas etapas, es necesario un mayor aporte de este nutriente.

El alto contenido de vitamina B_3 del bonito, hace que sea un alimento beneficioso para el sistema circulatorio. Además, la vitamina B_3 o niacina puede ayudar a reducir el colesterol. Por su alto contenido en vitamina B_3 , este pescado es recomendable para combatir enfermedades como la diabetes, la artritis o el tinnitus (Valeiras y Abad, 2006).

1.4 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** La presente investigación se realizó en los laboratorios de la Universidad Agraria del Ecuador.
- **Tiempo:** El tiempo de duración del presente proyecto fue de 6 meses.
- **Población:** La extracción de colágeno del pescado bonito sierra (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*) estuvo dirigido a la población en general.

1.5 Objetivo general

Extraer colágeno a partir de la piel del pescado bonito sierra (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*).

1.6 Objetivos específicos

- Determinar las propiedades térmicas (punto de fusión, temperatura de transición vítrea) del colágeno, obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*) mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).
- Determinar el contenido de proteínas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha mediante el método de Kjeldahl.
- Cuantificar el contenido de humedad y cenizas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha.
- Comparar las propiedades físico-químicas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha con el colágeno comercial.

1.7 Hipótesis

El colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha tuvo propiedades físico-químicas (porcentaje de proteína, humedad y cenizas), comparables con las del colágeno comercial.

2. Marco teórico

2.1 Estado del arte

Beltrán (2011), señala que el colágeno obtenido a partir de piel de tilapia (*Oreochromis sp*) presenta alteraciones en su viscoelasticidad al exponerse a temperaturas mayores a los 150 °C tornándose en una consistencia solida poco manejable y su punto de fusión estable se da a los 65 °C.

Los autores Quintero y Zapata (2017), indica que el colágeno obtenido del procesamiento de la piel de tilapia roja preservo su flexibilidad en la prueba térmica de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) hasta llegar a los 145 °C, en donde el grado de tensión de sus moléculas genero rigidez en la consistencia del polímero y conjuntamente en la prueba de flujo de calor se pudo observar que a 100 °C el colágeno tomo una consistencia gelatinosa alcanzando un punto de fusión de 0.5286 w/g.

En la investigación de Garcia y Pilligua (2013), se indica que, en la primera investigación realizada en Japón sobre la elaboración de colágeno a partir de hueso y aletas de pescado para estudiar las diferentes propiedades térmicas de este colágeno se basó en la obtención de extracción de colágeno de diferentes especies de peces como perca (*Lateolabrax japonicus*), caballa (*Scomber japonicus*) y tiburón toro japonés (*Heterodontus japonicus*).

Sampedro y Hidalgo (2018), señalan que la concentración de colágeno de piel de tilapia (*Oreochromis niloticus*) aporta concentraciones proteicas del 35 % debido a un contenido alto de aminoácidos como la hidroxiprolina. Para la extracción de colágeno se establecieron varias etapas empezando por la eliminación de grasa con alcohol una solubilización en medio ácido, seguido de un proceso de centrifugación, precipitación salina, redisolución de la proteína,

diálisis en medio ácido y finalizó con una liofilización, para luego cuantificar el colágeno, obtenido por la técnica colorimetría de cuantificación de hidroxiprolina, dando como resultado una concentración de colágeno en la caballa del 49,8 % y para el tiburón toro japonés el 50,1 % en base al peso seco liofilizado. Los resultados de la concentración de colágeno en estas especies coinciden con los del colágeno de piel de tilapia, el cual que posee un contenido alto de aminoácidos como la hidroxiprolina.

Los investigadores Sampedro y Hidalgo (2018), llevaron a cabo un estudio sobre la extracción de colágeno a partir de escamas de pescado en el laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH. Para ello utilizaron diferentes niveles de renina 5 %, 10 % y 15 %, disponiendo de 15 unidades experimentales divididas en 3 tratamientos con 5 repeticiones distribuidas bajo un Diseño Completamente al Azar. Los resultados indicaron que ninguno de los 3 niveles de renina afecto la composición bromatología de la muestra y que el uso del 15 % de la enzima comercial favorece la extracción del colágeno de las escamas de pescado.

Según Falconí-Tarira y Torres-Chóez (2018), entre los requisitos esenciales para la elección de un buen colágeno se destaca el enriquecimiento con ácido hialaurónico, minerales, vitaminas, lo cual aumenta la eficiencia del colágeno. Cabe recalcar que la presencia de ácido hialaurónico garantiza la absorción y biodisponibilidad del producto generando una un máximo aprovechamiento del compuesto en el organismo.

Según Sampedro y Hidalgo (2018), el colágeno presenta propiedades químicas que posee el colágeno, permitiendo que se lo emplee en diferentes campos el colágeno, es relevante su aplicación para la realización de biomateriales con fines

biomédicos la aplicación de colágeno en las industrias farmacéutica y cosmética son de mucha importancia.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Industria pesquera

Según Vilema y Gencon (2013), mencionan que en la actualidad el sector pesquero es uno de los principales del país, ya que forma parte de las exportaciones tradicionales, la cadena de su comercialización es la clave de lanzamiento de productos de mar, por otra parte es importante definir los puntos críticos de optimización de los mismos ya que logra generar una competitividad en el sector pesquero y desarrollo del país. De la misma forma se suministra un mayor interés debido a los recursos renovables y al incremento de ampliación de calidad de alimentos de los productos pesqueros que igualmente se componen de una buena fuente de colágeno, el cual se beneficia para elaboración de hidrolizados proteicos mediante el uso de diferentes tipos de enzimas proteolíticas como la tripsina, pepsina, properasa y papaína. La obtención de colágeno a nivel de laboratorio va a contener procesos hidrolíticos que consecutivamente lo lleva a un proceso de purificación mediante un sistema de ultrafiltración en combinación de métodos cromatógrafos.

En Ecuador consumen grandes cantidades de diferentes especies de pescado, generando a su vez enormes volúmenes de desechos, que van del 50 al 70 % del peso inicial del pescado; produciendo malos olores y contaminación; de estos, más del 30 % lo constituyen la piel, escamas y hueso. Aproximadamente, el 5 % corresponde a las escamas de pescado, las cuales son ricas en proteínas, como, por ejemplo, el colágeno. La utilización optimizada de estos desechos, es una

opción prometedora, especialmente en la obtención de productos de valor agregado como la proteína (Pati *et al*, 2010).

Según Flores-Pino (2017), la industria dedicada al procesamiento de productos pesqueros genera una gran cantidad de residuos, tales como pieles, espinas, escamas, vísceras, cabezas y restos de músculo; residuos que dependiendo de la especie y el tipo de procesamiento pueden ser entre 30 y 50 % del peso inicial estos desechos, son una gran fuente de minerales, proteínas, grasa, pigmentos, vitaminas, por lo que una parte de los mismos se utiliza para la alimentación de peces, cerdos y la elaboración de fertilizantes, la parte no aprovechada constituye una importante fuente de contaminación ambiental donde se han desarrollado diversas estrategias para utilizar los residuos de pescados y mariscos, obteniendo productos de alto valor comercial, tales como colágeno y gelatina, procedentes de pieles, espinas y escamas; productos reestructurados a partir de cortes de músculo; lípidos y proteínas, principalmente a partir de vísceras; hidrolizados y péptidos bioactivos.

Como expresa Benítez y Gómez (2011), las espinas, pieles y escamas contienen grandes cantidades de colágeno, que es de gran interés para la industria, ya que esta proteína y sus hidrolizados tienen características deseables para diversas aplicaciones, tanto en el campo de la alimentación, como en el campo de la medicina y cosmética.

2.2.2 Descripción de la trucha

De acuerdo a Maíz, Valero y Briceño (2010), esta especie es perteneciente a la familia *Salmónidae*, habita en aguas frías, procedente de las costas del Pacífico de América del Norte, su cuerpo presenta finas escamas y se caracteriza por

poseer un cuerpo de forma alargada y fusiforme, su coloración depende del ambiente, en donde habite las etapas de desarrollo y beneficia a su producción.

2.2.2.1. Características nutricionales de la trucha

Con base a Rodríguez (2019), indica que es una especie semigrasa, con aporte calórico y vitaminas como la B₁, B₂, además, presenta grandes cantidades de vitamina A, que se almacena en su hígado y musculo; el fosforo está presente en sus huesos y dientes junto a otros minerales que actúan frente a las infecciones, por ello es necesario consumirlo para el desarrollo del sistema nervioso y para mejorar la visión nocturna, intercede en el crecimiento óseo y participa en la producción de enzimas en el hígado, de hormonas sexuales y suprarrenales.

2.2.2.2. Taxonomía trucha (*Oncorhynchus mykiss*)

Tabla 1. Taxonomía de la trucha

TAXONOMÍA	
Superclase	Pisces
Clase	Osteichthyes
Sub Clase	Actinopterygii
Orden	Salmoniformes
Familia	<i>Salmonidae</i>
Género	<i>Oncorhynchus</i>
Especie	<i>O. mykiss</i>
Nombre Científico	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
Nombre Común	<i>trucha arco iris</i>

Clasificación taxonómica de la trucha.
Hernández y Aquino, 2008

2.2.3 Descripción del pescado bonito (*Sarda sarda*)

Este pez pertenece a la familia *Scombridae*, la calidad de la carne es muy cotizada por la industria de conservas de pescados enlatados para la producción del atún, este pescado es utilizado en la cocina, pero su carne es complicada de manipular en estado fresco tiende a desarmarse al filetear, debido a que contiene una gran cantidad de Omega 3 y después de la cocción podemos desechar su cuero.

Pescadores aseguran que esta especie es la más capturada, ya que abaratan el precio de los consumidores con un valor de 7 dólares por una pieza de cuatro libras, pero en la actualidad se lo consigue en tres dólares, según su peso (Ecuador, 2013).

2.2.3.1. Características nutricionales del pescado bonito (*Sarda sarda*)

Con base FAO (2018), el “Fondo de Regulación y Organización del Mercado de los Productos de la Pesca y Cultivos Marinos” es un pez marino Osteíctio perciforme que mide hasta 80 cm de longitud es muy similar al atún, pero presenta una carne más blanquecina, su cuerpo se lo define por ser alargado con escamas pequeñas que son más anchas y largas en el corselete y la línea lateral, sus mandíbulas son largas posee parpados adiposos, son poco desarrollados sus aletas dorsales y están usualmente junto a su aleta anal, la cual es corta al igual que sus aletas pectorales son cortas y triangulares.

Su línea lateral es ondulada y no posee vejiga natatoria; el color de su dorso es azul verdoso con 5 a 11 bandas oscuras levemente oblicuas y en los adultos de 12 a 16 verticales en los jóvenes su talla máxima es de 80 cm de longitud con un peso de 10 kg máximo.

2.2.3.2. Taxonomía del pescado bonito (*Sarda sarda*)

Tabla 2. Taxonomía del pescado bonito sierra (*Sarda sarda*)

TAXONOMÍA	
Reino	Animalia
Filo	Chordata
Clase	Actinopterygii
Orden	Perciformes
Familia	<i>Scombridae</i>
Género	<i>Sarda</i>
Especie	<i>S.orientalis</i>

Clasificación taxonómica del pescado bonito sierra.
Valeiras, 2006

2.2.3.3. Composición química del pescado bonito

Tabla 3. Composición química de pescado bonito sierra (*Sarda sarda*)

Composición por 100gramos de porción comestible	
Grasas (g)	6
Hierro (mg)	1
Magnesio (mg)	28
Yodo (mg)	10
B2 o Riboflavina(mg)	0,2
B3 o Niacina(mg)	17,8
B9 o ácido fólico(mcg)	15
B12ocianocobalamina	5
Vitamina A (mcg)	40
Vitamina D (mcg)	20

Descripción de la composición química del pescado bonito sierra.
Martín-San Juan, 2018

2.2.4 Proteínas

Según las proteínas son biomoléculas complejas que desempeñan un papel fundamental en la estructura y funciones de las células, donde pueden llegar a representar más de 50 % de su peso seco. No en vano, su denominación derivada de la palabra griega proteos, que significa “primero”, “fundamental”. Desde el punto de vista químico, las proteínas son biopolímeros formados por carbono (C), nitrógeno (N), oxígeno (O), hidrógeno (H) y, generalmente, azufre (S) en ocasiones, pueden contener además hierro, fósforo, cobre o zinc desempeñan un papel fundamental para la vida y son biomoléculas más versátiles y más diversas realizan diferentes funciones donde se destacan

Estructural (colágeno y queratina).

Reguladora (insulina y hormona del crecimiento).

Transportadora (hemoglobina).

Defensiva (anticuerpos).

Enzimas (sacarosa y pepsina).

Contráctil (actina y miosina).

Todas las proteínas poseen una misma estructura química central, que consiste en una cadena lineal de aminoácidos. Lo que hace distinta a una proteína de otra es la secuencia de aminoácidos de que está hecha, a tal secuencia se conoce como estructura primaria de la proteína. La estructura primaria de una proteína es determinante en la función que cumplirá después, así las proteínas estructurales (como aquellas que forman los tendones y cartílagos) poseen mayor cantidad de aminoácidos rígidos y que establezcan enlaces químicos fuertes unos con otros para dar dureza a la estructura (CastelBlanche-Yuste, 2015).

2.2.4.1. Niveles de organización de las proteínas

Las proteínas se constituyen en cuatro niveles principales:

a) Estructura primaria

Es el nivel más sencillo y pertenece a la cadena polipeptídica, es decir, a la secuencia lineal de los aminoácidos que la constituyen, la estructura primaria contiene toda la información necesaria para que la proteína sea única y siempre tenga tanto la misma estructura y función (Moya, 2013).

b) Estructura secundaria

La estructura secundaria de las proteínas es el plegamiento que la cadena polipeptídica adopta gracias a la formación de puentes de hidrógeno entre los átomos que forman el enlace peptídico, la distribución forma una hélice, ésta conservará unos parámetros característicos, la hélice α , se dispone en zig-zag, suelen asociarse unas a otras para formar lo que se denomina una lámina β , las estructuras desorganizadas y los giros sirven de nexo entre distintas láminas y hélices (Moya, 2013).

c) Estructura terciaria

Se conoce como un nivel superior de complejidad, determinado por la disposición espacial de las distintas estructuras secundarias de una cadena polipeptídica, su distribución se mantiene estable gracias a interacciones entre los distintos radicales (R) de los aminoácidos, estas interacciones pueden ser de varios tipos como:

Los puentes de disulfuro

Los enlaces amida, que se pueden establecer entre los carbonilos (-COO-)

Los puentes eléctricos que se establecen entre grupos cargados positivamente y los cargados negativamente.

Los puentes de hidrógeno que se establecen entre moléculas polares pero que no tienen carga.

Las interacciones hidrofóbicas que mantienen unidos los grupos que no son polares (Moya, 2013).

d) Estructura Cuaternaria

Este nivel estructural sólo lo presentan aquellas proteínas formadas por más de una cadena polipeptídica, ya que se trata de la unión mediante enlaces débiles puentes de hidrógeno, electrostáticos o hidrófobos cada una de las cadenas polipeptídicas recibe el nombre de protómero, el número de protómeros puede variar desde dos hexocinasas, hasta 12 glutaminas sintetasa o más, los protómeros pueden ser exactamente iguales o estructurales y funcionalmente distintos por ejemplo, unas subunidades son reguladoras y otras tienen actividad enzimática. Cada proteína tiene su nivel estructural propio y característico que le permite ejercer eficientemente su función concreta, la conformación tridimensional característica de cada proteína en la célula se le denomina estado nativo de la proteína (Moya, 2013).

2.2.4.2. Propiedades de las proteínas

a. Capacidad amortiguadora

Las proteínas tienen un comportamiento anfótero y esto las hace capaces de neutralizar las variaciones de pH del medio, ya que pueden comportarse como un ácido o una base y por tanto liberar o retirar protones (H^+) del medio donde se encuentran.

b. Solubilidad

Las proteínas son solubles en agua cuando adoptan una conformación globular. La solubilidad es debida a los radicales (-R) libres de los aminoácidos que, al ionizarse, establecen enlaces débiles (puentes de hidrógeno) con las moléculas de agua. Así, cuando una proteína se solubiliza queda recubierta de una capa de moléculas de agua (capa de solvatación) que impide que se pueda unir a otras proteínas lo cual provocaría su precipitación (insolubilización). Esta propiedad es la que hace posible la hidratación de los tejidos de los seres vivos

c. Desnaturalización

La desnaturalización de una proteína se refiere a la ruptura de los enlaces que mantenían sus estructuras cuaternaria, terciaria y secundaria, conservándose solamente la primaria. En estos casos las proteínas se transforman en filamentos lineales y delgados que se entrelazan hasta formar compuestos fibrosos e insolubles en agua. Los agentes que pueden desnaturalizar a una proteína pueden ser: calor excesivo; sustancias que modifican el pH; alteraciones en la concentración; alta salinidad; agitación molecular; etc. El efecto más visible de éste fenómeno es que las proteínas se hacen menos solubles o insolubles y que pierden su actividad biológica.

La mayor parte de las proteínas experimentan desnaturalizaciones cuando se calientan entre 50 y 60 °C; otras se desnaturalizan también cuando se enfrían por debajo de los 10 a 15 °C. La temperatura a la cual una proteína se desnaturaliza es la temperatura de desnaturalización, la temperatura de desnaturalización de los colágenos es importante tenerla en consideración para conocer su influencia en la estructura y en las aplicaciones biomédicas esta permite conocer la estabilidad del colágeno con el incremento de la temperatura y se puede medir por el análisis óptico rotacional. El análisis óptico rotacional se mide en un

polarímetro con un incremento paso a paso de la temperatura, la cual se mantiene por 5 min., en cada paso (1 °C).

d. Especificidad

Es una de las propiedades más características y se refiere a que cada una de las especies de seres vivos es capaz de fabricar sus propias proteínas (diferentes de las de otras especies) y, aún, dentro de una misma especie hay diferencias 37 proteicas entre los distintos individuos. Esto no ocurre con los glúcidos y lípidos, que son comunes a todos los seres vivos. La enorme diversidad proteica inter-específica e intra específica es la consecuencia de las múltiples combinaciones entre los aminoácidos, lo cual está determinado por el ADN de cada individuo (Serrano Gaona, 2011).

2.2.5 Hidrólisis

La palabra hidrólisis, deriva de dos palabras griegas, por un lado, hidro, que significa “agua”, y por otro lado lisis, que significa “rotura” cuando se trata de la reacción de los iones de una sal con un disolvente ya sea éste, agua u otro, recibirá el nombre de solvólisis.

2.2.5.1. Hidrólisis ácida

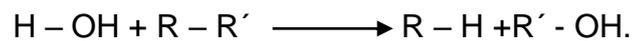
Se basa en la ebullición prolongada de la proteína con soluciones ácida fuertes (HCl y H₂SO₄). Este método destruye completamente el triptófano y parte de la serina y la treonina (Núñez, 2016).

2.2.5.2. Hidrólisis alcalina

La hidrólisis alcalina se realiza utilizando como agentes hidrolizantes al hidróxido de sodio, calcio y amonio. En el proceso se da la destrucción parcial de aminoácidos como arginina y tirosina, y forman fácilmente racematos (Núñez, 2016).

2.2.5.3. Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática se produce mediante un grupo de enzimas llamadas hidrolasas estas enzimas ejercen un efecto catalítico hidrolizante, es decir, producen la ruptura de enlaces por agua según:



Se nombran mediante el nombre del sustrato seguido de la palabra hidrolasa, y cuando la enzima es específica para separar un grupo en particular, éste puede utilizarse como prefijo en algunos casos este grupo puede ser transferido por la enzima a otras moléculas y se considera la hidrólisis misma como una transferencia del grupo al agua (Benitez, Pagán y Ibarz, 2008).

2.2.5.4. Etapas de hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática no se desarrolla en una sola reacción. Se trata de un conjunto de reacciones simultáneas de ruptura de enlaces, con distintas especies cargadas en equilibrio, lo que da una gran complejidad a este tipo de procesos. Se propone un proceso de hidrólisis constituido por tres reacciones consecutivas. Primero, la formación de un complejo enzimasustrato (proteína), y después la rotura del enlace amídico dando como resultado la liberación de un péptido. Finalmente, el péptido restante se separa de la enzima después de un ataque nucleofílico de una molécula de agua (Benitez, Pagán y Ibarz, 2008).

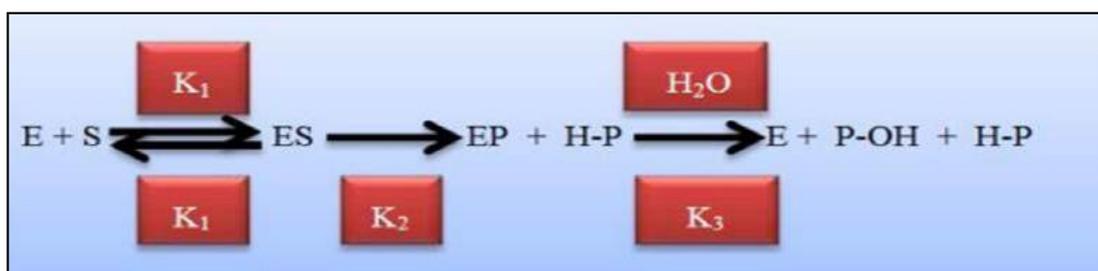


Figura 1. Mecanismo catalítico de una proteína
Benitez, Pagán y Ibarz, 2008

2.2.5.5. Calorimetría diferencial de barrido

La técnica de la calorimetría permite establecer la estabilidad térmica de una molécula, ya que, a mayor temperatura de transición, mayor será su resistencia. Las fracciones de colágeno soluble en pepsina (CSP) e insoluble (CI) son determinadas mediante un análisis de calorimetría diferencial de barrido, lo que permite explicar la resistencia térmica de los extractos proteicos

En el estudio realizado por Torres *et al.* (2008) se analizó la muestra de los termogramas del CSP obtenido a partir de manto, aletas y tentáculos de calamar gigante por medio del uso de la técnica de calorimetría. En los 3 extractos se pudo apreciar la aparición de un solo pico endotérmico alrededor de 120 °C indicando una alta resistencia del CSP a ser desnaturalizado. Sin embargo, el valor de DH fue superior para el CSP extraído a partir de tentáculos en comparación con aletas y manto. El uso de la calorimetría permitió concluir que un mayor grado de entrecruzamiento en las muestras provenientes de esta región anatómica, producto posiblemente de la presencia de piridinolina en el colágeno esta molécula puede estar presente en mayores concentraciones que en aletas y manto respectivamente

Tabla 4. Temperatura de transición y entalpía de colágeno extraído del músculo de *Dosidicus gigas* (calamar gigante).

Región anatómica	T _o (°C)	ΔH (J/g)
Manto	119,50 ± 0,43ab	38,30 ± 3,02a
Aleta	118,60 ± 0,67a	34,70 ± 2,78a
Tentáculo	120,25 ± 0,55b	50,75 ± 3,44b

Temperatura y entalpía de calamar gigante.
Torres *et al.*, 2008

Los datos de la tabla 7 muestran resultados de una prueba de calorimetría, señalado que el colágeno extraído de músculo fresco de bacalao ha reportado una entalpía de 2,75 J/g (pico endotérmico) y una temperatura de transición de 27,6 °C, confirmando la presencia de una molécula de colágeno en un calamar gigante, lo cual se atribuye a la resistencia a altas temperaturas posiblemente debido a la influencia, en mayor o menor grado, de una molécula entre cruzadora como la piridinolina.

2.2.5.6. Determinación de la temperatura de desnaturalización

Durante la aplicación de la técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se presenta el problema del solapamiento de procesos, lo cual provoca que, durante el análisis de dos o más procesos, existan confusiones en el uso de temperaturas al trabajar bajo las mismas condiciones. Para minimizar este problema se recurre a la utilización del DSC con modulación de temperatura o MTDSC, debido que, al aplicar los métodos de transformada de Fourier, la señal total se separa matemáticamente en dos partes generando una señal de flujo de calor reversible y una señal de calor irreversible. Esto permite obtener una diferenciación entre las fases ya que la primera se relaciona con el componente de la capacidad calorífica del termograma y la segunda se relaciona con los procesos cinéticos.

La transición térmica del colágeno se determina en un calorímetro diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés) Universal V2.5H TA Instrument, aplicando un método modulado donde se evalúa el intervalo de temperatura entre 10 y 60 °C con una velocidad de calentamiento de 1 °C/min. Utilizando Nitrógeno como refrigerante y equilibrando el sistema a 10 °C por 5 minutos luego del

escáner. La calibración del equipo se lo realiza con un patrón de Indio (In) (Serrano Gaona, 2011).

2.2.6 Colágeno

Según Rodríguez, Ramírez, López y Andrade (2017), dentro de la gran diversidad de sustancias químicas y materiales biológicos que se consiguen obtener de desechos de origen marino se halla una gran demanda comercial de colágeno, el cual tiene muchas aplicaciones en la industria, es el componente de tejido animal que forma parte de las proteínas fibrosas, su importante función es el soporte estructural y celular, las escamas de pescado que han sido motivo de incontables estudios a finales del siglo XIX hasta la actualidad con diferentes objetivos, están compuestas por fibras de colágeno especialmente colágeno tipo I, cuya composición depende del tipo de pez. La mayor fuente de mineral se localiza en los huesos de los vertebrados y sus principales aplicaciones, están en el campo de los biomateriales como reparadores de tejido duros y la fabricación de implantes.

Existen tres métodos para la extracción de colágeno donde se obtiene colágeno solubilizado en ácido y colágeno solubilizado en pepsina.

El colágeno, una de las proteínas fibrosas de la matriz extracelular, consta de tres cadenas de polipéptidos organizadas en una conformación helicoidal triple. En general, el colágeno se obtiene principalmente de la piel y los huesos del ganado vacuno, el cerdo, pollo y ciertos peces para su amplio uso en la industria alimentaria, cosmética, biomédica, farmacéutica, de embalaje y cuero (Andonegi, Guerrero y De la Caba, 2019).

2.2.6.1. Propiedades físico-químicas del colágeno

La estructura del colágeno se divide en dos segmentos: la parte central (helicoidal) y la parte no helicoidal, conocida como telopéptido correspondiente a los extremos terminales de la cadena (N-terminal y C-terminal). Su estabilidad se debe principalmente a los entrecruzamientos intermoleculares, además, los residuos de prolina, a menudo se modifican a hidroxiprolina, lo que conduce a un aumento de la estabilidad térmica del colágeno después de solubilizar el colágeno, se conservan algunos entrecruzamientos, por lo que generalmente, las soluciones obtenidas contienen una mezcla de oligómeros (Gómez , Piña y Rodríguez , 2011).

El colágeno es capaz de formar fibras insolubles que tienen una alta resistencia a la tracción y una varilla super helical triple derecha, todos los miembros de la familia del colágeno se caracterizan por dominios que contienen repeticiones de tripéptidos ricos en prolina, que participan en la formación de la triple hélice de colágeno, que puede ser hidrolizado por la proteasa para obtener péptidos con las funcionalidades de aclarado de la piel (Chun-Yung *et al*, 2016).

La unidad básica estructural del colágeno es el tropocolágeno, el cual está constituido por tres cadenas polipeptídicas del mismo tamaño y de composición idéntica o no, según el tipo de colágeno. Las tres cadenas alfa tienen sus extremos alineados y, aunque la forma helicoidal se extiende a lo largo de la mayoría de la molécula, hay regiones en los extremos amino y carboxilo terminales, que implican a unos 15-20 aminoácidos, que no son helicoidales perdiéndose por tanto la estructura de triple hélice (López , Amaral y Kalil, 2008).

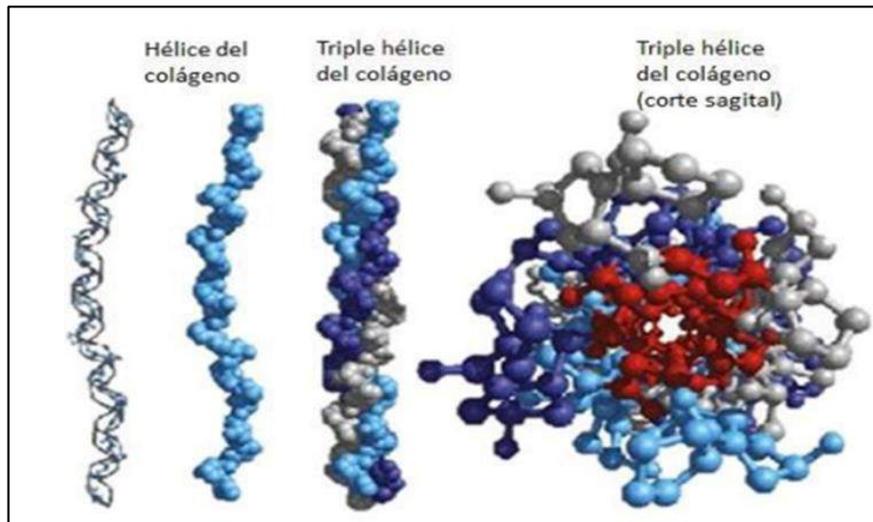


Figura 2. Estructura del Colágeno.
Rodríguez, 2019

El colágeno, proteína constituyente de los tejidos conjuntivos, como la piel, los tendones y el hueso, es la proteína más abundante del organismo, se caracteriza principalmente por su notable resistencia presenta una fibra de 1 mm de diámetro puede soportar una carga de 10 a 40 kg, está constituido por un conjunto de tres cadenas polipeptídicas de 1.000 aminoácidos agrupados en una estructura helicoidal, la glicina constituye la tercera parte de los aminoácidos de cada cadena, hecho único entre todas las proteínas del organismo (Guzmán y Delgado, 2011).

2.2.6.2. Tipos de colágeno

Tipo I: Se lo halla en huesos, tendones piel, dentina, ligamentos, arterias, su forma predominante en los organismos vertebrados equilibrados que se componen de dos tipos de cadenas contienen hidroxilisina e hidroxilisina glucosilada.

Tipo II: Se lo localiza en los cartílagos hialinos y su contenido es relativamente alto de hidroxilisina e hidroxilisina glucosilada.

Tipo III: Se lo encuentra en piel, arterias y útero presenta un contenido alto en hidroxiprolina y forman enlaces de disulfuro que están presentes entre las cadenas.

Tipo IV: Se lo encuentra en las importantes zonas globulares (Rodríguez , Ramirez , López y Andrade, 2017).

2.2.6.3. Fuente de extracción de colágeno

La obtención de colágeno proveniente, principalmente, de los bovinos y porcinos, es una fuente muy costosa. Por esta razón, se trabaja en la exploración de nuevas fuentes de extracción de colágeno para evaluar las propiedades funcionales del colágeno, comparando las pieles de pescados de agua dulce y agua salada (Quintero y Zapata, 2017).

Tabla 5. Etapas de diferentes procesos de extracción utilizadas por algunos autores para la obtención de colágeno de la piel de diferentes peces.

Autor	Especie	Eliminación Proteína Na OH	Decoloración	Eliminación de Grasa	Solubilización con Ac. acético	Precipitación
Zhang <i>et al</i> , (2007)	<i>Carpa herbívora (Ctenopharyngodon idella)</i>	Al 0,1M por 12h 1:30(p/v)	H ₂ O ₂ al 3% por 48 h	Detergente al 0,5% por 6 h	Al 0,5 M por 24 h 1:30(p/v)	NaCl 1,5 M
Wang <i>et al</i> , (2008)	<i>Carpa herbívora (Oreochromis niloticus)</i>	Al 0,1M por 6h 1:20(p/v)	-----	Dietileter por 24 h 1:20 (p/v)	Al 0,54 M por 32h 24,7°C	NaCl 2,6 M
Duan <i>et al</i> , (2009)	<i>Carpa herbívora (Ctenopharyngodon idella)</i>	Al 0,1M por 3h 1:8(p/v)	-----	Detergente al 1% por 8 h 1:10 (p/v)	Al 0,5 M por 72 h	NaCl 2,5 M
Zeng <i>et al</i> , (2009)	<i>Tilapia del Nilo (Cyprinus carpio)</i>	Al 0,1 M por 48h 1:30(p/v)	-----	Butanol al 10 %por 24 h 1:30 (p/v)	Al 0,5 M por 75 h 1:50 (p/v)	NaCl 2,3 M
Potaros <i>et al</i> , (2009)	<i>Tilapiadel Nilo (Oreochromis niloticus)</i>	Al 0,1M Por 4h 1:20(p/v)	-----	-----	Al 0,5 M por 24 h 1:70 (p/v)	NaCl 0,9 M
Zhang <i>et al</i> , (2009)	<i>Carpa Dorada (Hypophthalmichthys molitrix)</i>	Al 0,1M por 6 h 1:8(p/v)	-----	Butanol al 10% por 8h 1:10 (p/v)	Al 0,5 M por 72 h	NaCl 2,5 M

Procesos de extracción de colágeno de la piel de diferentes especies de peces.
Beltrán Ramírez, 2011

2.2.6.4. Uso y aplicaciones del colágeno

El colágeno posee propiedades únicas que le permite ser utilizado en diferentes aplicaciones industriales, como materiales biomédicos, la industria farmacéutica, cosmética y en alimentos. Un biomaterial es una sustancia farmacológicamente inerte diseñada para ser implantada o incorporada dentro del sistema vivo. Los biomateriales más usados son las aleaciones metálicas, polímeros, cerámicos y sustancias biológicas entre las sustancias biológicas. El colágeno ha sido uno de los más empleados y comerciales (Castro Vargas, 2006).

Debido a las propiedades químicas que posee el colágeno, permitiendo que se lo emplee en diferentes campos el colágeno, es relevante su aplicación para la realización de biomateriales con fines biomédicos la aplicación de colágeno en las industrias farmacéutica y cosmética son de mucha importancia, ya que se utiliza para el debido tratamiento de arrugas, desarrollo de medicamentos y en la elaboración de parches para la cura de heridas. También en la elaboración de mascarillas, geles, inyecciones subcutáneas, cremas, lociones. Existe diferente tipo de aplicación, como bebidas refrescantes, galletas o aditivos para cualquier tipo de bebidas en el campo alimenticio; el consumo de colágeno se da en el mercado japonés ya que estos productos tienen como principal objetivo de prevenir las señales de envejecimiento en las personas (De la torre Olvera, 2013).

2.2.4.5. Fuentes de obtención

Estas fuentes tradicionales de colágeno presentan dificultades y son inapropiados para muchos grupos religiosos y étnicos debido a limitaciones socio-culturales. En el caso del judaísmo y el Islam se prohíbe el consumo de productos relacionados con el cerdo, y para los hindúes se prohíbe el consumo de productos relacionados con las vacas asimismo se ven restricciones en su consumo por condiciones de salud ya que se teme ante

enfermedades como la de la encefalopatía espongiforme bovina y la fiebre aftosa. También existen otro tipo de limitaciones como son los costos de obtención de colágeno de bovinos, ya que se ve afectado por el alto valor que tiene el levante de este tipo de animales y de la baja productividad en colágeno. Debido a la problemática anterior ha sido de gran importancia encontrar fuentes alternativas de materia prima para la obtención de colágeno, entre las estudiadas se encuentran las que se pueden obtener del medio acuático como son la piel, huesos y escamas de pescado (Llerena y Rodríguez, 2017).

2.2.4.6. Contenido de aminoácidos del colágeno Tipo 1 de piel humana y de pescado.

Tabla 6. Contenido de aminoácidos del colágeno tipo I de piel humana y de pescado.

Aminoácidos	% de aminoácidos en Colágeno tipo I (Piel humana)	% de aminoácidos en Colágeno tipo I (Piel de peces)
Asparagina	5	4,2
Glutamina	7	6,9
Glicina	33	35,6
Histidina	0,5	0,6
Isoleucina	1	0,8
Leucina	2	2
Lisina	2	2
Metionina	0,6	0,5
Fenilalanina	1	1,3
Prolina	13	12,8
Serina	4	3,2
Treonina	2	2,2
Triptófano	2	0
Tirosina	0,3	0,3
Valina	2	1,7
3- Hidroxiprolina	8,6	8,2
TOTAL	100	100

Diferencia en % de aminoácidos de colágeno de piel humana y de pescado.
Zeng y Zhang, 2009

2.2.6.7. Requisitos para elegir un colágeno de tipo comercial

En el actual mercado de productos químicos, alimenticios y farmacéuticos existen varias empresas que afirman la eficiencia de sus productos a base de colágeno indicando en algunos casos ser hidrolizados. Muchas veces estos productos no contienen la cantidad suficiente de aminoácidos para formar una molécula de colágeno y sus péptidos no poseen una secuencia completa de aminoácidos que permitan su absorción en el organismo humano, siendo este un requisito esencial para elegir un colágeno (Castel Blaque, 2015).

Entre los requisitos esenciales para la elección de un buen colágeno se destaca el enriquecimiento con ácido hialaurónico, minerales, vitaminas, lo cual aumenta la eficiencia del colágeno. Cabe recalcar que la presencia de ácido hialaurónico garantiza la absorción y biodisponibilidad del producto generando una un máximo aprovechamiento del compuesto en el organismo (López y Almeida, 2018).

Al momento de elegir un producto de colágeno se debe analizar su composición de aminoácidos ya que este favorece su rápida asimilación. Un producto con alta biodisponibilidad significa que al ser ingerido será absorbido en mayor porcentaje en relación con aquellos de menor bio disponibilidad, que no alcanzan el 30 % de biodisponibilidad, siendo excretado después de ser ingerido en el cuerpo humano (Lleren Daza y Rodriguez Torres, 2017).

Entre una de las marcas productores de colágenos en el mercado ecuatoriano destaca la marca Naara cuya composición destaca en minerales, aminoácidos, fibra y vitamina vitaminas C, niacina B₃, ácido pantoténico B₅, B₆, B₁₂; zinc, con L-cisteína y povidexrosa; su contenido de Vitamina C permite la síntesis de colágeno sintetizando el pre colágeno requerido para la activación de colágeno y su posterior absorción (Naara, 2015).

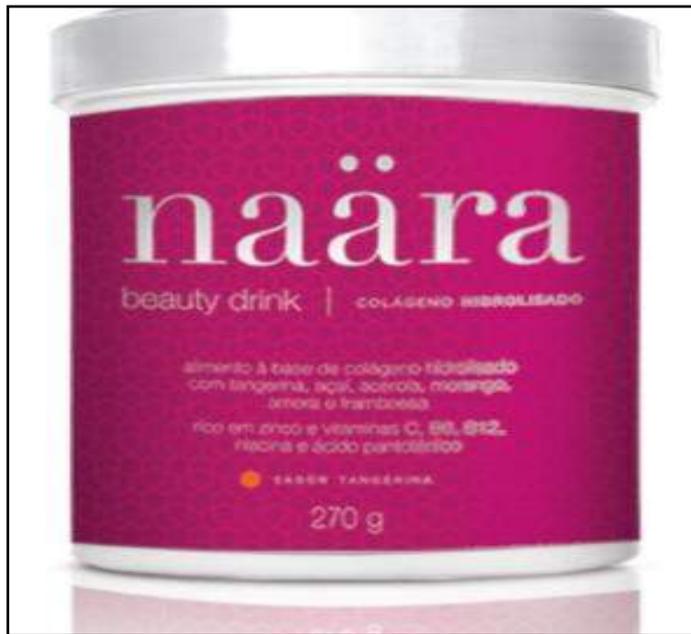


Figura 3. Colágeno comercial Naara
Naara, 2015

2.2.4.7.1. Colágeno hidrolizado de Naara

Es una proteína clave en la formación de tejido conectivo, el colágeno desempeña función estructural, se encarga de unir y fortalecer los tejidos responsables de la cohesión, la firmeza y la elasticidad de la piel, los tendones, cartílagos, arterias, órganos e incluso los huesos. La falta de colágeno en el cuerpo provoca una serie de problemas y así se indica la administración de suplementos, especialmente de la madurez (30 años) la hidrolizado de colágeno es el colágeno que ha pasado por un proceso de hidrólisis, rompiendo su cadena de proteína y por lo tanto facilitar su absorción por el cuerpo. L-cisteína es un aminoácido, por lo tanto, uno de los componentes de ácido amino asistencias proteínas.

Este en la formación y salud de la piel, así como para el crecimiento sano del pelo y para tratar el cabello débil o dañado. Polidextrosa es una fibra dietética soluble. Mejora el funcionamiento del tracto intestinal, ningún efecto laxante, y promueve una sensación prolongada de saciedad. Tiene efecto

prebiótico, es decir, sirve como alimento para las bacterias buenas de nuestro intestino. Tiene un índice glucémico bajo, disminuyendo la absorción y digestión de las grasas y azúcares en el cuerpo estas funciones ayudan en el proceso de pérdida de peso y reducir la sensación de hinchazón (Naara, 2015).

2.2.4.7.2. Información Nutricional

Tabla 7. Información Nutricional Cantidad por porción: 15 g

Información nutricional		
Cantidad por porción: 15 g (1 y1/2 cucharada)		
COMPONENTE	VALORES	PORCENTAJE
Valor energético	210 kJ	50 kCal
Grasa Total	0 mg	0 %
Colesterol	0 mg	0 %
Sodio	25 mg	1 %
Carbohidratos Totales	1,5 g	1 %
Azúcares	0 g	0 %
Proteínas	11 g	22 %
Fibra	0,5 g	2 %
Vitamina C	32,1 mg	50 %
Niacina	6,92 mg	38 %
Ácido Pantoténico	1,99 mg	20 %
<i>B</i> ₁₂	1,9 µg	79 %
<i>B</i> ₆	0,95 mg	48 %
Zinc	7,4 mg	40 %

Composición Nutricional del producto comercial Naara.
Naara, 2015

2.2.4.8. Propiedades de colágeno en organismos acuáticos

En análisis realizados al colágeno proveniente de pescados comúnmente utilizados para la producción de gelatina, se ha encontrado que la distribución de aminoácidos es similar al proveniente de los mamíferos, pero con menores cantidades de prolina e hidroxiprolina y altos valores de serina, treonina, y en algunos casos metionina. Así mismo, en un análisis donde se compararon las propiedades del colágeno tipo I del gran tiburón azul (*Prionace glauca*) y las del colágeno de cerdo, se encontró que el colágeno, proveniente del tiburón, presenta una menor temperatura de desnaturalización lo cual se relaciona con el menor contenido de aminoácidos (Shahidi, 2006).

2.3 Marco legal

Este proyecto de investigación se basará en las normas:

2.3.1 Cuantificación de humedad: International Standard ISO 1442:1997

Es un método aplicable a alimentos sólidos, líquidos o pastosos no susceptibles a la degradación al ser sometidas a temperaturas superiores a 105 °C. Este método es inadecuado para productos ricos en sustancias volátiles distintas del agua. El método aplicado para la determinación de Humedad es el ISO 1442:1997 "Meat and meat products - Determination of moisture content (Reference method)", método para determinar el contenido de humedad en carnes y productos cárnicos.

2.3.2 Cuantificación de cenizas totales, método gravimétrico: NTE INEN 0467

Esta norma establece el método para determinar el contenido de cenizas la norma aplicada es la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 0467, empleada para la determinación de las cenizas en Harina de pescado.

2.3.3 Cuantificación de proteínas por el método de Kjeldahl: método oficial de la MLA_22 AOAC 2001. 11 Ed. 20, 2016

La determinación de proteínas totales se la realiza por el método de Kjeldahl en donde se requiere el uso de ácido sulfúrico al 97 %, además de catalizador de sulfato de potasio y sulfato cúprico (10:1), solución de hidróxido de sodio al 40% p/v, solución de ácido bórico 4 % p/v, indicador de verde de bromocresol y rojo de metileno. Las pruebas se realizarán en siguientes equipos: Digestor de Proteínas Micro Digestors – Labconco y Unidad de RapidStill I – Labconco.

2.3.4 Calorimetría diferencial de barrido (DSC): ISO 11357

Describe métodos de ensayo DSC termoanalíticos, los cuales, se pueden emplear con el fin de asegurar la calidad, para comprobaciones de rutina de materias primas y productos acabados, o para la determinación de datos comparables necesarios para fichas o bases de datos. Se aplican los procedimientos dados en la Norma ISO 11357, siempre y cuando, las normas de producto o las normas que describen atmósferas especiales de acondicionamiento de probetas no especifiquen otra cosa.

3. Materiales y métodos

3.1 Enfoque de la investigación

La presente tesis se llevó a cabo mediante un enfoque de investigación y desarrollo.

3.1.1 Tipo de investigación

Para fines de obtención de los resultados se usó 3 tipos de investigación,

- a. Se partió de una investigación documental y bibliográfica para la recolección de bases teóricas y estudios documentales que permitieron argumentar o fundamentar las bases de la metodología propuesta.
- b. Se utilizó una investigación de laboratorio de tipo analítica para obtener resultados a partir de análisis basados en la obtención del colágeno a partir de la piel de pescado bonito sierra y trucha.
- c. Finalmente se terminó con una investigación descriptiva y explicativa para presentar las conclusiones del estudio sobre la extracción de colágeno a partir de la piel de pescado bonito sierra y trucha.

3.1.2 Diseño de investigación

El diseño de investigación se enmarcó mediante un método científico argumentado con la investigación experimental, aplicando una descripción con diseño cualitativo y cuantitativo, partiendo con la determinación de las propiedades térmicas (punto de fusión, temperatura de transición vítrea) del colágeno, obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*) mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Adicionalmente, se determinó el contenido de proteínas mediante el método de Kjeldahl y a la cuantificación del contenido de humedad y cenizas en el colágeno, obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha. Una vez obtenidos los resultados se procedió a comparar las propiedades

físico - químicas del colágeno, obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha con un colágeno de tipo comercial para así validar o descartar la hipótesis planteada.

3.2 Metodología

3.2.1 Variables

3.2.1.1. Variable independiente

- Colágeno de la piel de pescado bonito sierra (*Sarda sarda*)
- Colágeno de la piel del pescado trucha (*Oncorhynchus mykiss*)

3.2.1.2. Variable dependiente

- Punto de fusión, temperatura de transición vítrea.
- Porcentaje de proteína.
- Contenido de humedad y cenizas.

3.2.2 Tratamientos

En la tabla 8, se presentó las condiciones de tratamientos experimentales para la obtención del colágeno a partir de las muestras de piel de pescado bonito sierra y trucha.

Tabla 8. Tratamientos a realizar

Tratamientos	Extracción de colágeno Etapa de secado	
	Temperatura	Tiempo
Tratamiento 1 Pescado Bonito	40°C	3 horas
Tratamiento 2 Pescado Trucha	40°C	3 horas

Parámetros para la extracción de colágeno de la piel de pescado bonito sierra y trucha.

Piguave, 2020

Durante el proceso de extracción de colágeno se realizó una precipitación salina para activar el pre colágeno y después de esto se procede al secado en donde es fundamental tener en cuenta en control del tiempo y temperatura para obtener el máximo aprovechamiento en la extracción del colágeno. Cabe mencionar que se usó las mismas condiciones de tiempo de temperatura sobre las dos muestras de piel de pescado, debido a que el objetivo de la investigación se basa en únicamente en extraer colágeno para determinar sus propiedades y compararlos con un colágeno comercial

3.2.3 Diseño experimental

Por el tipo de investigación a realizar no se utilizó el diseño experimental.

3.2.4 Recolección de datos

3.2.4.1. Recursos

Entre todos los recursos que más aceptabilidad tenía referente al tema está:

- Revistas
- Artículos
- Libros
- Páginas web
- Tesis referente al tema
- Entre otros

3.2.4.1.1. Materiales

- Equipo de protección personal
- Papel filtro
- Caja de Petri 100 x20 mm
- Vasos de precipitación de 100 ml
- Pipeta

- Varillas de vidrio

3.2.4.1.2. *Insumos*

- Pescado bonito sierra (*Sarda sarda*)
- Pescado trucha (*Oncorhynchus mykiss*)
- Agua destilada.

3.2.4.1.3. *Equipos*

- Balanza digital ADB 200-4 Rango (0...210) g - Resolución 0,1mg
- Filtros de Buchner
- Estufa
- Cámara de Refrigeración
- Kjeldahl
- Licuadora
- Agitador Magnético
- Termómetro

3.2.4.1.4. *Reactivos*

- Hipo clorito de sodio
- Cloruro de sodio
- Ácido fosfórico
- D-limoneno
- Peróxido de hidrógeno
- Hidróxido de sodio
- Cloruro de sodio
- Agua destilada

3.2.4.2. Métodos y técnicas

3.2.4.2.1. Diagrama de flujo de la extracción del colágeno a partir de la piel de pescado bonito sierra (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*)

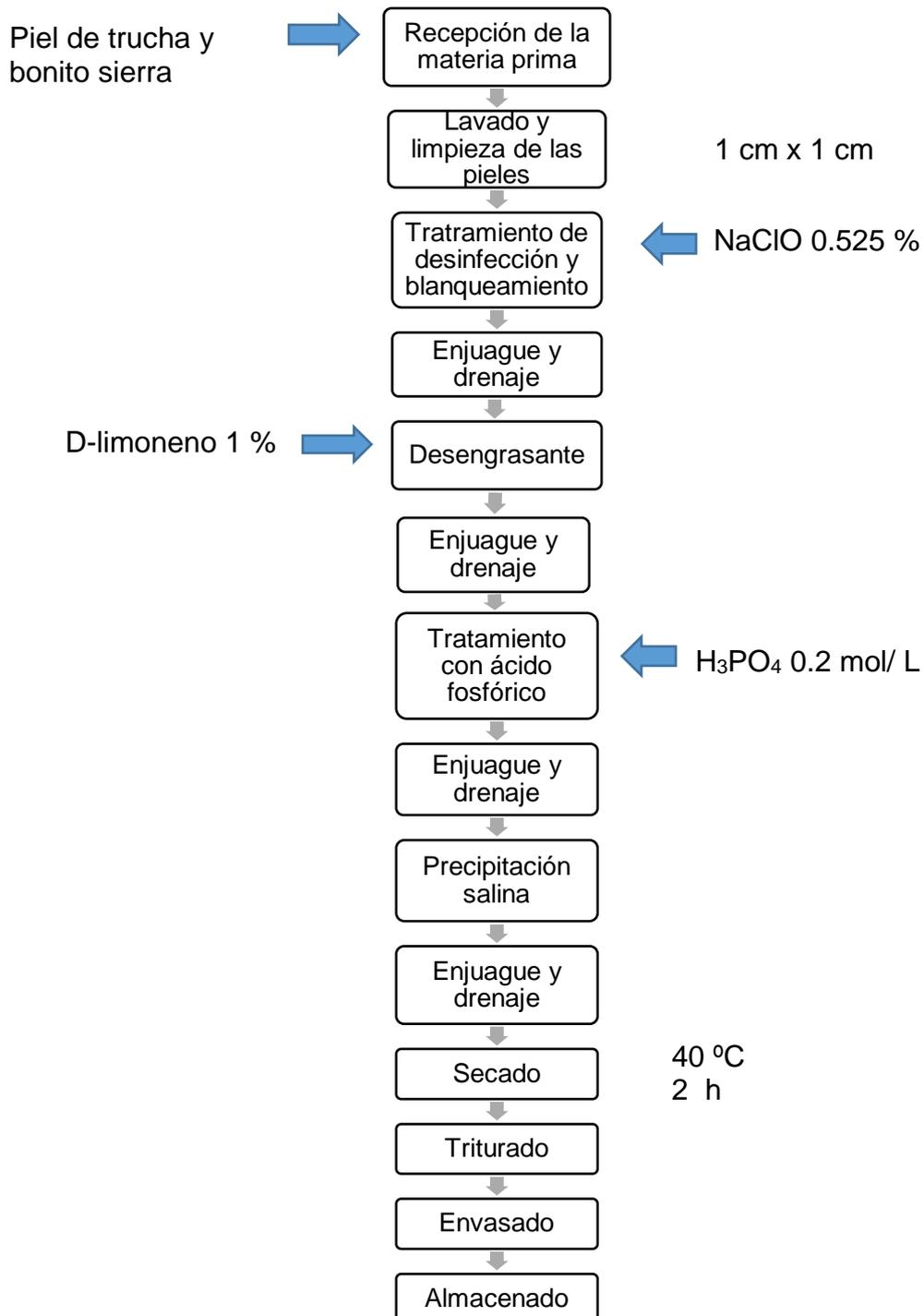


Figura 4. Diagrama de flujo para la obtención de colágeno a partir de las pieles de pescado bonito sierra (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*) Piguave, 2020

3.2.4.2.2. Descripción del proceso

Recepción de la materia prima: Se realizó una extracción de la piel del pez bonito sierra 10 libras y trucha 10 libras despojando la piel de los filetes, procediendo a realizar la reducción del tamaño de pieles de manera manual, cortando fragmentos en forma de cuadros de aproximadamente de 1 cm x 1 cm con un peso de 45.32g de piel de pez bonito sierra y 45.11g de trucha.

Lavado y limpieza de pieles: Se realizó el lavado con agua destilada, para luego sustraer la piel del resto de filetes, eliminando de las pieles cualquier tipo de restos orgánicos y extraños adjuntos, de tal manera que no afecte a los resultados a futuro.

Tratamiento de desinfección y blanqueamiento: En esta etapa se debe contralar la concentración de NaClO, tiempo de reacción que fue de 4 horas para cada vaso de precipitación de 600 ml , dos soluciones de NaClO de piel de pez bonito sierra con un peso de 22,66 g y otro de 22,66 g y dos soluciones de NaClO de piel de pez trucha con un peso de 22,55 g y otro de 22,55 g , la temperatura de 35 °C y la relación peso de piel: volumen de solución (p/v), ya que todos estos factores deben mantenerse constantes, siendo la concentración de NaClO al 0,525 % (p/v), en un tiempo de 4 horas , una temperatura de 35 °C y la relación peso piel: volumen de solución de 1:10 p/v. Estas condiciones son esenciales para la eliminación de compuestos no deseados (grasas, microorganismos, color y olor característico a pescado) presentes en las pieles o en el producto final o pueden interferir en las etapas posteriores.

Para alcanzar la concentración de NaClO al 0, 525 % se empleó la fórmula para hacer diluciones

- ¿Cuántos gramos de NaOH se requieren para preparar 1,2L de una disolución con concentración de 0,6 M?

$$0,6 \text{ mol} \quad \times \quad 2\text{L}$$

$$x \quad \quad \quad 1,2\text{L}$$

$$X = 0,36 \text{ moles}$$

La masa de 1 mol de NaOH en gramos

$$1 \text{ mol de NaOH} \quad \times \quad 40 \text{ gramos de NaOH}$$

$$0,36 \text{ moles} \quad \quad \quad X$$

$$X = 14,4 \text{ gramos de NaOH}$$

- ¿Cuál es el porcentaje de NaOH en una solución que contiene 14,4 g de NaOH de soluto en 1,200 ml de solución?

$$\text{Soluto} = 14,4 \text{ g}$$

$$\text{Solvente} = ?$$

$$\text{Solución} = 1,200 \text{ g}$$

$$\% \text{ p/v} = \frac{\text{g de soluto}}{\text{ml de la solución}} \times 100$$

$$\% \text{ p/v} = \frac{14,4 \text{ g}}{1,200 \text{ ml de la solución}} \times 100$$

$$\% \text{ p/v} = 1,200\%$$

- Se necesita preparar 1,2 L de NaClO al 0,525 % a partir de una solución stock cuya concentración es de 1,200 %

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{0,525 \% \times 1,2 \text{ L}}{1,200 \%}$$

$$V_1 = 0,525 \text{ L}$$

Debido a que la relación a utilizar en esta etapa es de 1:10 (peso piel / volumen solución) lo que indica que por 45.32g bonito sierra y 45.11g de trucha se debe emplear una solución de 300 ml de NaClO al 0, 525 %.

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Debido a que la relación a utilizar en esta etapa es de 1:10 (peso piel / volumen solución) lo que indica que por 45 gramos de piel se debió emplear una solución de 450 ml de NaClO al 0, 525 %.

Enjuague del producto: se realizó un lavado con agua destilada para la piel decolorada, con el fin de eliminar en su totalidad el NaClO y así evitar que permanezcan trazas de este producto en las pieles tratadas o que exista algún tipo de interferencia en futuros pasos de la extracción.

Desengrasado: esta operación se realizó con una solución de D- limoneno a una concentración de 1 % para eliminar los compuestos de grasas presentes en la piel de tilapia por un tiempo de 24 horas.

Enjuague y drenado del producto: En esta etapa se utilizó agua destilada para la exclusión del D-limoneno utilizado y así eliminar grasas.

Tratamiento con ácido fosfórico: consiste en el hinchamiento de la masa mediante una solución de ácido fosfórico H_3PO_4 $0,2 \frac{mol}{l}$ en un tiempo de 42 horas de hidrólisis, a temperatura ambiente.

Tratamiento con ácido fosfórico: consiste

$$N = \frac{\text{masa}}{\text{Peso molecular}}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{X}{97,99 \text{ g/mol } H_3PO_4}$$

$$X = 97,99 \text{ g/mol} \times 0,2 \text{ M}$$

$$m = 19,59 \text{ g } H_3PO_4$$

Enjuague y drenado del producto: Se lo realizó con abundante agua durante 5 a 10 minutos.

Precipitación salina: Consistió en el deshinchamiento de la masa y la recuperación del colágeno de la solución acida, precipitándolo con una solución de cloruro de sodio (40 g de cloruro de sodio), gracias a sus cargas iónicas que esta sal proporciona a la proteína precipitándolo por 24 horas.

Enjuague y drenado: Se lo realizó después de la etapa de precipitación salina con abundante agua hasta su remoción.

Secado: Se colocó en la estufa a una temperatura de 40 °C hasta la vaporización total del agua que contiene el producto.

Triturado: Se logró obtener un colágeno pulverizado con un peso de colágeno bonito 8.1433 g y trucha de 5.9778 g

Envasado: Se logró envasar el producto final deben ser herméticos y de vidrio.

Almacenado: El producto debe ser almacenado en algún lugar fresco y limpio. y con una temperatura adecuada

3.2.4.2.3. Determinación de proteínas totales

La determinación de proteínas totales se la realiza por el método de Kjeldahl en donde se requiere el uso de ácido sulfúrico al 97 %, además de catalizador de sulfato de potasio y sulfato cúprico (10:1), solución de hidróxido de sodio al 30 % p/v, solución de ácido bórico 4 % p/v, indicador de verde de bromocresol y rojo de metileno. Las pruebas se realizaron en siguientes equipos: Digestor de Proteínas Micro Digestors – Labconco y Unidad de RapidStill I – Labconco.

Pasos para la digestión.

- a) Pesar entre 0.10 g de muestra e introducir en un tubo de Kjeldahl. Agregar al tubo 2 pastillas de sulfato de cobre, 20 ml de ácido sulfúrico concentrado y 3 ml de peróxido de hidrogeno al 35%.
- b) Encender el digestor y precalentar los tubos que contienen las muestras a la temperatura de 160 °C, por un tiempo de 30 min, girando los tubos cada 10 minutos hasta llegar a un T° 400 °C
- c) Calentar hasta la total destrucción de la muestra, es decir hasta que el líquido quede transparente, con una coloración azul verdosa característica del catalizador empleado.
- d) Al finalizar de la digestión sacar los tubos muestras del digestor y dejar a enfriar a temperatura ambiente, si es necesario añadir unos 20 a 25 ml de agua destilada con el fin de no dejar solidificar la muestra.

Destilación.

- a) Encender el equipo de destilación y destilar hasta alcanzar un volumen en el matraz Erlenmeyer de 100 – 150 ml (25 ml Bórico + 75 – 125 ml de destilado).
- b) Valorar el destilado con HCl a 2M hasta el cambio de color.
- c) Calcular el % de proteína aplicando la formula siguiente:

$$\text{mg} \times N = N \times V \times 1$$

Donde:

N = Normalidad del ácido de valoración

V = Volumen de ácido consumido

14 = Peso atómico del nitrógeno.

$$\% \text{ Proteínas} = \frac{P_2}{P_0} \times 100 \times F$$

Donde:

P_2 = Nitrógeno (mg).

P_0 = Peso de la muestra (mg).

F = Factor proteínico (6.25 por defecto).

Se utilizó 10 ml de indicador rojo de metileno y 10 ml de verde bromocresol

- En una bureta de 40 ml se llenó hasta 10 ml de hidróxido de sodio en 250 ml de la muestra de la destilación del colágeno de la piel de bonito cambio de color al baja 3ml de hidróxido de sodio quedando en 253 ml de la muestra
- En la trucha se agregó 7ml de hidróxido de sodio en 200 ml de la muestra de la destilación de la piel de pez de trucha bajo 2 ml y cambio de color quedando la muestra en 202 ml

3.2.4.3.4. Método de determinación de cenizas

Esta norma establece el método para determinar el contenido de ceniza la norma aplicada es la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 0467, empleada para la determinación de las cenizas en Harina de pescado.

Procedimiento:

- Pesar un crisol de porcelana vacío.
- Calentar el crisol de porcelana en la mufla ajustada a $530 \text{ }^\circ\text{C} \pm 20 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 30 min y luego enfriar en el desecador.
- Transferir al crisol y pesar, aproximadamente 2 g de muestra.
- Colocar el crisol con su contenido cerca de la puerta de la mufla abierta y mantenerla allí durante unos pocos minutos para evitar

pérdidas por proyección de material, lo que podría ocurrir si la cápsula se introduce directamente en la mufla. Introducir el crisol en la mufla a 530 °C por 4 horas para obtener cenizas libres de partículas de carbón.

- Sacar el crisol con las cenizas de la mufla, dejar enfriar en el desecador y pesar.

Cálculos.

El contenido de cenizas se determina empleando la ecuación siguiente:

$$\% C = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100$$

Siendo:

C = contenido de cenizas en la harina, en porcentaje de masa.

m = masa del crisol vacía, en gramos.

m₁ = masa del crisol con muestra (antes de la incineración), en gramos.

m₂ = masa del crisol con las cenizas (después de la incineración), en gramos.

3.2.4.4.5. Determinación de humedad

Es un método aplicable a alimentos sólidos, líquidos o pastosos no susceptibles a la degradación al ser sometidas a temperaturas superiores a 105 °C. Este método es inadecuado para productos ricos en sustancias volátiles distintas del agua. El método aplicado para la determinación de Humedad es el ISO 1442:1997 "Meat and meat products - Determination of moisture content (Reference method)", método para determinar el contenido de humedad en carnes y productos cárnicos, cuyo procedimiento es el siguiente:

- Pesar una cápsula vacía.

- Pesar aproximadamente 9.004 gramos de muestra de pescado de cada especie en la cápsula y distribuirla de tal forma que ocupe la mayor superficie posible.
- Colocar la cápsula con la muestra en la estufa a una temperatura de 110 °C durante 3 horas.
- Sacar la muestra de la estufa y colocarla en el desecador por 10 min.
- Pesar la cápsula con la muestra seca en una balanza analítica y realizar los cálculos correspondientes.

Cálculos:

El contenido de humedad se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$\% H = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

H = contenido de humedad.

P_i = peso de la cápsula vacía.

P_f = peso de la cápsula vacía más muestra.

3.2.4.3.6 Calorimetría diferencial de barrido

La Norma ISO 11357 especifica varios métodos de calorimetría diferencial de barrido (DSC) para el análisis térmico de polímeros y mezclas de polímeros, tales como:

- Termoplásticos (polímeros, compuestos moldeados y otros materiales de moldeo, con o sin cargas, fibras o refuerzos);
- Termoestables (materiales sin curar o curados, con o sin cargas, fibra o refuerzos);
- Elastómeros (con o sin cargas, fibras o refuerzos).

La Norma ISO 11357 está destinada para la observación y medición de varias propiedades de, y fenómenos asociados con, los materiales arriba mencionados, tales como – transiciones físicas (transición vítrea, fases de transición como fusión y cristalización, transiciones polimórficas, etc.), reacciones químicas (polimerización, agrietamiento y curado de elastómeros y termoestables, etc.), estabilidad a la oxidación y capacidad calorífica

Esta parte de la Norma ISO 11357 especifica un número de aspectos generales de la calorimetría diferencial de barrido, tales como el principio del método y los aparatos.

3.2.5 Análisis estadístico

Con los datos obtenidos se realizó por medio de herramientas de Excel los cuadros estadísticos comparativos entre los tratamientos y el testigo convencional en cuanto a los análisis de laboratorios como: humedad, proteínas y cenizas.

4. Resultados

Se realizó una extracción de la piel del pez bonito 10 libras y trucha 10 libras despojando la piel de los filetes y mediante la operación de extracción de colágeno planteada en la metodología se logró obtener un colágeno pulverizado con un peso de colágeno bonito 8.1433 g y trucha de 5.9778 g y mediante la ejecución de los objetivos planteados se logró obtener los resultados detallados a continuación.

4.1 Determinación de las propiedades térmicas (punto de fusión, temperatura de transición vítrea) del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*) mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

Para la evaluación de las propiedades térmicas del colágeno obtenido de la piel del pescado bonito sierra (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*) se utilizó el método de Calorimetría diferencial de barrido (DSC) donde se observó la influencia de la temperatura y tiempo aplicado sobre las muestras de colágenos para establecer el punto de fusión en donde las moléculas de colágeno se desnaturalizan y se tornan en una consistencia gelatinosa y la temperatura de transición vítrea (Tg) que representa el rango de temperatura en donde aún se conservan flexibilidad del colágeno ante la presencia de presión térmica.

4.1.1 Propiedades térmicas del colágeno extraído de la piel del pescado bonito

La muestra de colágeno extraído de la piel del pescado bonito fue sometida a la prueba Calorimetría diferencial de barrido (DSC) (ver anexo 1), para determinar en primera instancia su temperatura de transición vítrea. El

ensayo inicio con la exposición a un flujo de calor ascendente en donde al llegar a una temperatura 132.20 °C el colágeno presento una textura rígida y al llegar a los 150.21 °C la muestra alcanzo la temperatura de transición vítrea, para finalmente llegar a una temperatura final de 178.89 °C donde se detuvo la aplicación de calor ya que la muestra presentaba una textura con poca rigidez. Además, se determinó el punto de fusión de la muestra de colágeno en base al flujo de calor aplicado señalado que a 100 °C el colágeno mantiene un punto de fusión de 0.9343 w/g siendo su mayor punto de fusión a los 40 °C con un punto de fusión de 1.141 w/g, tal como se muestra en la figura 5.

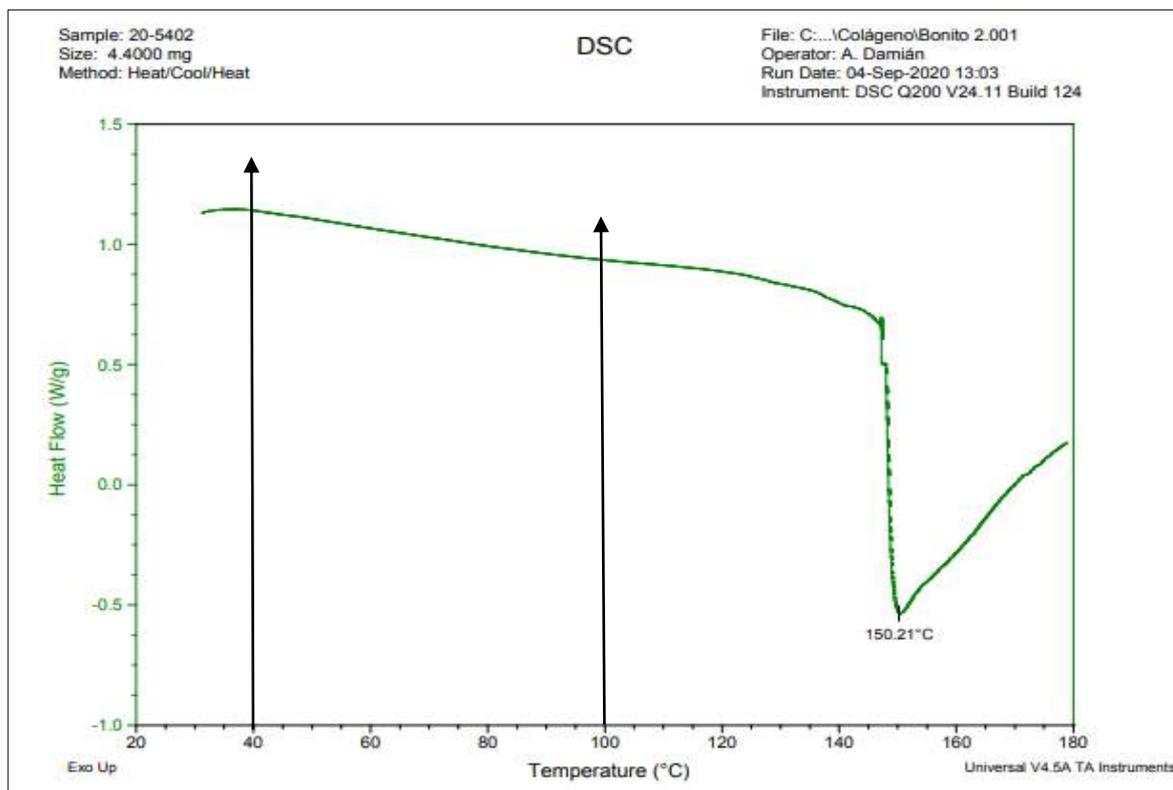


Figura 5. Resultados de las propiedades térmicas del colágeno extraído de la piel del pescado bonito sierra Piguave, 2020

4.1.2 Propiedades térmicas del colágeno extraído de la piel del pez trucha (*Oncorhynchus mykiss*)

Se realizó la prueba Calorimetría diferencial de barrido (DSC) en la muestra de colágeno extraído de la piel del pez trucha (ver anexo 1), para determinar sus propiedades térmicas. El ensayo inicio con la determinación de la temperatura de transición vítrea, en donde la muestra de colágeno empezó a tomar una consistencia rígida al llegar a los 77.73 °C alcanzando el nivel de transición vítrea a la temperatura de 118.52 °C y se finalizó la observación a los 180.50 °C cuando la muestra de colágeno presentaba una textura con poca rigidez. Además, se determinó el punto de fusión de la muestra de colágeno en base al flujo de calor aplicado señalado que a 100 °C el colágeno mantiene un punto de fusión de 0.5319 w/g siendo su mayor punto de fusión a los 40 °C con un punto de fusión de 1.022 w/g, tal como se muestra en la figura 6.

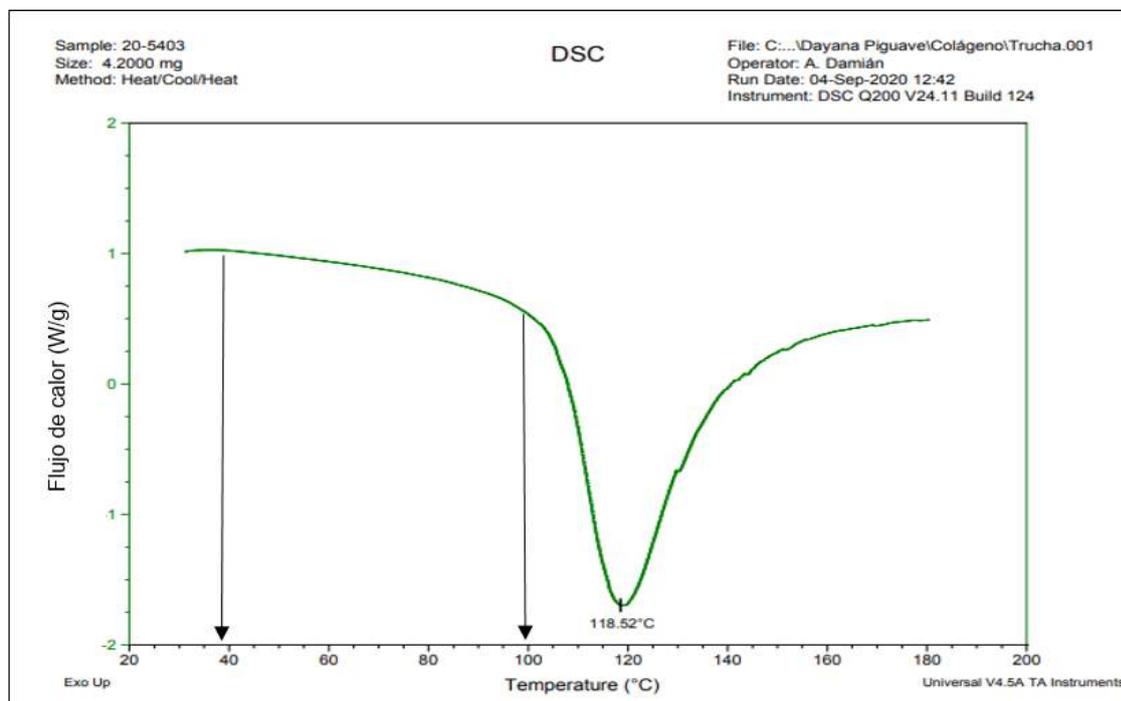


Figura 6. Resultados de las propiedades térmicas del colágeno extraído de la piel del pez trucha Piguave, 2020

4.1.3 Comparación de las propiedades térmicas en las muestras de colágeno extraídas

En la tabla 8 se puede observar que la muestra de colágeno extraída del pez bonito alcanza su temperatura de transición vítrea a los 150.21 °C, indicándose que a esta temperatura aún se conserva su flexibilidad a diferencia del colágeno extraído del pez trucha cuyo nivel de transición vítrea se da a una temperatura más baja con un rango de 118.52 °C. En relación al punto fusión a 40 °C el colágeno extraído del pez bonito sierra posee el mayor valor e inclusive se mantiene en un nivel superior en relación al colágeno extraído del pez trucha al llegar a los 100 °C, tal como se indica en la figura 7.

Tabla 8. Propiedades térmicas de las muestras de colágenos extraídas

Muestra de colágeno	temperatura de transición vítrea	Punto de fusión a 40 °C	Punto de fusión a 100 °C
Pez bonito	150.21 °C	1.141 w/g	0.9343 w/g
Pez trucha	118.52 °C	1.022 w/g	0.5319 w/g

Flujo calórico de la resistencia. [W]. G. Flujo másico específico.
Piguave, 2020

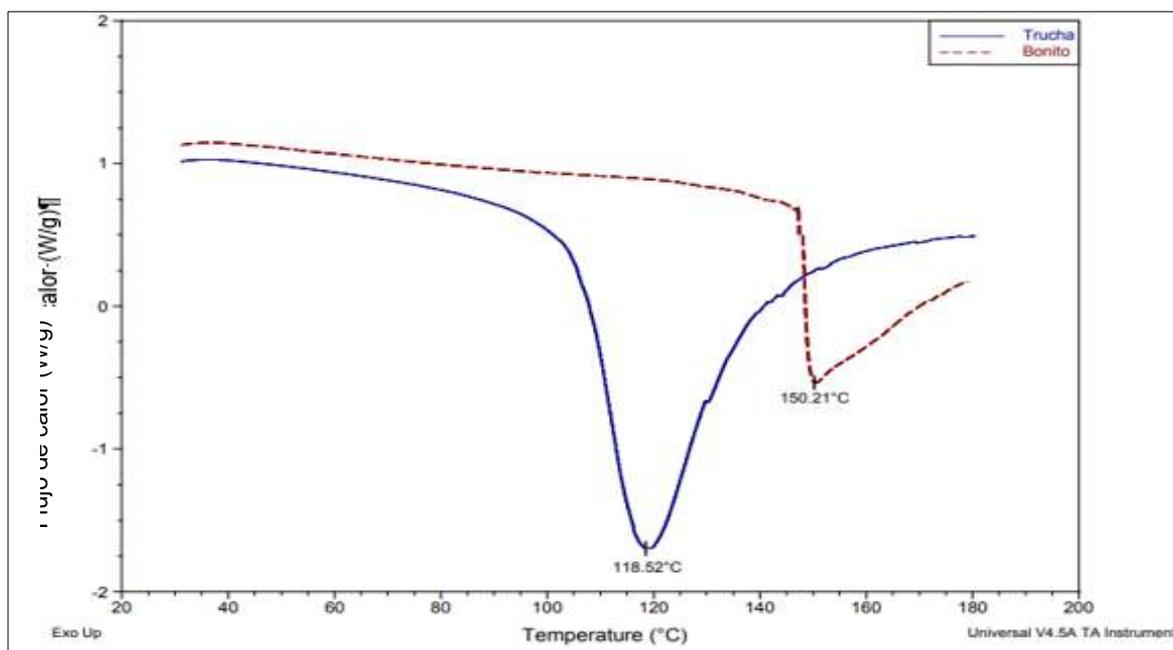


Figura 7. Propiedades térmicas de las muestras de colágenos extraídas
Piguave, 2020

4.2 Determinación del contenido de proteínas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha mediante el método de Kjeldahl.

La determinación de proteínas totales se la realizo en los laboratorios de la Universidad Agraria del Ecuador, campus Guayaquil mediante el método de Kjeldahl utilizando los siguientes equipos: Digestor de Proteínas Micro Digestors – Labconco y Unidad de RapidStill I – Labconco. Los resultados obtenidos se detallan en la tabla 9.

Tabla 9. Contenido de proteínas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha

Muestra de colágeno	Unidades	Resultado	Colágeno comercial Naara
Pezbonito sierra	%	24.70	22 %
Pez trucha	%	30.94	

Comparación de la concentración proteica en relación con el contenido de proteínas de un colágeno de marca comercial
Piguave, 2020

En base a los resultados obtenidos se puede observar en la tabla 8 que el colágeno obtenido de la piel de pez trucha posee una concentración de proteínas del 30.94 % siendo superior a la concentración del colágeno extraído de la piel de pez bonito con un valor de 24.70 % de proteínas. Para su comparación con un colágeno de marca comercial se tomó como referencia el colágeno hidrolizado Naara con un aporte 22 % de proteína metabolizada. Sin embargo, cabe señalar que la concentración de proteínas del colágeno de piel de los peces se encuentra en una concentración bruta, por lo cual requiere aun la realización de procesos bioquímicos para determinar una concentración proteica que pueda ser metabolizada por el organismo humano.

4.3 Cuantificación del contenido de humedad y cenizas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha.

Se analizó las muestras de colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito y trucha en los laboratorios de la Universidad Agraria del Ecuador, campus Guayaquil para determinar su concentración de humedad y cenizas (ver anexo 2) obteniendo los resultados detallados en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados del análisis físico-químico del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha

Parámetros a analizar	Unidades	Colágeno Pez bonito	Colágeno Pez trucha
Humedad	%	6	23.88
Cenizas	%	29.40	66.73

Análisis de los resultados de humedad y cenizas en el colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha.
Piguave, 2020

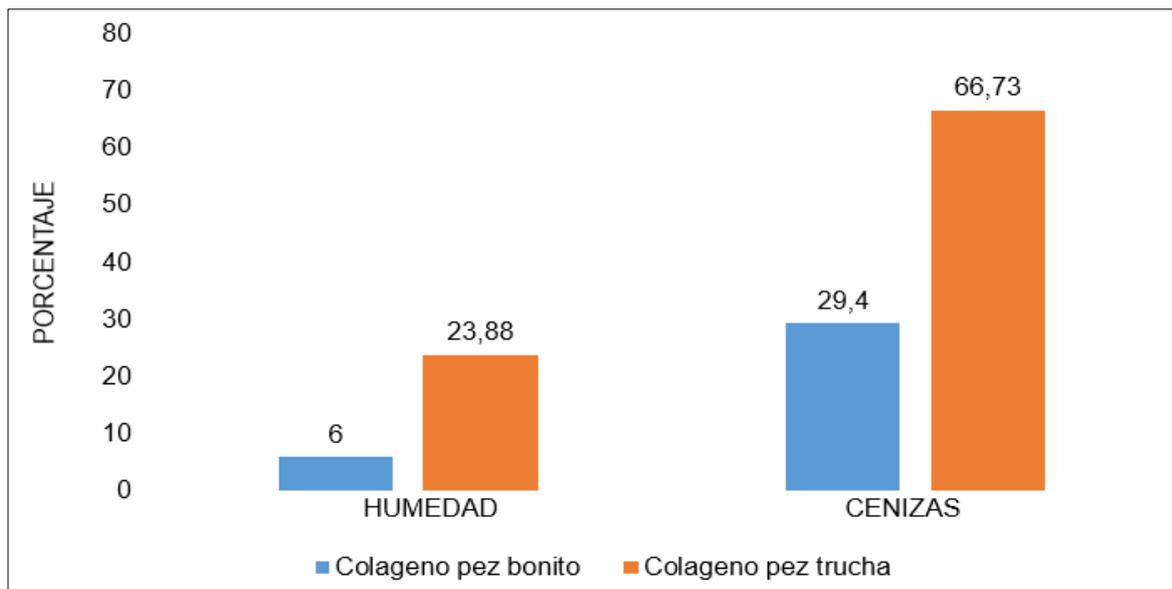


Figura 8. Resultados del análisis físico químico
Piguave, 2020

En la figura 8 se puede observar que el colágeno de la piel de trucha posee un mayor porcentaje de humedad y cenizas en relación con las concentraciones determinadas en la muestra de colágeno de la piel del pez bonito sierra.

4.4 Comparación de las propiedades físico-químicas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha con el colágeno comercial.

El análisis de las propiedades físico-químicas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha dio como resultado que el colágeno obtenido de la piel del pez bonito posee 6 % de humedad y 29.40 % de cenizas y el colágeno extraído del pez trucha posee 23.88 % de humedad y 66.73 % de cenizas tal como se indica en la tabla 11.

Tabla 11. Comparación del colágeno extraídas de los peces bonito y trucha en relación a marcas comerciales de colágeno

Parámetros a analizar	Unidades	Colágeno Pez bonito	Colágeno Pez trucha	Colágeno comercial 1	Colágeno comercial 2
Humedad	%	6	23.88	18	16
Cenizas	%	29.40	66.73	26	31

Colágeno comercial 1= Marca Naara; Colágeno comercial 2 = Marca Mifarma. Piguave, 2020

Se realizó la comparación de las propiedades físico-químicas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha con el colágeno comercial dando como resultado en el caso del colágeno de pez trucha, una humedad del 23.88 %, siendo superior al colágeno del pez bonito con 6% y a la marca de colágeno comercial # 1 con una humedad del 18% y a la marca comercial # 2 con una humedad del 16 %. En el caso del análisis de cenizas el colágeno de pez bonito registró 29.40 % y el pez trucha obtuvo 66.73 %, siendo superiores en relación a las marcas comerciales con el 26 % y 31 % respectivamente.

5. Discusión

Al evaluar el punto de fusión de los colágenos obtenidos a partir de la piel del pescado bonito sierra (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*) mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) se obtuvo como resultado que la muestra de colágeno extraída del pez bonito alcanza su temperatura de transición vítrea a los 150,21 °C y en el colágeno proveniente del pez trucha se da a los 118,52 °C, los resultados expuestos por Beltrán (2011), demuestran que el colágeno obtenido a partir de piel de tilapia (*Oreochromis sp*) presenta alteraciones en su punto de transición vítrea al exponerse a temperaturas mayores a los 150 °C tomando una consistencia sólida poco manejable y su punto de fusión estable se da a los 65 °C, resultados similares a los obtenidos en la presente investigación. Por otra parte, Quintero y Zapata (2017) indican que el colágeno obtenido del procesamiento de la piel de tilapia roja preservó su flexibilidad en la prueba térmica de Calorimetría diferencial de barrido (DSC) hasta llegar a los 145 °C, debido a que la temperatura influye en la flexibilidad del polímero variando de manejable a rígido teniendo en cuenta que las temperaturas de desnaturalización del colágeno obtenido de peces de agua fría como la trucha es menor a la de los peces de aguas tropicales entre ellos el pez bonito sierra y la tilapia, coincidiendo que se debe tener en cuenta que la aplicación de altas temperaturas puede facilitar la conversión de colágeno en gel y aumenta el rendimiento, sin embargo las altas temperaturas pueden cambiar la conformación del colágeno, provocando una menor solubilidad y cambios en la textura dependiendo de la procedencia de los peces empleados para su obtención.

Al someter las muestras de colágeno obtenidos del pez bonito y del pez trucha a una temperatura de 100 °C se obtuvo como resultado que el colágeno del pez bonito sierra soporta una mayor carga de tensión alcanzando los 0,9343 w/g y el colágeno del pez trucha soportó una presión de fuerza de 0,52 w/g, Beltrán (2011), indica que el colágeno obtenido a partir de piel de tilapia (*Oreochromis sp*) soporta fuerzas de 0,48 w/g. Por otra parte, Quintero y Zapata (2017) evidenciaron que el grado de tensión 1,20 w/g de las moléculas generó rigidez en la consistencia del colágeno obtenido del procesamiento de la piel de tilapia roja, debido a que al alcanzar un nivel de tensión alta provoca mayor rigidez, coincidiendo que los cambios de texturas se pueden relacionar con los niveles de tensión alcanzado por el colágeno obtenido de la piel de peces, esto se debe a que al colágeno extraído de la piel se le atribuye la resistencia a la tensión a los tendones que posee, siendo más resistentes a los colágenos obtenidos de las escamas y las aletas.

En el contenido de proteínas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha mediante el método de Kjeldahl se evidenció que la piel de pez trucha posee una concentración de proteínas del 30,94 %, siendo superior a la concentración del colágeno extraído de la piel de pez bonito con un valor de 24,70 %. Garcia y Pilligua (2013), obtuvieron colágeno a partir de hueso y aletas de pescado, dando como resultado una concentración de proteína colagenada en la caballa del 49,8 %, debido a que las concentraciones de colágeno varían de acuerdo a la especie o género del animal y estas a su vez influyen en los porcentajes de proteínas colagenadas. Por otra parte, Sampedro y Hidalgo (2018), señalan que la concentración de colágeno de piel de tilapia (*Oreochromis niloticus*) presenta un nivel proteico del 35 % debido a un contenido alto de aminoácidos como la hidroxiprolina.

Además Juher y Pérez (2015) mencionan que en zonas anatómicas como las aletas y los huesos la producción de nitrógeno total es mayor durante la degradación postmortem en relación a la piel, lo cual genera mayores concentraciones de proteínas al aplicar el método Kjeldahl, coincidiendo que al presentar mayor contenido de colágeno que es la proteína presente en la piel de los vertebrados, se obtendrá mayor porcentaje de proteínas colagenadas, también es importante tener en cuenta las partes de los peces y la especie que se utilizan para la extracción de colágeno, un claro ejemplo de esto es la tilapia que presenta mayor contenido de proteína cruda (26 g) en comparación al pez bonito (20 g) y la trucha (22 g), también cabe mencionar que el contenido de proteína cruda influye en el porcentaje de proteína final.

El contenido de humedad del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha fue de 6 % y 23,88 %, respectivamente. Sampedro e Hidalgo (2018) indican que el colágeno obtenido de los residuos del procesamiento de anchoveta presenta un contenido de humedad del 8% similar al resultado obtenido en la evaluación del colágeno obtenido de una de las especies estudiadas. Por otra parte, Almeida (2018) evidenció que el colágeno obtenido a partir de tilapia roja contiene 26,32% siendo este similar al contenido de humedad del colágeno del pez trucha, coincidiendo que las partes, la variedad y especie de peces empleados en la obtención de colágeno influyen en la concentración de la humedad.

El contenido de cenizas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha fue de 29,40 % y de 66,73 %, respectivamente. Con relación a los resultados, obtenidos por Falconí-Tarira y Torres-Chóez (2018), entre los requisitos esenciales para la elección de un buen colágeno se destaca el enriquecimiento con ácido hialurónico,

minerales, vitaminas, lo cual aumenta la eficiencia del colágeno. Sampedro e Hidalgo (2018) indican que el colágeno obtenido de los residuos del procesamiento de anchoveta presenta un contenido de cenizas de 0,7 %, siendo estos relativamente menores a los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, por otra parte, Almeida (2018) obtuvo 0,25 % de cenizas en el análisis realizado al colágeno obtenido de la piel de tilapia roja, coincidiendo que no todas las especies de peces son aptas para la obtención de colágeno ya que al analizar el contenido de cenizas se obtiene resultados relativamente bajos, debido que al analizar el contenido de cenizas se determina la pureza del colágeno obtenido.

Se comparó las propiedades físico-químicas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha con el colágeno comercial dando como resultado en el caso del colágeno de pez trucha, una humedad del 23,88 %, siendo superior al colágeno del pez bonito con 6 %, a la marca de colágeno comercial # 1 con una humedad del 18 % y a la marca comercial # 2 con una humedad del 16 %. En el caso del análisis de cenizas el colágeno de pez bonito registró 29.40 % y el pez trucha obtuvo 66.73 %, siendo superiores en relación a las marcas comerciales con el 26 % y 31 % respectivamente, Beltrán Ramírez (2011) indica que el contenido de humedad del colágeno obtenido a partir de la piel de tilapia posee una humedad del 15 % y un total de 40 % de proteínas, lo que se asemeja al aporte proteico de varias marcas colágenos hidrolizados comercializados en el mercado, por otra parte Chun-Yung , Jen-Min, Shu-Jing y Hsing-Tsung (2016) presentaron un contenido de humedad del 9 % y cenizas de 59 %, en el colágeno obtenido de la piel de tilapia, que son semejantes a los valores presentados por las marcas de colágenos comerciales a diferencia con los resultados obtenidos en la

presente investigación que muestran diferencia significativa entre los colágenos obtenidos en relación al colágeno comercial, debido a las concentraciones de colágeno que presentan las especies de peces empleados en su obtención.

6. Conclusiones

El presente trabajo permitió realizar las siguientes conclusiones:

Las propiedades térmicas del colágeno obtenido del pez bonito sierra evidencian mejores características con relación al colágeno procedente del pez trucha ya que presenta mayor resistencia al flujo de calor y mayor tiempo de exposición, sin embargo, no es aconsejable exponer las muestras de colágenos a altos rangos de temperatura ya que esto afectará la calidad del colágeno en cuanto a su textura a causa de la desnaturalización de las proteínas por efecto del calor.

Se determinó el contenido de proteínas del colágeno obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha mediante el método de Kjeldahl señalándose que la piel de pez trucha posee una concentración de proteínas del 30,94 % siendo superior a la concentración del colágeno extraído de la piel de pez bonito sierra con un valor de 24,70 % de proteínas, evidenciando que la piel de pescado es una fuente de colágeno en proteína bruta por la presencia del aminoácido hidroxiprolina, se debe tener en cuenta la especie y las partes del pez a utilizar para la obtención del colágeno.

El colágeno del pez bonito sierra contiene 6 % de humedad y 29,40 % de cenizas, mientras que el colágeno del pez trucha contiene 23,88% de humedad y 66,73 % de cenizas, concluyendo que la humedad confiere una

alta resistencia mecánica, además el contenido de cenizas, valida la concentración de minerales en la composición química, lo cual hace al colágeno apto como materia prima para el desarrollo de productos comerciales.

Mediante la comparación de las propiedades físico-químicas (humedad y cenizas) del colágeno, obtenido a partir de la piel del pescado bonito sierra y trucha con el colágeno comercial se evidenció que el colágeno obtenido de la piel del pez bonito sierra posee 6 % de humedad y 29,40 % de cenizas y el colágeno extraído del pez trucha posee 23,88 % de humedad y 6,73 % de cenizas, siendo estas superiores en relación a las marcas comerciales indicando que el mayor grado de humedad le ofrece mayor capacidad gelificante a los colágenos de pez bonito sierra y trucha en relación a las marcas comerciales.

7. Recomendaciones

Se sugiere analizar el lugar de donde se obtiene el colágeno ya que en el caso del colágeno obtenido de la piel de los animales se clasifica como tipo I ofreciendo una mayor resistencia a la temperatura y a la degradación a diferencia del colágeno obtenido de huesos y branquias calificados como colágeno tipo II, III o IV.

Se sugiere el uso del método de Kjeldahl para la determinación de las proteínas en el colágeno, ya que la concentración de este nutriente variará, según la especie y la zona del cuerpo de donde se extraiga el colágeno, por lo cual es importante su cuantificación.

Se requiere el desarrollo de una normativa INEN que ofrezca parámetros de cuantificación de factores físico - químicos (humedad y cenizas) para el desarrollo de productos de colágenos a partir de subproductos como la piel de pescado que generalmente son desaprovechados y convertidos en harinas para la alimentación animal limitando su uso en el área agroindustrial.

Se sugiere realizar análisis de humedad adicionalmente a las pruebas de cuantificación de proteínas en el colágeno extraído de pieles de pescados, debido que favorece las propiedades elásticas del colágeno evitando que se convierta en una sustancia rígida y quebradiza.

8. Bibliografía

- Andonegi, M., Guerrero, P., & De la Caba, K. (2019). *Effect of citric acid on collagen sheets processed by compression. Food Hydrocolloids* (Vol. 100).
- Suárez, H., Gaitán, O., & Diaz, C. (2015). Microstructural and physicochemical analysis of collagen in intramuscular pin bones of Bocachico fish (*Prochilodus* sp.). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 28(2), 188-196.
- Beltrán Ramírez, J. (2011). *Valoración de la innovación tecnológica del proceso de obtención de colágeno a partir de piel de tilapia (oreochromis sp) para su aplicación en el mercado cosmético.* (Tesis de pregrado).
- Benítez Torres, M., & Gómez Aguirre, J. (2011). *Evaluar el posible uso de la escama de cachama (Piaractus brachypomus) y tilapia (Oreochromis s.p.) como desecho de la producción piscícola en la producción de nutrición animal y como enmienda en suelos de la región.* (Tesis de pregrado).
- Benitez, R., Pagán, J., & Ibarz, A. (2008). Protein hydrolysates: processes and applications. *Elsevier*, 42(2), 227-236.
- CastelBlanque Yuste, E. (2015). *Desarrollo del diagrama de estado del Gel Colágeno para impresión de alimentos en 3D.* (Tesis de pregrado).
- Castro Vargas, C. (2006). *Obtención de Colagéno a partir de crestas de pollo.* (Tesis de pregrado).
- Chun-Yung , H., Jen-Min, K., Shu-Jing , W., & Hsing-Tsung, T. (2016). *Isolation and characterization of fish scale collagen from tilapia*

(Oreochromis sp.) by a novel extrusion-hydro-extraction process. (Vol. 190). Food Chemistry.

De la torre Olvera, G. (2013). *Obtencion de colageno y su efecto como capa protectora edible utilizando nisina como preservante en productos carnicos y quesos.* (Tesis de pregrado).

Ecuador, E. D. (29 de Mayo de 2013). Pesca de bonito atún es abundante en mercados. *La pesca de albacora, picudo, pez sierra, bonito atún, tiburones y otras especies, se muestra abundante.*

Falconí Tarira, F., & Torres Chóez, B. (2018). *Extracción y caracterización de colágeno a partir de pieles de tilapia roja (oreochromis sp.) Y albacora (thunnus alalunga).* (Tesis de pregrado).

FAO. (2018). *Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.* Roma.

Flores Pino, C. (2017). *Extracción de Colágeno de las escamas de pescado utilizando diferentes niveles de rennina.* (Tesis de pregrado).

García Intriago, J., & Piñlligua, L. (2013). *Utilizacion de Medio acido para la extraccion de colageno de la piel del Dorado (Coryphaena Hippurus).* (Tesis de pregrado).

Gómez Lizárraga , K., Piña Barba , C., & Rodríguez Fuentes , N. (2011). *Obtención y caracterización de colágena tipo I a partir de tendón bovino* (Vol. 24). Superficies y vacío.

Guillen Luque, V. (2010). *Proteinas Obtenido de Estructura y clasificacion de las proteina.* (Tesis doctoral).

Guzmán, J., & Delgado, D. (2011). El Colageno. *Educación Medica continuada*, 1-7.

- Jordan Núñez, M. F. Obtención de colágeno por hidrólisis alcalina-enzimática del residuo de "Wet Blue" en el proceso de curtición. (*tesis de pregrado*). Escuela Politecnica de Chimborazo, Riobamba.
- Juher, T., & Pérez, E. (2015). Revisión de los efectos beneficiosos de la ingesta de colágeno hidrolizado sobre la salud osteoarticular y el envejecimiento dérmico. *Nutrición Hospitalaria*, 32(1), 62-66.
- Liuzzi, M. (2010). *Macroalgas bentónicas como sustrato y refugio de invertebrados marinos*. (tesis Doctoral).
- Lleren Daza, T. E., & Rodriguez Torres, W. P. (2017). Obtención y caracterización de un hidrolizado de colágeno purificado producido mediante el uso de la enzima delvolase. *Anales Científicos*, 251-259.
- López Jordi, M. d., Amaral Schiaffino, R., & Kalil, S. (2008). *Proteolisis enzimática del colágeno dentinario*. consicientiae Saúde.
- Maiz Padrón, A., Valero Lacruz, L., & Briceño Piñero, D. (2010). Elementos prácticos para la cría de Truchas. *Mundo Pecuaria*, 006(2), 157-168.
- Moya, A. (2013). Predicción de Estructura de la Proteinas. *Biorom*, 2(5).
- NAARA. (2015). NAARA, colágeno hidrolizado. *blizuu*, 1-2.
- Pati, Falguni, Adhikari, B., & Dhara, S. (2010). Isolation and characterization of fish scale collagen of higher thermal stability. *Bioresource technology*, 101(10), 3737-3742.
- Quintero, J., & Zapata, J. (2017). Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta. *Información Tecnológica*, 28(31), 109-120.

- Rodríguez Aranda, A., Ramirez , C., López Villaseñor, R., & Andrade, A. (2017). *Propuesta para extracción de colágeno soluble en ácido (CSA) de escamas de tilapia del Nilo*. (Vol. 5). Journal CIM.
- Rodríguez Aranda, A., Ramirez, C., López Villaseñor, R., & Andrade, A. (2007). *Propuesta para extracción de colágeno soluble en ácido (CSA) de escamas de tilapia del Nilo*. 5(2), 1-13.
- Rodriguez, M. (Abril de 2019). *Pescados y Mariscos*. Obtenido de Eroski,Consumer:
<https://pescadosymariscos.consumer.es/trucha/propiedades-nutritivas>
- Sampedro, S., & Hidalgo, M. (2018). Obtención de colágeno de escamas hidrolizado con rennina. *Revista Caribeña de Ciencias Sociales*.
- Serrano Gaona, J. (2011). *Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (Oreochromis sp) y cachama (Piaractus brachypomus)*. (Tesis doctoral).
- Shahidi, F. (2006). Maximising the value of marine by-products. *En Woodhead Publishing, Cambridge, UK.*, 532.
- Torres-Arreola, W., Pacheco-Aguilar, R., Sotelo-Mundo, R., Rouzaud-Sández, R., & Ezquerro-Brauer, J. (2008). CARACTERIZACIÓN PARCIAL DEL COLÁGENO EXTRAÍDO A PARTIR DEL MANTO,ALETA Y TENTÁCULOS DE CALAMAR GIGANTE (*Dosidicus gigas*). *Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de los Alimentos*, 101-108.
- Valdez Ortiz, H. (2015). *Estudio Técnico económico para la creación de una empresa que elabore zapatos de cuero a base de piel de pescado en la ciudad de Esmeraldas*. (Tesis de pregrado).
- Valeiras, J., & Abad, E. (2006). Descripción del Bonito Atlántico. *Manual de ICCAT*.

- Vásquez, G., & Alberto, L. (2013). *Propuesta para optimizar la cadena comercializadora de pescado del Ecuador hacia Corea del Sur*. (Tesis de pregrado).
- Zapata, J., Moya, M., & Figueroa, O. (2019). Hidrólisis Enzimática de la Proteína de Vísceras de Trucha Arco Íris (*Oncorhynchus mykiss*): Efecto del tipo de Enzima, Temperatura, pH y Velocidad de Agitación. *Información tecnológica*, 26(1), 652-632.
- Zeng, S., & Zhang, Y. (2009). Aislamiento y caracterización de colágeno solubilizado en ácido de la piel de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*)".

9. Anexos

9.1 Anexo 1. Resultados de las propiedades térmicas de las muestras de colágeno extraídas

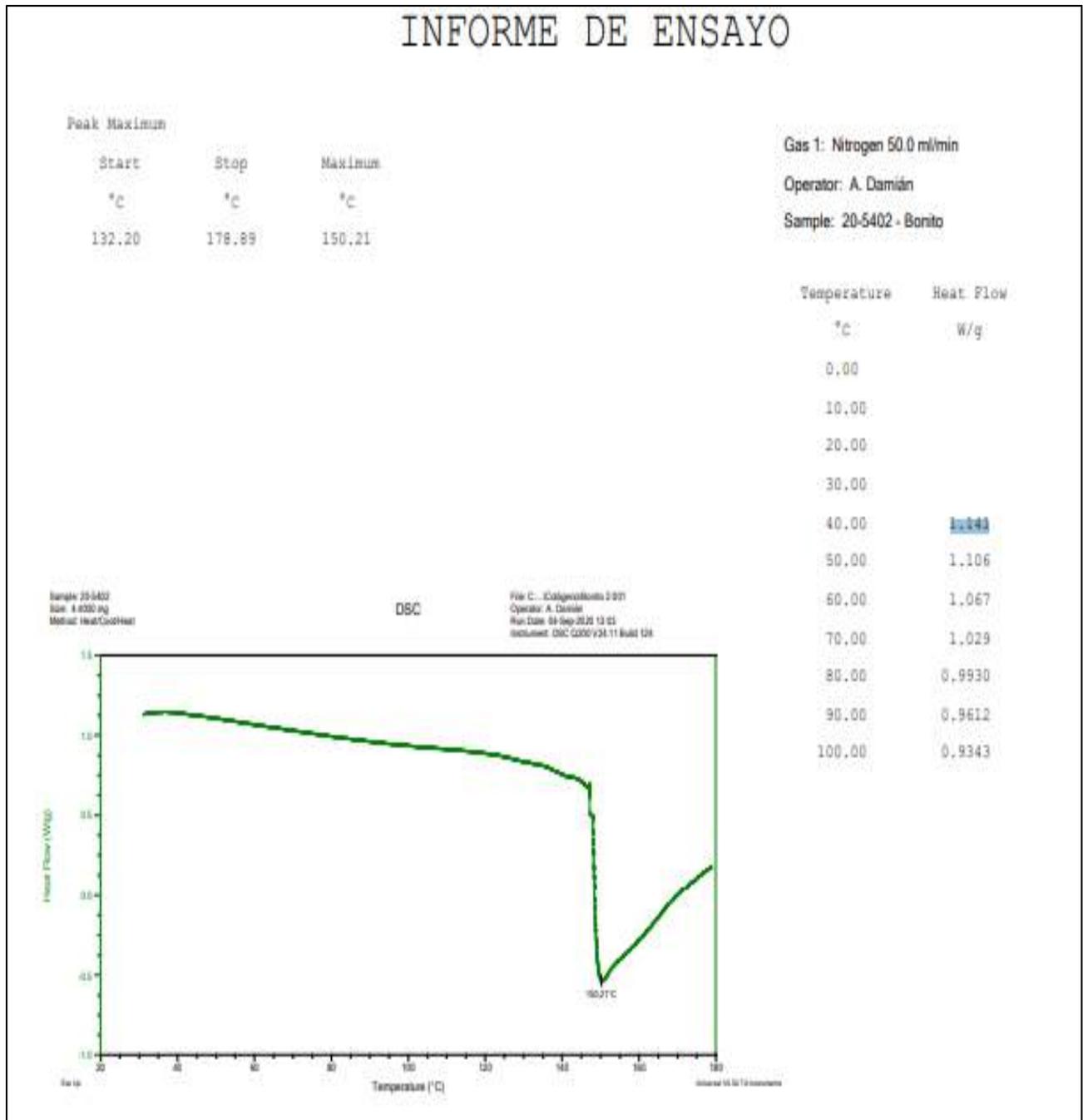


Figura 9. Informe del ensayo de la prueba de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) en el colágeno extraído del pescado bonito sierra Piguave, 2021

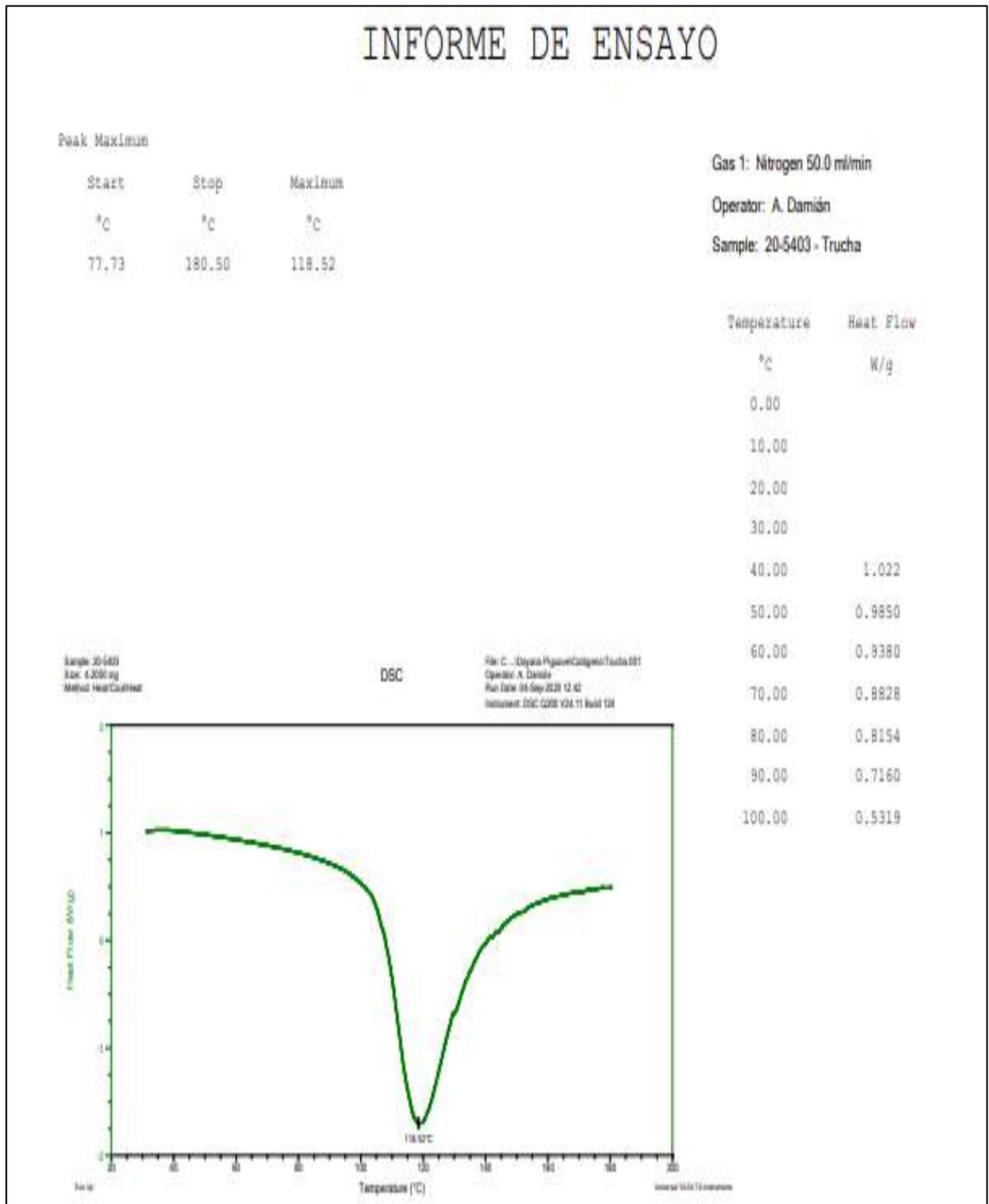


Figura 10. Informe del ensayo de la prueba de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) en el colágeno extraído del pescado trucha Piguave, 2021

9.2 Anexo 2. Cálculos de concentración de humedad y cenizas en las muestras de colágeno obtenido de los peces bonito sierra y trucha.

$$\% H = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Peso inicial: 9.004 g
Peso final: 8.4045 g

$$\% H = \frac{9.004 - 8.4045}{9.004} \times 100$$

$$\% H = \frac{0.59}{9.004} \times 100$$

$$\% H = 0.006 \times 100$$

$$\% H = 6$$

Figura 11. Humedad en colágeno de pez bonito sierra Piguave, 2021

$$\% H = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Peso inicial: 9.000 g
Peso final: 6.8502 g

$$\% H = \frac{9.000 - 6.8502}{9.000} \times 100$$

$$\% H = \frac{2.1499}{9.0001} \times 100$$

$$\% H = 0.2388 \times 100$$

$$\% H = 23.88$$

Figura 12. Humedad de colágeno de pez trucha Piguave, 2021

$$\% C = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100$$

$$\%C = \frac{33.3162 - 33.9045}{35.9054 - 33.9045} \times 100$$

$$\%C = \frac{0.5883}{2.0009} \times 100$$

$$\%C = 0.2940 \times 100$$

$$\%C = 29.40$$

Figura 13. Concentración de cenizas en colágeno de pez bonito sierra Piguave, 2021

$$\% C = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100$$

$$\%C = \frac{34.1791 - 35.5022}{37.4847 - 35.5022} \times 100$$

$$\%C = \frac{1.3231}{1.9825} \times 100$$

$$\%C = 0.6673 \times 100$$

$$\%C = 66.73$$

Figura 14. Concentración de cenizas en colágeno de pez trucha Piguave, 2021

9.3 Anexo 3. Fotos de la Extracción de colágeno



Figura 15. Pez trucha (*Oncorhynchus mykiss*) 10 lb
Piguave, 2021



Figura 16. Pez bonito sierra (*Sarda sarda*) 10 lb
Piguave, 2021



Figura 17. Eviscerado del pez trucha (*Oncorhynchus mykiss*)
Piguave, 2021



Figura 18. Eviscerado de pez bonito sierra
Piguave, 2021



Figura 19. Pieles de pescado bonito sierra (*Sarda sarda*)
Piguave, 2021



Figura 20. Pieles de pescado trucha (*Oncorhynchus mykiss*)
Piguave, 2021



Figura 21. Lavado y limpieza de pieles
Piguave, 2021



Figura 22. 1era Filtración de pieles bonito sierra y trucha
Piguave, 2021



Figura 23. Peso de pescado bonito sierra 102.58 g pescado trucha 101.09 g después de la filtración
Piguave, 2021



Figura 24. Filtración y limpieza de pieles con agua destilada extrayendo NaClO
Piguave, 2021



Figura 25. Peso de pieles después de la filtración y lavado bonito sierra 83.13 g y trucha 77.02 g
Piguave, 2021



Figura 26. Desengrasado con una solución de D- limoneno al 1 % durante 24 horas
Piguave, 2021



Figura 27. Tratamiento con H_3PO_4 0.2 mol/ L en un tiempo de 42 horas
Piguave, 2021



Figura 28. Filtración y limpieza de pieles con agua destilada durante 10 minutos extrayendo H_3PO_4
Piguave, 2021

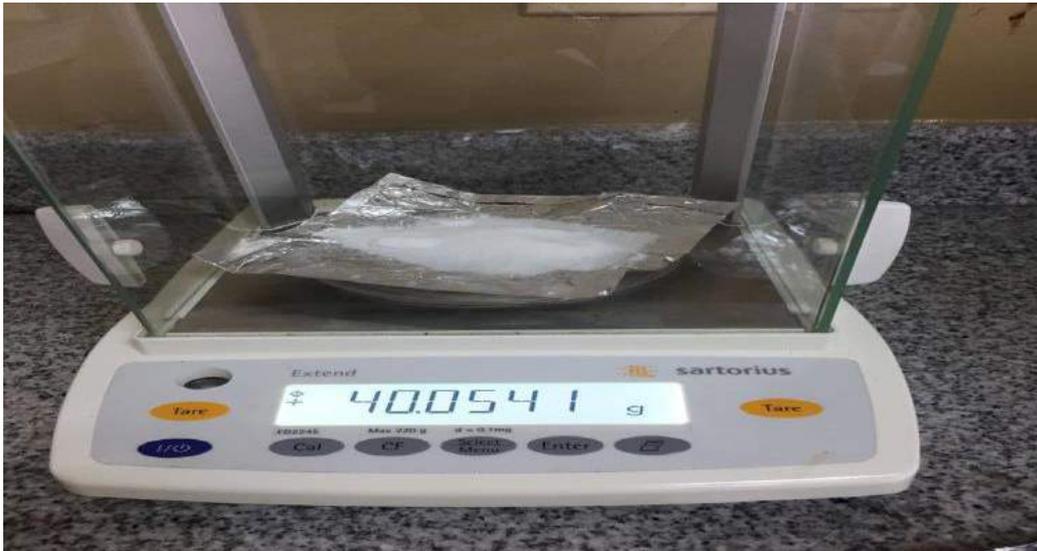


Figura 29. Peso de NaCl 40.05 g para la precipitación salina
Piguave, 2021



Figura 30. Preparación de soluciones de NaCl durante 24 horas
Piguave, 2021



Figura 31. Peso de pieles después de la 5ta filtración y lavado bonito sierra 26.62 g y trucha 23.16 g
Piguave, 2021



Figura 32. En el secado se colocó las muestras en una estufa a una temperatura de 45 °C hasta la vaporización
Piguave, 2021



Figura 33. En el triturado en ambos colágenos se logró alcanzar pulverizarlo para obtener una consistencia homogénea
Piguave, 2021



Figura 34. Envasado de Colágeno de pez bonito sierra (*Sarda sarda*) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*) en frascos de vidrios herméticos
Piguave, 2021



Figura 35. Almacenado de Colágeno de pez bonito sierra (*sarda sarda*) 8.1433 g y trucha (*Oncorhynchus mykiss*) 5.9778 g. Piguave, 2021

9.4 Anexo 4. Control de parámetros físico - químicos y térmicos



Figura 36. Control de humedad y cenizas Piguave, 2021

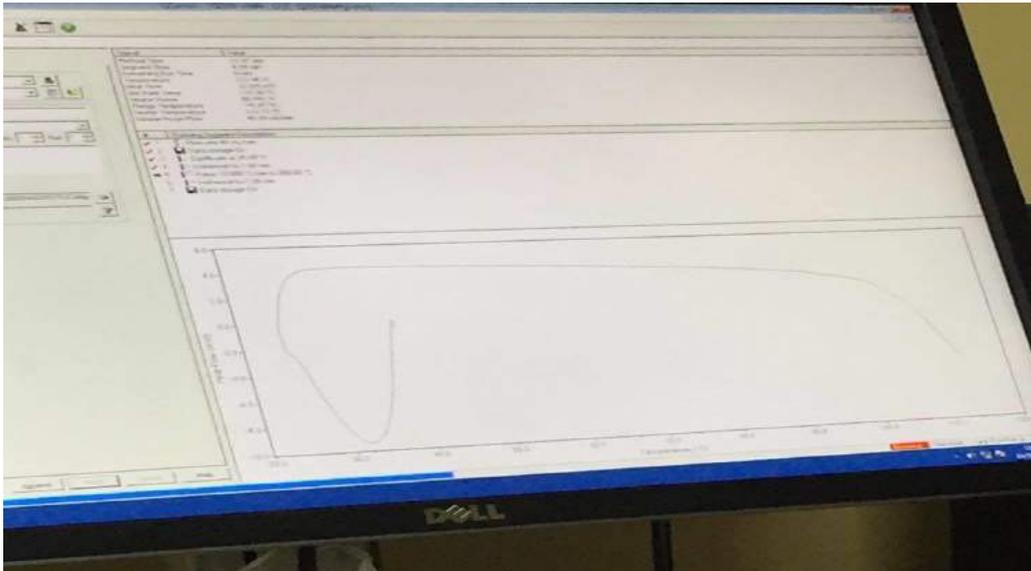


Figura 37. Representación gráfica de picos altos de calor presentes del colágeno de la piel de bonito sierra y trucha
Piguave, 2021



Figura 38. Resultados obtenidos a través del equipo calorimetría diferencial de barrido
Piguave, 2021



Figura 39. Análisis de proteínas
Piguave, 2021

9.5 Fotos de colágenos de tipo comercial

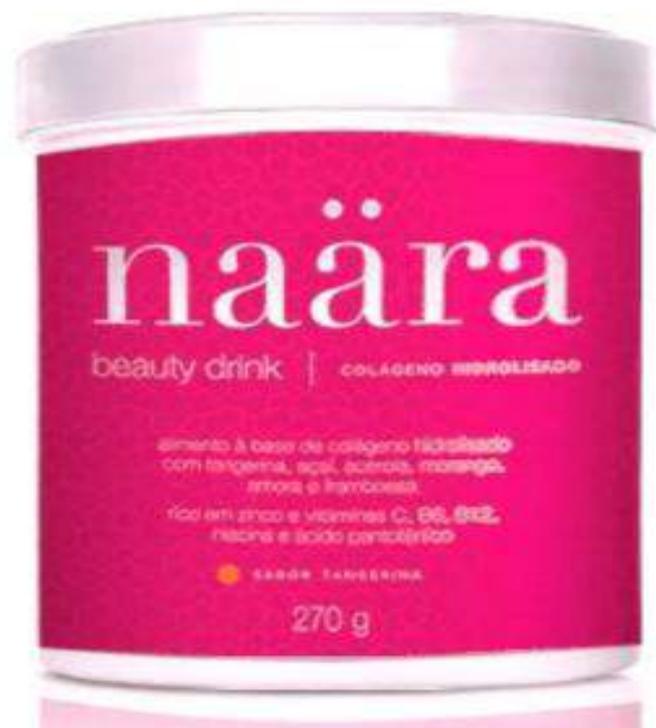


Figura 40. Marca 1 de colágeno comercial
Piguave, 2021



Figura 41. Marca 2 de colágeno comercial
Piguave, 2021